

ISSN 0869-5873

Том 93, Номер 9

Сентябрь 2023



ВЕСТНИК РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

www.sciencejournals.ru



СОДЕРЖАНИЕ

Том 93, номер 9, 2023

Тематический выпуск по биологии

| | |
|---|-----|
| Вступительное слово | 797 |
| <i>М. П. Кирпичников, М. А. Островский</i> | |
| Оптогенетика: фундаментальные и прикладные аспекты | 798 |
| <i>А. Ю. Розанов</i> | |
| Бактериальная палеонтология сегодня и завтра | 806 |
| <i>Ю. Ю. Дгебуадзе</i> | |
| Биологические инвазии чужеродных видов – глобальный вызов последних десятилетий | 814 |
| <i>Д. В. Яшин, Л. П. Сащенко, Г. П. Георгиев</i> | |
| Ген <i>tag7</i> и его продукт белок Tag7: перспективы использования в медицине | 824 |
| <i>А. В. Адрианов, В. В. Мордухович</i> | |
| Биоразнообразие и биоресурсы глубоководных экосистем северо-западной части Тихого океана | 833 |
| <i>С. Г. Инге-Вечтомов, А. П. Галкин, Г. А. Журавлёва, А. А. Нижников, С. П. Задорский</i> | |
| Прионы и амилоиды как пространственные матрицы протеома | 845 |
| <i>Е. В. Кулигина, В. А. Рихтер, В. В. Власов</i> | |
| Противоопухолевый препарат на основе генно-модифицированного вируса осповакцины VV-GMCSF-Lact | 855 |
| <i>С. В. Рожнов</i> | |
| Становление пентамерии и осевой симметрии в эволюции иглокожих | 865 |
| <i>С. И. Барцев, А. Г. Дегерменджи</i> | |
| Замкнутые экологические системы: от биосферы к системам жизнеобеспечения и обратно | 876 |
| <i>Е. Д. Ерофеева, В. К. Абдыев, А. В. Еремеев, Е. А. Воротеяк, А. В. Васильев</i> | |
| Плюрипотентность и перспективы клеточных технологий | 886 |
| <i>С. И. Аллахвердиев</i> | |
| Альтернативная энергетика и искусственный фотосинтез | 895 |

CONTENTS

Vol. 93, No. 9, 2023

Thematic Issue on Biological Sciences

| | |
|--|-----|
| Introductory article | 797 |
| <i>M. P. Kirpichnikov and M. A. Ostrovsky</i> | |
| Optogenetics: fundamental and applied aspects | 798 |
| <i>A. Yu. Rozanov</i> | |
| Modern and tomorrow's bacterial paleontology | 806 |
| <i>Yu. Yu. Dgebuadze</i> | |
| Biological invasions of alien species – a global challenge of the last decades | 814 |
| <i>D. V. Yashin, L. P. Sashchenko, and G. P. Georgiev</i> | |
| The <i>tag7</i> gene and its product protein Tag7 – prospects for use in medicine | 824 |
| <i>A. V. Adrianov and V. V. Mordukhovich</i> | |
| Biodiversity and Bioresources of Deep Sea Ecosystems of the Northwest Pacific Ocean | 833 |
| <i>S. G. Inge-Vechtomov, A. P. Galkin, G. A. Zhuravleva, A. A. Nizhnikov, and S. P. Zadorsky</i> | |
| Prions and amyloids as spatial matrices of the proteome | 845 |
| <i>E. V. Kuligina, V. A. Rihter, and V. V. Vlasov</i> | |
| Antitumor drug based on genetically modified smallpox vaccine virus VV-GMCSF-Lact | 855 |
| <i>S. V. Rozhnov</i> | |
| Formation of pentameria and axial symmetry in the evolution of echinoderms | 865 |
| <i>S. I. Bartsev and A. G. Degermendzhi</i> | |
| Closed Ecological Systems: From Biosphere to Life Support Systems and Back Again | 876 |
| <i>E. D. Erofeeva, V. K. Abdyev, A. V. Eremeyev, E. A. Vorotelak, and A. V. Vasiliev</i> | |
| Pluripotency and Prospects of Cell Technologies | 886 |
| <i>S. I. Allakhverdiev</i> | |
| Alternative Energy and Artificial Photosynthesis | 895 |

ВСТУПИТЕЛЬНОЕ СЛОВО

DOI: 10.31857/S0869587323090128, EDN: SMGYCL

XXI столетие называют веком наук о жизни. Действительно, революционное развитие биологической науки и технологий коренным образом преобразует многие области промышленности, медицину, сельское хозяйство и окружающую среду. Достижения столь значительны, что уже в ближайшей перспективе приведут к формированию нового технологического уклада и потребуют пересмотра общественных норм.

Особенностью развития биологической науки сегодня является стирание междисциплинарных границ. Наиболее интересные результаты проявляются на стыке наук: развиваются биоинформатика, биоинженерия, физико-химическая биология, биомедицина, экология и природопользование. Однако драйвером всех биологических исследований становится генетика. Совершенствование методов анализа и модификации генома позволяет исследователям разных биологических направлений искать в геноме биологическую первопричину наблюдаемых явлений, моделировать в исследовательских объектах биологические процессы. Важной тенденцией, проявляющейся вследствие развития новых методов и подходов, можно назвать превращение биологической науки из описательной в креативную, направленную не только на исследования, но и на модификацию живых объектов и систем. Более того, новая область биологической науки — синтетическая биология — призвана создавать *de novo* живые объекты на основе моделирования, зачастую вне организма, природных процессов.

Биология становится всё более технологичной, исчезает деление на фундаментальную и прикладную науку. Практическая направленность, казалось бы, далёких от утилитарного использования исследований, развитие технологий на базе теоретических подходов делает науки о жизни одной из самых плодотворных и значимых областей знания.

Российская академическая биологическая школа в полной мере отвечает общемировым тенденциям развития науки и даёт крайне интересные результаты. Трудно переоценить вклад российских биологов в создание средств диагностики и лечения инфекционных заболеваний, в разработку методов лечения распространённых нозологий, в сохранение редких животных и биоразнообразия, во многие другие значимые области.

Статьи тематического выпуска журнала «Вестник Российской академии наук» по биологическим наукам — это результат развития исследований, проводимых научными школами, которыми славится российская биологическая наука. Эти статьи представлены ведущими учёными Отделения биологических наук РАН, они охватывают широкий спектр проблем, волнующих человечество, — от исследований в области бактериальной палеонтологии до биологии моря, от молекулярных механизмов зрения, разработки подходов к лечению нейродегенеративных и онкологических заболеваний до перспектив молекулярных и клеточных технологий. Актуальность этих работ трудно переоценить.

Очевидно, что в одном выпуске журнала невозможно отразить всю полноту исследований, проводимых биологами Российской академии наук, однако даже включённые в номер статьи позволяют оценить их широту и глубину. Нет сомнения в том, что статьи тематического номера вызовут интерес научной общественности и послужат укреплению междисциплинарных связей, формированию единого естественно-научного пространства.

М.П. КИРПИЧНИКОВ,
академик-секретарь
Отделения биологических наук РАН

ОПТОГЕНЕТИКА: ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ

© 2023 г. М. П. Кирпичников^{a,b,*}, М. А. Островский^{b,c,**}

^aИнститут биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

^bМосковский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

^cИнститут биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия

*E-mail: kirpichnikov@inbox.ru

**E-mail: ostrovsky3535@mail.ru

Поступила в редакцию 22.07.2023 г.

После доработки 02.08.2023 г.

Принята к публикации 10.08.2023 г.

Статья посвящена оптогенетике как методу, позволяющему клеткам организма приобретать светочувствительность. Коротко рассматривается история возникновения и развития оптогенетики, обсуждается её роль в изучении как фундаментальных механизмов работы мозга, так и в понимании механизмов ряда неврологических и психических заболеваний, в том числе связанных с потерей памяти.

Авторы уделяют пристальное внимание перспективам клинического применения методов оптогенетики, в первую очередь применительно к офтальмологии. Клинические испытания показали принципиальную возможность оптогенетического протезирования “слепой” сетчатки и частично-го восстановления зрительных функций. Приводятся данные об одном из четырёх ведущихся сейчас успешных клинических испытаний. Подробно обсуждаются условия дальнейшего развития технологий оптогенетического протезирования “слепой” сетчатки на последних стадиях нейродегенеративного процесса. Обсуждается вопрос о типе нервных клеток дегенерирующей сетчатки, наиболее перспективных для оптогенетического протезирования. Авторы полагают, что гены зрительных, G-белок-связывающих родопсинов (скорее всего колбочек), запускающие ферментативный каскад усиления светового сигнала, наиболее перспективны для оптогенетического протезирования. При этом не отрицается возможность использования генов генно-модифицированных канальных родопсинов, как показывают клинические испытания.

Ключевые слова: оптогенетика, мозг, оптогенетическое протезирование сетчатки глаза, адено-ассоциированный вирус, биполярные и ганглиозные клетки сетчатки, зрительные родопсины, генно-модифицированные канальные родопсины, клинические испытания.

DOI: 10.31857/S0869587323090086, EDN: SMSXLA



КИРПИЧНИКОВ Михаил Петрович – академик РАН, академик-секретарь Отделения биологических наук РАН, заведующий отделом биоинженерии ИБХ РАН, декан биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова. ОСТРОВСКИЙ Михаил Аркадьевич – академик РАН, заведующий кафедрой молекулярной физиологии МГУ им. М.В. Ломоносова, заведующий лабораторией физико-химических основ рецепции ИБХФ РАН.

Оптогенетика – это метод, который позволяет клеткам организма приобретать светочувствительность благодаря доставке в клетки гена светочувствительного белка родопсина. При поглощении света родопсин, экспрессированный геном и встроенный в мембрану клетки, управляет её физиологической активностью. В 2010 г. ведущие мировые журналы назвали оптогенетику перспективнейшей медико-биологической технологией будущего. Само же понятие и термин “оптогенетика” появились за пять лет до этого.

Истоки оптогенетики лежат в Петербургском и Московском университетах. 160 лет назад профессор Санкт-Петербургского университета, известный ботаник академик Андрей Сергеевич Фаминцын (1835–1918) описал фототаксис у одноклеточных зелёных водорослей, то есть их двигательную реакцию на свет [1]. В конце 1970-х годов профессор Биологического факультета МГУ

Феликс Фёдорович Литвин и его молодые сотрудники, братья Олег и Виталий Синешёковы, показали, что фототаксисом этих одноклеточных водорослей управляет светочувствительный белок родопсин [2]. Их статья была опубликована в журнале “Nature” и никак не предвещала появление оптогенетики. Прошло ещё четверть века и в начале 2000-х годов в Германии ген родопсина этих водорослей был экспрессирован в культуре клеток. Оказалось, что родопсин работает как светоактивируемый катионный канал, и он был назван *канальным родопсином (Channelrhodopsin)* [3]. А ещё через пару лет, теперь уже в Америке, ген канального родопсина экспрессировали в нейронах мозга мыши и показали, что в ответ на свет в них возникает импульсная активность, то есть физиологическое возбуждение [4]. Так родилась *оптогенетика*, основанная на трёх китах — физиологии, геной инженерии и свете.

Надо сказать, что идею точно управлять нейронами впервые высказал в 1979 г. Френсис Крик — один из родоначальников молекулярной биологии. Двадцать лет спустя он предложил использовать для этого свет. Оптогенетика превратила идею Крика в реальность. Благодаря ей за последние 10–15 лет достигнуты поразительные успехи в экспериментальных исследованиях, особенно в нейробиологии. Открыты ранее не известные функции нейронов мозга, описаны новые нейронные цепи, стали понятнее механизмы патогенеза ряда неврологических и психических заболеваний, что позволяет наметить новые пути их лечения. С помощью оптогенетики становится возможной направленная эпигенетическая регуляция. В будущем это может найти применение в лечении такого заболевания, как мышечная дистрофия.

Что касается *нейрофизиологических основ поведения*, то, например, у мышей и крыс с помощью оптогенетики идентифицированы нейроны, отвечающие за принятие поведенческого решения, нейроны в гипоталамусе мышей, контролирурующие агрессию. В последнее время успешно разрабатываются оптогенетические подходы к исследованию нейрофизиологических механизмов поведения не только у грызунов, но и у приматов, скажем, у макак-резусов [5]. Иначе говоря, открываются перспективы изучения на животной модели с хорошо развитым мозгом сложного сенсорного, моторного и когнитивного поведения. Впечатляющие результаты получены с помощью оптогенетики при изучении *механизмов памяти* — запоминания и вспоминания. Становится всё понятнее, как именно образуется память — краткосрочная и долгосрочная, как мозг хранит информацию, какие воспоминания останутся надолго, а какие исчезнут, как укрепить память, как восстановить работу мозга после болезни (инсульта) или травмы. Оптогенетика позволила визуализи-

ровать *энграммы* — следы в мозге. Речь идёт о нейронных цепях, которые возникают при формировании памяти или которые реактивируются при извлечении информации из памяти, то есть при воспоминании. С помощью оптогенетических методов оказалось возможным активировать те или иные нейроны, отключать или запускать определённые энграммы — вполне конкретные сети нейронов, иными словами, произвольно вызывать воспоминания, как это ни удивительно. В эксперименте показано, что при искусственной активации определённой энграммы мышь замирает, то есть проявляет типичную для неё поведенческую реакцию на опасность.

На недавней, уже третьей по счёту, конференции по оптогенетике в Петербурге были представлены данные, согласно которым энграммы запоминания перетекают в энграммы хранения памяти, откуда воспоминания могут быть извлечены. Несколько лет тому назад опубликованы результаты поразительного исследования, авторам которого удалось создать у мышей полностью искусственную память [6]. Основываясь на технологии формирования и исследования условных рефлексов И.П. Павлова, авторы заменили естественный условнорефлекторный сигнал (запах) на оптогенетическую стимуляцию определённого обонятельного клубочка в обонятельной луковице, а естественный безусловный сигнал — на оптогенетическую стимуляцию конкретной области мозга, ответственной за создание либо чувства отвращения, либо наслаждения. Было показано, что и искусственная, и естественная память обеспечивается одними и теми же нервными цепями (энграммами). Иначе говоря, используя оптогенетические методы, у экспериментальных животных (мышей) удалось создать память в отсутствие как такового естественного события (или сигнала), которое надо было бы запомнить.

Сейчас оптогенетика играет ключевую роль не только в изучении фундаментальных нейрофизиологических механизмов работы мозга, но и в понимании механизмов неврологических и психических заболеваний, в том числе связанных с потерей памяти или с образованием патологической памяти. В первом случае речь идёт о патогенезе и возможных путях лечения болезни Альцгеймера, во втором — о наркомании, которую специалисты рассматривают как аномальный процесс обучения и памяти. Обнаружение нейронных сетей, отвечающих за патологическое обучение и память, и возможное вмешательство в их работу открывает перспективу лечения наркомании.

Несомненные успехи достигнуты в понимании патогенеза и путей лечения ряда тяжёлых неврологических заболеваний. Одна из самых распространённых нейродегенеративных патоло-

гий — болезнь Паркинсона, хроническая и пока не поддающаяся лечению. Работы последних лет на модельных животных свидетельствуют, что оптогенетическая стимуляция определённых глубинных отделов мозга приводит к исчезновению моторных симптомов болезни Паркинсона. В перспективе это путь к облегчению и даже лечению этого тяжелейшего расстройства. Другим неврологическим заболеванием, для исследования механизмов которого и лечения перспективна оптогенетика, является эпилепсия. Сейчас до 30% пациентов невосприимчивы к практикуемым способам её лечения. Структуры мозга, механизмы и нейронные цепи, ответственные за судорожные припадки, в настоящее время достаточно хорошо известны. Поэтому вмешательство в работу соответствующих нейронных цепей, их регуляция с помощью оптогенетических технологий эффективно прекращают эпилептический припадок, как это многократно показано на экспериментальных животных. Вполне реальная возможность клинического применения соответствующих методов также обсуждалась на конференции в Петербурге. Ещё одно чрезвычайно важное направление, в изучении которого оптогенетика становится одной из ведущих методик, — это депрессия и боль. К настоящему времени накоплены важнейшие данные, касающиеся нейрофизиологических механизмов различных форм как депрессии, так и боли, в особенности мигрени.

Свидетельством всё возрастающей роли оптогенетики в различных областях экспериментальных и, будем надеяться, клинических исследований стало создание в 2020 г. сорока пятью лабораториями мира базы данных существующих оптогенетических ресурсов. Как показывает практика, эта база оказалась исключительно востребованной.

Следует иметь в виду, что для реальных клинических применений оптогенетических методов в неврологии, психиатрии или терапии внутренних органов есть одно существенное препятствие — необходимость доставки света к нейронам мозга или клеткам внутренних органов. Ведь не станет же хирург делать отверстие в черепе пациента, чтобы вставить в него световод и освещать клетки мозга! Поэтому во многих лабораториях мира ведутся активные поиски неинвазивных методов воздействия на оптогенетически “протезированные” клетки. К таким методам относятся тепло и сфокусированный ультразвук. Обсуждению этого направления под общим названием *термогенетика* уделялось довольно большое внимание на третьей оптогенетической конференции в Петербурге. Речь шла о способах управления (пока что у экспериментальных животных) активностью мозга, сердечным ритмом, выбросом инсулина из поджелудочной железы. До клинических испытаний термогенетике предстоит пройти ещё до-

вольно большой путь, но надежда на успех весьма велика.

Реальной областью клинических применений методов оптогенетики уже сегодня является офтальмология. Действительно, свет самым естественным образом доходит до сетчатки глаза. В то же время потребность в восстановлении зрения у пациентов, полностью или практически слепых, исключительно велика и продолжает расти, поскольку население мира и увеличивается, и стареет. По данным журнала “Lancet” за 2017 г. около 40 млн человек считаются слепыми, а к 2050 г., как предполагается, это число может достичь 60 млн. На долю нейродегенеративных заболеваний сетчатки, в первую очередь возрастной макулярной дегенерации, приходится около четверти слепых людей. Важно понимать, что при большинстве нейродегенеративных заболеваний сетчатки, независимо от их формы, погибают зрительные клетки — сначала палочки, а затем и колбочки. Но при этом в сетчатке как “части мозга, помещённой в глаз” (по определению великого испанского гистолога С. Рамон-и-Кахала) сохраняются частично или даже полностью неповреждёнными её нервные, несветочувствительные клетки. Именно то обстоятельство, что ганглиозные клетки сетчатки — её “выходные” нейроны, посылающие по своим длинным отросткам (аксонам) информацию в мозг, остаются дееспособными, стало основой *электронного протезирования зрения*. Имплантация электронных чипов в “слепую” сетчатку позволяет частично возвращать пациентам зрение: различать крупные предметы, даже буквы, ориентироваться в пространстве. За последние примерно 15 лет по этому вопросу накопилась обширная литература. Однако перспективы электронного протезирования сетчатки остаются не слишком радужными. Дело в том, что неизбежным следствием такого протезирования становится зарастание места контакта чипа с нейронами глиальных клеток. В результате сложная и весьма дорогостоящая операция через год-полтора становится бесполезной. Основная же идея *оптогенетического протезирования сетчатки* состоит не в том, чтобы с помощью чипа возбуждать нервные клетки, а в том, чтобы превратить сохранившиеся в ходе дегенеративного процесса нервные клетки в светочувствительные (псевдофоторецепторы). Именно потому, что свет через оптическую систему глаза естественным образом фокусируется на сетчатке и что нервные клетки дегенеративной сетчатки остаются “здоровыми” (вопрос, насколько здоровыми, по-прежнему дискуссионный), практически сразу после появления оптогенетики как метода начались исследования по оптогенетическому протезированию нейродегенеративной сетчатки. Первая такая работа была опубликована в 2006 г.,

за ней последовали работы многих лабораторий мира [7].

Остановимся на состоянии оптогенетического протезирования нейродегенеративной сетчатки в настоящее время. Важнейшим событием в этой области стало проведение четырёх независимых клинических испытаний. Одно из них, самое, по-видимому, успешное, причём о нём имеется достаточно полная информация, выполнено франко-швейцарской группой [8]. Пациенту, полностью ослепшему более 10 лет назад, удалось частично восстановить зрение. Сам он осознал это во время прогулки, когда понял, что может различать белые полосы на пешеходном переходе, а затем “он смог увидеть тарелки, кружки, телефон, предметы мебели в комнате, двери в коридоре, но только при использовании очков”. К очкам мы ещё вернёмся, но принципиально важно, что это первый зарегистрированный случай частичного восстановления зрения при нейродегенеративном заболевании в результате оптогенетической терапии. Однако, несмотря на то, что в последние годы успехи генной терапии некоторых нейродегенеративных заболеваний сетчатки впечатляющие, многие из таких недугов не могут быть излечены этим методом, поскольку причиной, например пигментного ретинита, нередко являются мутации нескольких десятков разных генов. “Исправление” же такого количества дефектных генов методами генной терапии вряд ли возможно.

Дойти до клинических испытаний оптогенетического протезирования зрения стало возможным благодаря большому массиву экспериментальных данных, полученных в основном на нокаутных мышах, а также на собаках и приматах, с фенотипом пигментного ретинита. Из совокупности всех этих данных следовало, что для доставки гена светочувствительного белка родопсина к нервным клеткам сетчатки наиболее приемлемым вектором является адено-ассоциированный вирус. Он давно и широко используется в клинике для генной терапии различных заболеваний, и в составе противовирусных вакцин как эффективный и безопасный вектор. Его недостаток – небольшая ёмкость вирусного капсида, но поскольку гены опсинов (светочувствительные рецепторы) сравнительно малы, то этот недостаток пока что не препятствует оптогенетическому протезированию. В ходе экспериментальных работ получены модифицированные серотипы адено-ассоциированных вирусов, обладающие повышенным сродством к нейронам сетчатки модельных животных. Для доставки же генов опсина в клетки дегенеративной сетчатки человека были разработаны специальные сочетания серотипа адено-ассоциированного вируса AAV2 и промотора. В упомянутой работе франко-швейцарской группы использовался именно “человеческий” серотип 2.7m8 адено-ассоциированного вирусного вектора, не-

сущего ген модифицированного канального родопсина ChrimsonR-tdTomato13 и промотора CAG (AAV2.7m8-CAG-ChrimsonR-tdTomato).

Как уже было сказано выше, именно канальный родопсин зелёных водорослей породил оптогенетику. Различные генно-модифицированные канальные родопсины и сейчас служат инструментами для почти всех экспериментальных исследований. У канальных родопсинов как светочувствительных инструментов оптогенетики масса преимуществ. С ними выполнено большинство экспериментальных работ на модельных животных по оптогенетическому протезированию дегенеративной сетчатки. Во всех четырёх ведущихся сейчас клинических испытаниях используются генно-модифицированные канальные родопсины. В работе франко-швейцарской группы ген модифицированного канального родопсина ChrimsonR-tdTomato13 – это всё тот же генно-инженерно-модифицированный канальный родопсин, спектр поглощения которого сдвинут в длинноволновую, красную, область. Сделать это было необходимо потому, что с точки зрения светового повреждения сетчатки красный свет наименее опасен. “Классический” же канальный родопсин поглощает свет в синей области спектра, а синий свет, особенно яркий, опасен, он легко повреждает сетчатку. Хорошо известно, что сетчатка чрезвычайно чувствительна к фотоповреждению, причём именно в фиолетово-синей области спектра. Однако сместить спектр поглощения канального родопсина в красную область оказалось недостаточным. Для того чтобы пациент смог что-то увидеть, понадобились “очки”. Вот что пишут авторы: “У слепого пациента мы объединили внутриглазную инъекцию адено-ассоциированного вирусного вектора, содержащего ChrimsonR (генно-инженерный модифицированный вариант канального родопсина2), со световой стимуляцией с помощью специальных светостимулирующих очков”. Иными словами, пациент был снабжён сложным оптическим устройством с видеокамерой снаружи и проектором внутри, выполненным в виде “очков”. Без таких “очков” он ничего не видел, потому что канальные родопсины мало чувствительны к свету. Чтобы физиологически возбудить или затормозить протезированную канальным родопсином клетку, нужно дать довольно яркий свет. Однако если для нейронов мозга это не столь страшно, то для сетчатки крайне опасно. Освещая слишком ярко, её можно повредить.

Какие же требования должны предъявляться к родопсину как инструменту для оптогенетического протезирования дегенеративной сетчатки? В их числе высокая светочувствительность и высокая скорость фототовета; минимальный риск фототоксичности и минимальная иммуногенность. Всем этим требованиям отвечает не ка-

нальный родопсин из водорослей, а естественный зрительный родопсин палочек и колбочек сетчатки глаза. Суть различия между естественным зрительным родопсином палочек и колбочек и канальным родопсином состоит в уровне деполаризации (возбуждения) протезированной ими клетки в ответ на поглощённый квант света. Один квант света, поглощённый одной молекулой канального родопсина, открывает один канал, через который внутрь клетки поступают ионы натрия. Один же квант света, поглощённый одной молекулой зрительного родопсина, активирует ферментативный каскад усиления, и результатом становится открытие многих ионных каналов; через них внутрь клетки поступает гораздо больше ионов натрия. Другими словами, уровень деполаризации (возбуждения) протезированной зрительным родопсином клетки дегенеративной сетчатки в ответ на поглощённый квант света во много раз больше, то есть её чувствительность к свету гораздо выше. А значит, не нужны никакие “очки”. Расчёты показывают, что если пороговая чувствительность канального родопсина равна $10^{13}–10^{15}$ квантов/см²/сек, то пороговая чувствительность зрительного родопсина $10^{11}–10^{12}$ квантов/см²/сек. Таким образом, чувствительность протезируемой клетки сетчатки к свету в случае зрительного родопсина на два-три порядка выше, чем в случае канального родопсина.

Путь к оптогенетическому протезированию сетчатки с помощью зрительного родопсина только начал – в экспериментах на модельных животных. По этому поводу к сегодняшнему дню опубликовано всего несколько работ. Оказалось, что лучше всего для протезирования подходят колбочковые родопсины. В успешной работе американских авторов были получены крайне обнадеживающие в этом смысле результаты с колбочковым средневолновым родопсином, то есть с геном родопсина из зелёно-чувствительных колбочек, который они экспрессировали в ганглиозных клетках [9]. Мы в нашей последней работе экспрессировали коротковолновый колбочковый опсин, притом неселективно – и в биполярных, и в ганглиозных клетках дегенеративной сетчатки нокаутной мыши [10]. Основным результатом, полученный в этой работе, сводится к тому, что неселективная экспрессия колбочкового опсина в нервных клетках сетчатки приводит к достоверному восстановлению зрительной функции у нокаутных мышей с пигментным ретинитом, у которых дегенерировал фоторецепторный слой. На рисунке 1 представлен результат поведенческих исследований, из которых следует что протезированные колбочковым родопсином слепые мыши способны найти правильный путь в лабиринте Морриса.

Что же касается важнейшего вопроса о том, какие клетки дегенерирующей сетчатки глаза че-

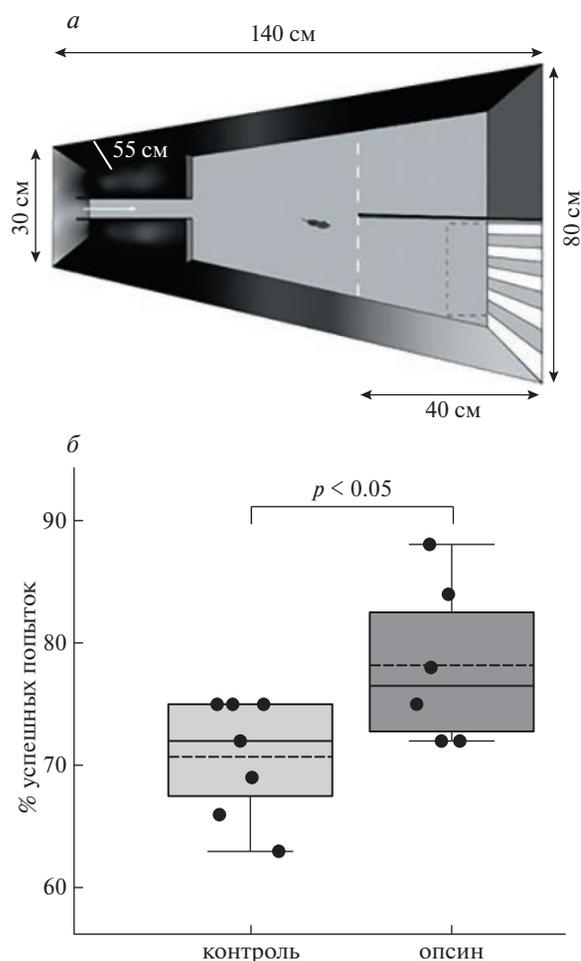


Рис. 1. Поведенческое тестирование мышей после интравитреальной инъекции вирусных частиц, содержащих ген колбочкового опсина: *вверху* – внешний вид трапециевидного водного лабиринта Морриса; *внизу* – процент правильных решений у мышей контрольной и опытной групп, усреднённый за последние 4 дня обучения. Процент правильных решений у мышей, протезированных колбочковым опсином, равен $8.1 \pm 2.7\%$ ($p < 0.05$, t -критерий Стьюдента) [10]

ловека перспективны для оптогенетического протезирования, то совокупность полученных к настоящему времени данных свидетельствует: в зависимости от стадии дегенеративного процесса протезированы могут быть и биполярные, и ганглиозные нервные клетки сетчатки, при этом неселективное протезирование нервных клеток дегенеративной сетчатки также может рассматриваться в качестве одной из возможностей.

На рисунке 2 схематически показаны строение сетчатки и принцип её оптогенетического протезирования. Можно было бы протезировать остатки колбочек, уже потерявших светочувствительные наружные сегменты, поскольку остатки колбочек некоторое время сохраняются в дегене-

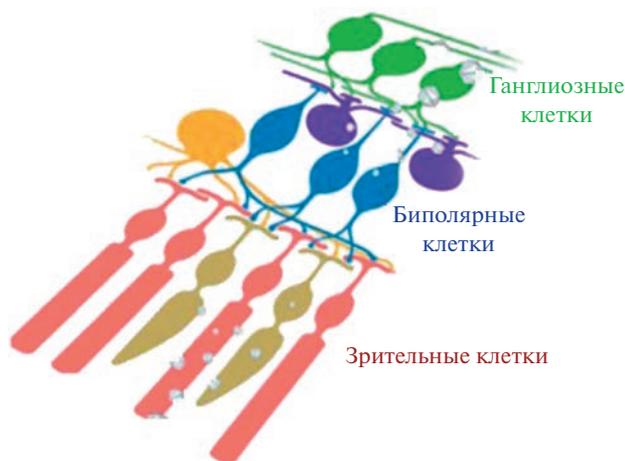


Рис. 2. Упрощённая схема клеточного строения сетчатки: *зрительные клетки* в ходе дегенеративного процесса — сначала палочки, а потом и колбочки — погибают; *биполярные клетки* достаточно долго остаются жизнеспособными; *ганглиозные клетки*, длинные отростки которых (аксоны) в составе зрительного нерва посылают информацию в мозг, остаются жизнеспособными; биполярные и ганглиозные клетки могут быть оптогенетически протезированы

ративной сетчатке, в то время как палочки погибают в ходе дегенеративного процесса. Конечно, было бы замечательно протезировать остатки колбочек, так как процесс обработки информации в сетчатке в таком случае сохранялся бы. Как мы помним, *сетчатка* — это часть мозга, помещённая в глаз, и на всех уровнях её клеточной организации происходит сложнейшая обработка зрительной информации. В сильно обработанном виде она поступает по зрительному нерву в зрительные центры мозга. В одной из первых работ на слепых мышках с пигментным ретинитом удалось показать, что при протезировании остатков колбочек инициируется ферментативный каскад фототрансдукции¹, реализуется обработка информации на всех уровнях сетчатки, при этом у мыши восстанавливаются светочувствительность, способность к пространственному ориентированию, зрительно-опосредованное поведение [11]. Однако, к великому сожалению, остатки колбочек в ходе дегенеративного процесса через какое-то время тоже погибают, а потому их протезирование представляется мало перспективным. К тому же, чтобы доставить в них генетический материал, требуется субретинальная инъекция, то есть введение вирусного конструкта за сетчатку. А это довольно сложная хирургическая процедура.

Следующие за фоторецепторными клетками идут синаптически связанные с ними горизонтальные и биполярные клетки. Биполярные клет-

ки, получая информацию от фоторецепторов, передают её в обработанном виде дальше, ганглиозным клеткам. Преимущества протезирования биполярных клеток очевидны. Действительно, частично сохраняется естественный процесс обработки информации (теряется только его первый этап — между фоторецепторами и биполярными клетками); немаловажно, что не до конца утрачивается обработка информации и по горизонтали — с участием амакриновых клеток (подробнее о протезировании биполярных клеток см. обзор [12]). Однако очевидный недостаток этого подхода — вполне реальная опасность того, что вслед за колбочками последует дегенерация (ремоделирование) и биполярных клеток. К тому же на этом этапе дегенеративного процесса происходит реорганизация синаптических связей биполярных клеток с другими клетками. Кроме того, протезировать в настоящее время можно только так называемые ON-биполяры (описано около десяти функциональных типов биполяров сетчатки). Правда, протезирование ON-биполяров, для которых известны промоторы, оказалось достаточно для восстановления многих зрительных функций [7]. Проблема состоит в том, что биполярные клетки труднодоступны для доставки в них ген-содержащего конструкта, поскольку они находятся в середине сетчатки. Тем не менее существующие методы доставки позволяют вводить вирусный конструкт непосредственно в стекловидное тело (интравитреально), который затем достигает биполярных клеток.

Нельзя не сказать о протезировании ганглиозных клеток — классических нейронов, генерирующих импульсную активность. Преимущества в этом случае несомненны. Опасность дегенерации ганглиозных клеток в ходе дегенеративного процесса, по сравнению с другими клеточными элементами сетчатки, наименьшая. Ганглиозные клетки, “смотрящие наружу”, расположены ближе всех к стекловидному телу; они намного доступнее для доставки в них ген-содержащего конструкта путём интравитреальной инъекции, которая в офтальмологии стала рутинным путём доставки лекарств к сетчатке. Промоторы для целенаправленной доставки гена родопсина в ганглиозные клетки хорошо известны. Однако и недостатки протезирования ганглиозных клеток весьма велики. Главный из них связан с тем, что естественный процесс обработки зрительной информации в сетчатке не сохраняется. Весьма существенно, что протезирование преобразует все сорок с лишним функциональных типов ганглиозных клеток в один функциональный тип. Нет сомнения, это большой недостаток оптогенетического протезирования — теряется весь смысл сложнейшей обработки информации в нервных слоях сетчатки. Но что удивительно так это то, что зрительные функции при таком протезирова-

¹ Фототрансдукция — это преобразование и усиление (почти в миллион раз) светового сигнала в зрительной клетке, в результате чего возникает биоэлектрический сигнал.

нии в значительной мере восстанавливаются, и это свидетельствует о поразительной пластичности мозга. При электронном протезировании, когда вживлённые чипы возбуждают какую-то долю ганглиозных клеток из примерно 1 млн 200 тыс., находящихся в сетчатке глаза человека, то совершенно неясно, какие функциональные типы этих клеток они возбуждают. Тем не менее зрительные функции у человека частично восстанавливаются. Например, сообщается, что наиболее совершенный электронный протез Аргус-2 позволяет в некоторых случаях слепым людям даже читать буквы, набранные очень крупным шрифтом.

При оптогенетическом протезировании ганглиозных клеток, когда количество светочувствительных клеток стало во много-много раз больше, чем при электронном протезировании, пластичность мозга проявляется особенно ярко. В эксперименте у слепой мыши, протезированной колбочковым родопсином, успешно восстановился целый ряд важнейших зрительных функций, включая зрительную адаптацию [13]. В клиническом исследовании, о котором мы уже говорили, оптогенетическое протезирование генно-модифицированным канальным родопсином позволило пациенту увидеть предметы на столе и пешеходный переход [8]. Поистине, пластичность мозга необыкновенно велика, и её механизмы ещё предстоит выяснить.

* * *

Таким образом, в настоящее время наиболее вероятное применение методов оптогенетики в клинической практике — это протезирование дегенеративной сетчатки. Клинические испытания показали принципиальную возможность этого подхода и его эффективность для частичного восстановления зрительных функций. Всё очевидно, что *зрительные G-белок-связывающие родопсины* (скорее всего, родопсины колбочек), запускающие ферментативный каскад усиления светового сигнала, перспективны для оптогенетического протезирования. Хотя, и это важно подчеркнуть, использование *генно-модифицированных канальных родопсинов* как инструментов оптогенетического протезирования дегенеративной сетчатки тоже возможно. Что касается протезируемых клеток, то это могут быть не только *ганглиозные*, что уже доказано, но и *биполярные клетки* дегенеративной сетчатки. Наиболее приемлемый вектор для доставки гена родопсина к сохранившим жизнеспособность нервным клеткам сетчатки — разрешённый для клинического применения адено-ассоциированный вирус. Наконец следует особо подчеркнуть, что только результаты клинических испытаний позволяют с уверенностью говорить о качестве оптогенетического протезирования слепой сетчатки человека.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Famintzin A.* Die Wirkung des Lichtes auf die Bewegung der Chlamidomonas pulvisculus Ehr., Euglena viridis Ehr. und Oscillatoria insignis Tw. Mélanges // Biol. Tirés Bull. Acad. Imp. Sci. St.-Petersb., 1866. 6: 73–93.
2. *Litvin F.F., Sineshchekov O.A., Sineshchekov V.A.* Photoreceptor electric potential in the phototaxis of the alga Haematococcus pluvialis // Nature. 1978. № 271. P. 476–478.
<https://doi.org/10.1038/271476a0>
3. *Nagel G., Szellas T., Huhn W. et al.* (2003) Channelrhodopsin-2, a directly light gated cation selective membrane channel // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2003. № 100. P. 13940–13945.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1936192100>
4. *Boyden E.S., Zhang F., Bamberg E. et al.* (2005) Millisecond timescale, genetically targeted optical control of neural activity // Nat. Neurosci. 2005. № 8. P. 1263–1268.
<https://doi.org/10.1038/nn1525>
5. *Rajalingham R., Sorenson M., Azadi R. et al.* (2021). Chronically implantable LED arrays for behavioral optogenetics in primates // Nat. Methods. 2021. № 18. P. 1112–1116.
<https://doi.org/10.1038/s41592-021-01238-9>
6. *Vetere G., Tran L.M., Moberg S. et al.* (2019). Memory formation in the absence of experience // Nat. Neurosci. 2019. № 22. P. 933–940.
<https://doi.org/10.1038/s41593-019-0389-0>
7. *Островский М.А., Кирпичников М.П.* Перспективы оптогенетического протезирования дегенеративной сетчатки глаза // Биохимия. 2019. Т. 84. № 5. С. 634–647.
<https://doi.org/10.1134/S0320972519050038>
8. *Sahel J.A., Boulanger-Scemama E., Pagot C. et al.* Partial recovery of visual function in a blind patient after optogenetic therapy // Nat Med. 2021. № 27(7). P. 1223–1229.
<https://doi.org/10.1038/s41591-021-01351-4>
9. *Berry M.H., Holt A., Salari A. et al.* (2019) Restoration of high-sensitivity and adapting vision with a cone opsin // Nat. Commun. 2019. № 10 (1). P. 1221.
<https://doi.org/10.1038/s41467-019-09124-x>
10. *Иджилова О.С., Колотова Д.Е., Смирнова Г.Р. и др.* Неселективная экспрессия коротковолнового колбочкового опсина улучшает обучение мышей с дегенерацией сетчатки в задаче с восприятием зрительных стимулов // ДАН: науки о жизни. 2023. Т. 510. С. 297–302. EDN: QHNBHW
<https://doi.org/10.31857/S268673892360005X>
11. *Busskamp V., Duebel J., Balya D. et al.* Genetic reactivation of cone photoreceptors restores visual responses in retinitis pigmentosa // Science. 2010. № 329(5990). P. 413–417.
<https://doi.org/10.1126/science.1190897>
12. *Ротов А.Ю., Фирсов М.Л.* Оптопротезирование биполярных клеток сетчатки // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 2022. Т. 58. № 6. С. 457–467.
13. *Berry M.H., Holt A., Salari A. et al.* Restoration of high-sensitivity and adapting vision with a cone opsin // Nat. Commun. 2019. № 10 (1). P. 1221.
<https://doi.org/10.1038/s41467-019-09124-x>

OPTOGENETICS: FUNDAMENTAL AND APPLIED ASPECTS**M. P. Kirpichnikov^{1,2,#} and M. A. Ostrovsky^{2,3,##}**

¹*M.M. Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

²*Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

³*N.M. Emanuel Institute of biochemical Physics of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

[#]*E-mail: kirpichnikov@inbox.ru*

^{##}*E-mail: ostrovsky3535@mail.ru*

The paper is devoted to optogenetics as a method that allows the cells of an organism to acquire light sensitivity. The history of the origin and development of optogenetics is briefly reviewed. The role of optogenetics in studying both the fundamental mechanisms of brain functions and in understanding the mechanisms of a number of neurological and psychiatric diseases, including those associated with memory loss, is discussed. The real field of clinical application of optogenetics methods to date, namely in ophthalmology, is discussed in detail. Clinical trials have shown the principal possibility of optogenetic prosthetics of “blind” retina and partial restoration of visual functions. Data on one of the four ongoing clinical trials, its success and limitations are presented. The conditions and prospects for further development of optogenetic prosthetic technologies for blind retina in the last stages of the neurodegenerative process are discussed in detail. The question of the type of nerve cells in the degenerating retina most promising for optogenetic prosthetics is discussed. The authors believe that genes of visual, G-protein-binding rhodopsins (most likely cones), which trigger the enzymatic cascade of light signal amplification, are the most promising for optogenetic prosthetics. The use of genes of genetically modified channel rhodopsins as “tools” for optogenetic prosthetics of degenerative retina is undoubtedly possible and, as clinical trials show, quite realistic.

Keywords: optogenet, brain, optogenetic prosthetics of the retina, adeno-associated virus, bipolar and ganglion cells of the retina, visual rhodopsins, genetically modified channel rhodopsins, clinical trials.

БАКТЕРИАЛЬНАЯ ПАЛЕОНТОЛОГИЯ СЕГОДНЯ И ЗАВТРА

© 2023 г. А. Ю. Розанов^{а,*}

^аПалеонтологический институт им. А.А. Борисяка РАН, Москва Россия

*E-mail: aroza@paleo.ru

Поступила в редакцию 21.07.2023 г.

После доработки 12.08.2023 г.

Принята к публикации 20.08.2023 г.

В статье кратко отражён путь развития бактериальной палеонтологии. Автор описывает, как с усовершенствованием методов исследований подтверждались или опровергались выдвинутые ранее теории. Обращается внимание на роль древних бактерий в формировании осадочных пород, значение бактериальной палеонтологии для изучения возникновения и эволюции кор выветривания и палеопочв. Подчёркнута важность внедрения этой науки в программы вузов, что поможет привлечь к исследованиям молодых специалистов.

Ключевые слова: бактериальная палеонтология, осадочные породы, микроскопия, протисты, эукариоты, ископаемые.

DOI: 10.31857/S0869587323090104, EDN: BAZMPQ

Человечество уже давно осознало и доказало огромную роль бактерий на Земле. Если не считать историю изучения влияния бактерий в медицине, то реальное понимание их важности в формировании, например, осадочных горных пород стало складываться лишь в конце XIX в. Так, академик Н.И. Андрусов полагал, что серные месторождения и месторождения бурых железняков, несомненно, связаны с деятельностью бактерий. А о формировании осадочных пород писал ещё В.И. Вернадский: “В геологической истории Земли не удаётся обнаружить периода — сколь угодно древнего — когда образование всех известных для него осадков происходило бы заведомо абиогенным путём. Причём биосфера Земли сформировалась с самого начала как сложная система, с большим количеством видов организмов, каждый из которых выполнял свою роль в общей си-

стеме. Без этого биосфера вообще не могла бы существовать, то есть стойкость её существования была сразу обусловлена её сложностью” [1]. Аналогичной позиции придерживался академик Г.А. Заварзин [2].

Ряд исследователей при изучении древних осадочных пород находили в них образования, похожие на коккоидные бактерии. Например, А.Г. Вологдин обнаружил их в железистых кварцитах Курской магнитной аномалии. Во второй половине XX в. стали появляться публикации с описанием возможных древних органических остатков, обычно интерпретируемых как следы жизни без рассмотрения их реальной систематической принадлежности [3]. Существенный вклад в формирование картины развития органического мира в истории древней Земли внесли американские [4] и советские учёные. Последние (И.Н. Крылов, М.Е. Раабен, М.А. Семихатов и другие) создали выдающуюся школу строматолитчиков, которая, к сожалению, в настоящее время практически сошла на нет. Мощным стимулом к формированию бактериальной палеонтологии в 1970-х годах послужило широкое внедрение электронно-сканирующей и электронногомографической микроскопии [5, 6]. Важным этапом стало применение этих методов при изучении метеоритов (углистых хондритов) [7, 8]. Первые результаты (например, определение возраста по ним подразделений рифея) весьма обна-



РОЗАНОВ Алексей Юрьевич — академик РАН, советник РАН.

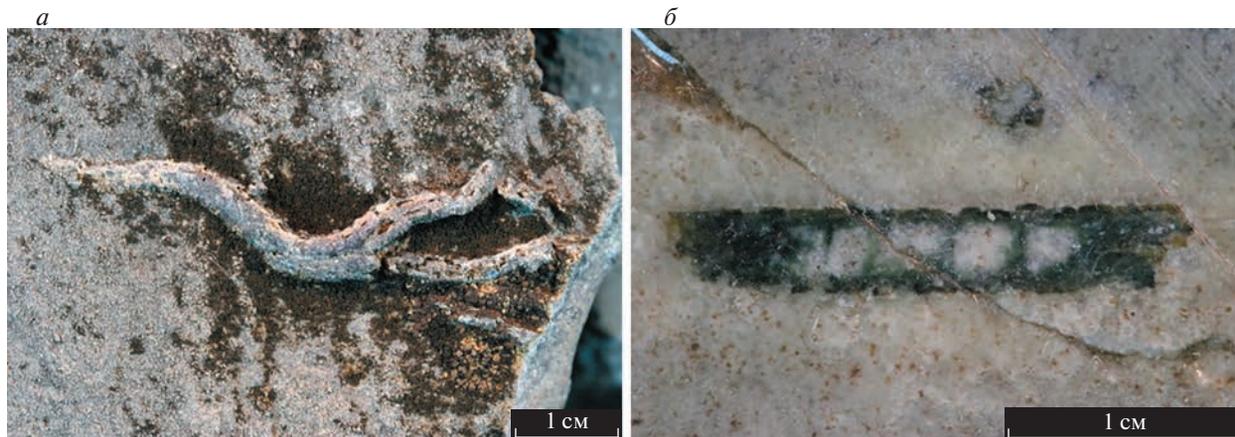


Рис. 1. Общий вид *Udokania* (а) и пришлифовка, на которой видны днища внутри трубки (б)

дѣживали, однако часто вызывали и довольно жѣсткую критику.

Среди наиболее выдающихся исследований в период перехода от оптической микроскопии к электронной следует отметить работы Ф. Вестала, М. Велша, Р. Гувера, а также российских учёных из Палеонтологического института им. А.А. Борисяка РАН и Института микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН [8–12]. Полученные ими данные были необычными и сразу затронули сферы палеонтологии самых древних толщ Земли и палеонтологического изучения космического материала. Так, после публикации командой Д. Маккея [13] результатов исследования возможных обломков с Марса огромный интерес к этой проблеме проявили как российские, так и американские учёные. В конце 1990-х годов мы с Г.А. Заварзиним сформулировали новое научное направление – *бактериальную палеонтологию* [14]. В США на базе международного объединения учёных “Общество оптики и фотоники” (SPIE)

Р. Хувером была организована специальная секция астробиологии, а в России созданы лаборатория в ПИН им. А.А. Борисяка РАН и Совет по астробиологии РАН. Удалось поставить специальный курс бактериальной палеонтологии в МГУ. К 2002 г. опубликована первая книга “Бактериальная палеонтология”, второй том которой вышел в свет в 2021 г. [5, 6].

Разнообразные новые данные по бактериальной палеонтологии возбудили интерес к возобновлению поисков более сложных по сравнению с бактериями и протистами организмов, в том числе к оставленным ими следам (Trace Fossils). Следы движения или сверления сантиметрового размера служат достаточно надёжным свидетельством существования целомат¹. Такие следы зафиксированы в отложениях возрастом 1.4 и 1.6 млрд лет [15]. Переосмыслены и стали подробнее изучаться многие образования, которые заведомо были эукариотами [16, 17]. Более того, многолетний спор о возникновении организмов рода *Udokania*² завершился в пользу их метазойного (целенторатного) происхождения (рис. 1).

В последнее время в районе происхождения *Udokania* в отложениях того же возраста описываются примитивные губки, что говорит о существовании кораллоподобных и губковых организмов уже 2 млрд лет назад (рис. 2). Данные находки интересны и с другой точки зрения: фактически они демонстрируют первую попытку построения скелета у метазоа (многоклеточных животных). В этих же отложениях возрастом чуть более 2 млрд лет из галек фосфоритов описаны очевидные празинофи-



Рис. 2. Губка из района и отложений того же возраста, где найдены *Udokania*

¹ Целоматы – трипобластные животные, обладающие целомом, то есть вторичной внутренней полостью, ограниченной третьей тканью, которая дифференцируется во время эмбрионального развития, – мезодермой. Именно в этой полости омывается большинство органов.

² В 1960-х годах в горах Удокана (север Забайкальского края и юго-запад Якутии) найдены ископаемые в виде трубочек в известняке. В 1965 г. эти образования впервые описал геолог А.М. Лейтес.

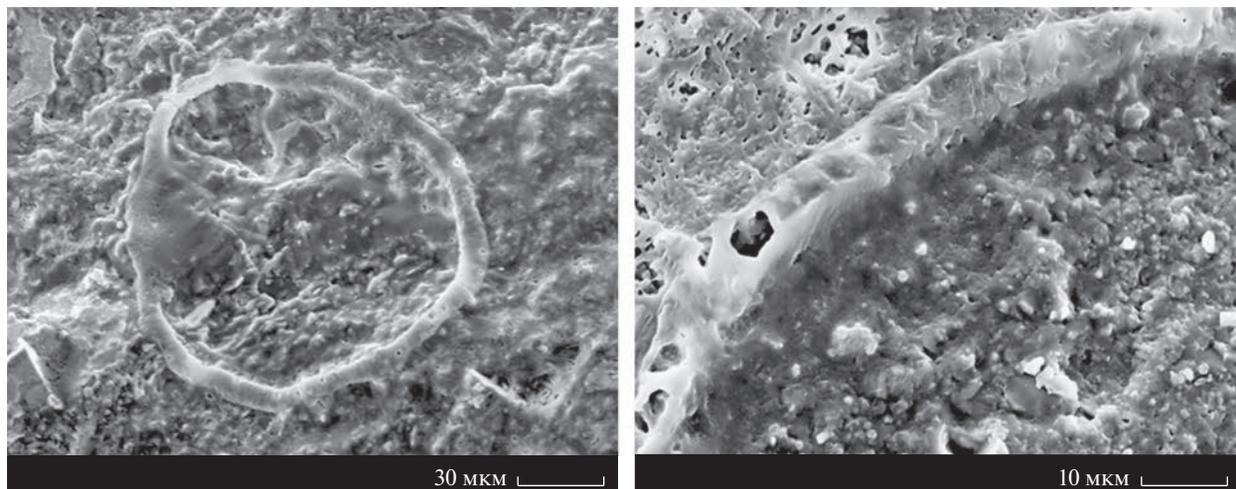


Рис. 3. Pechengia, 2.2 млрд лет

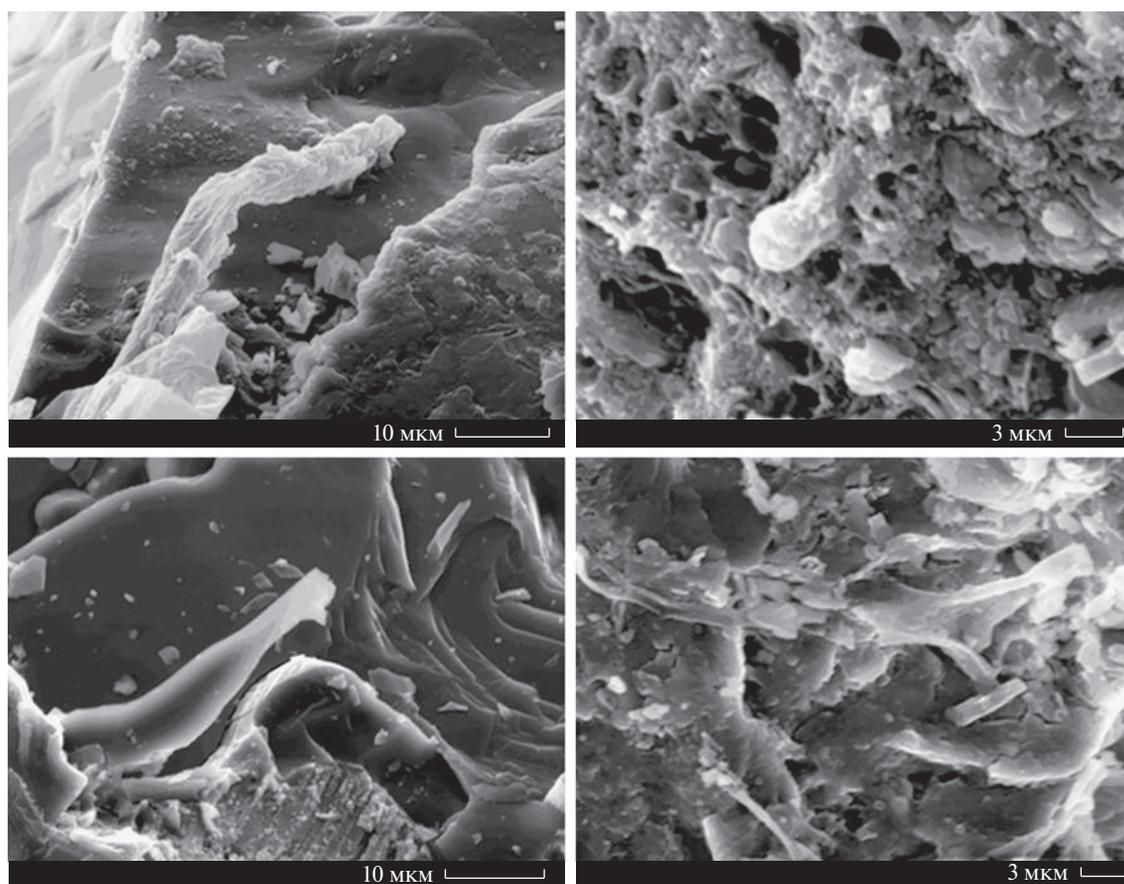


Рис. 4. Прокариоты, коры выветривания архея

ты (Pechengia, одноклеточные зелёные водоросли) [16] (рис. 3), а в корях выветривания³ архея

³ Кора выветривания — материнские породы верхней части литосферы (магматические, метаморфические или осадочные), преобразованные в континентальных условиях различными факторами выветривания.

Карелии [18] — многочисленные примитивные организмы неясной систематической принадлежности (прокариоты) (рис. 4). Кроме того, в этих же корях найдены ископаемые амёбы (рис. 5) по крайней мере двух разных видов [18], то есть эукариоты. Данные находки вновь повлекли дис-

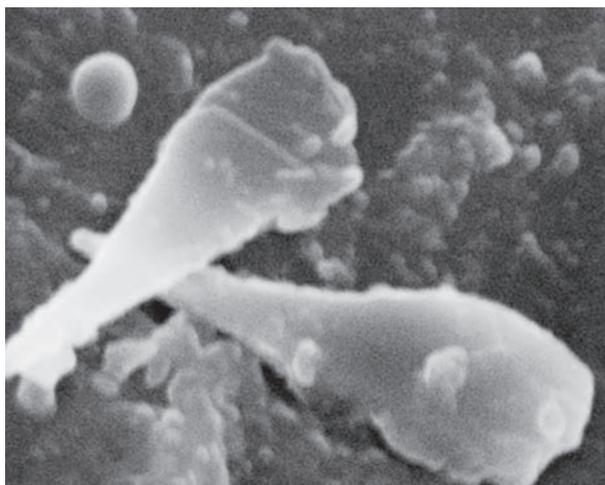
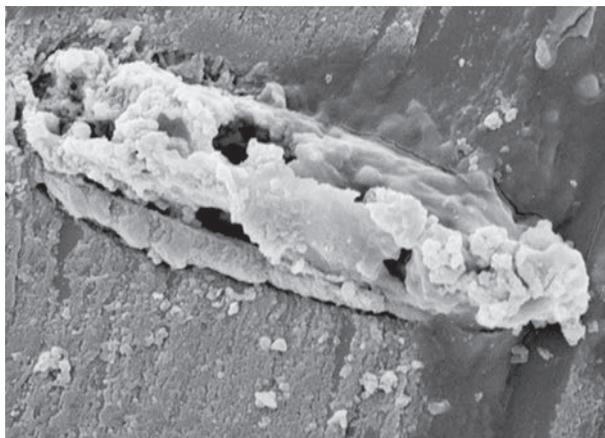


Рис. 5. Панцерные амёбы, коры выветривания

куссии о том, что имел место не выход организмов из моря на сушу, а наоборот.

На первом этапе становления электронно-микроскопической бактериальной палеонтологии особое внимание уделялось осадочным полезным ископаемым. Все изученные образцы продемонстрировали несомненное участие бактерий в их образовании. Здесь можно привести классический пример фосфоритов, которые послужили первым и главным источником информации об удивительной сохранности бактерий (составляющих основу этого вида сырья) в ископаемом состоянии. Как позже показали исследования, организованные Э. Школьником [10], мировые фосфориты всех возрастов формируются при активном участии биогенного, прежде всего бактериального фактора. Убедительные материалы получены также по бокситам, шунгитам, а самым интересным фактом можно считать установленное бактериальное происхождение ювелирных опалов Австралии. По аналогии с опалами А.М. Беляев и П.В. Юхалин предполагают участие бактерий в образовании моховых агатов [19].

Они же описывают находки “колониальных” прокариот из вулканогенно-осадочных пород возрастом 1.64 млрд лет [20]. Не менее ценны результаты исследования участия бактерий в формировании Томторского редкометалльного месторождения [21, 22].

Огромное значение имело изучение цианобактерий в гейзеритах Камчатки. Показано, что утверждение о хемогенной (в результате химических процессов) природе гейзеритов ошибочно. Оказалось, что их микроструктура неоднородна: в высокотемпературной части источников в районе грифонов (прорывов на поверхность) коллоидный кремнезём отлагается чисто хемогенным путём, а в области распространения термальных микроорганизмов – биогенным. Цианобактериальные маты служат своеобразной матрицей, по которой происходит ускоренная опализация в зоне смачивания термальными водами. Биоморфную структуру гейзеритов из разных термопроявлений Камчатки образуют многочисленные остатки фоссилизированных микроорганизмов, в первую очередь цианобактерий [23, с. 27, 28]. Крайне любопытные результаты получены и при исследованиях бактериальной активности в горячих источниках Исландии [5], что стимулировало дальнейшее изучение деятельности бактерий на и под поверхностью территорий с горячими источниками.

В дальнейшем бактериальная палеонтология, несомненно, будет играть большую роль в решении вопроса возникновения и эволюции древних кор выветривания и палеопочв [24]. Исключительная сохранность организмов микронной размерности, впервые показанная на примере бактерий фосфоритов озера Хубсугул (Монголия) [25] и многократно подтвердившаяся при изучении древних осадочных пород и ископаемых, содержащихся в метеоритах, привела к очень серьёзному выводу: организмы микронной размерности (особенно не имевшие скелета или оболочки спорополненного⁴ типа) прекрасно сохраняются. Можно предположить, что ранняя биосфера Земли была преимущественно бактериально-протистовой, достаточно устойчивой и жизнеспособной во времени из-за огромной скорости размножения этих организмов.

Многочисленные исследования углистых хондритов (метеоритов) показали, что они содержат в основном фоссилизированные остатки различного рода бактерий и протистов, среди которых встречаются празиофиты (зелёные водоросли) и альвеолиты (надтип протистов, объединяющий ряд таксономических групп, в том числе инфузорий, споровиков и динофлагеллят) [26, 27]. Как

⁴ Спорополленин – химически стойкое высокополимерное вещество, нерастворимое в органических растворителях и не изменяющееся при воздействии минеральных (неорганических) кислот и щелочей.

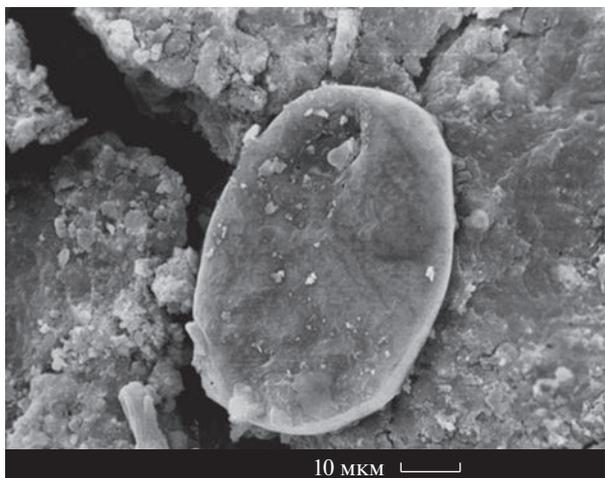


Рис. 6. Альвеоляты, метеорит Оргей

ни парадоксально, метеоритная и архейско-раннепротерозойская микронная биота изучена лучше, чем более молодая. Поэтому нам, вероятно, необходимо переосмыслить ещё и особенности развития биосферы позднего докембрия и фанерозоя (рис. 6, 7). Конечно, не следует забывать, что ранее сделанные находки в архее, протерозое и метеоритах нуждаются в уточнении их систематической принадлежности.

Бактериальная палеонтология позволяет принципиально корректировать палеогеографические построения. Один из ярких результатов представлен в статье [14]. В этом контексте уместно привести сравнительные характеристики палеогеографии в раннем кембрии (рис. 8).

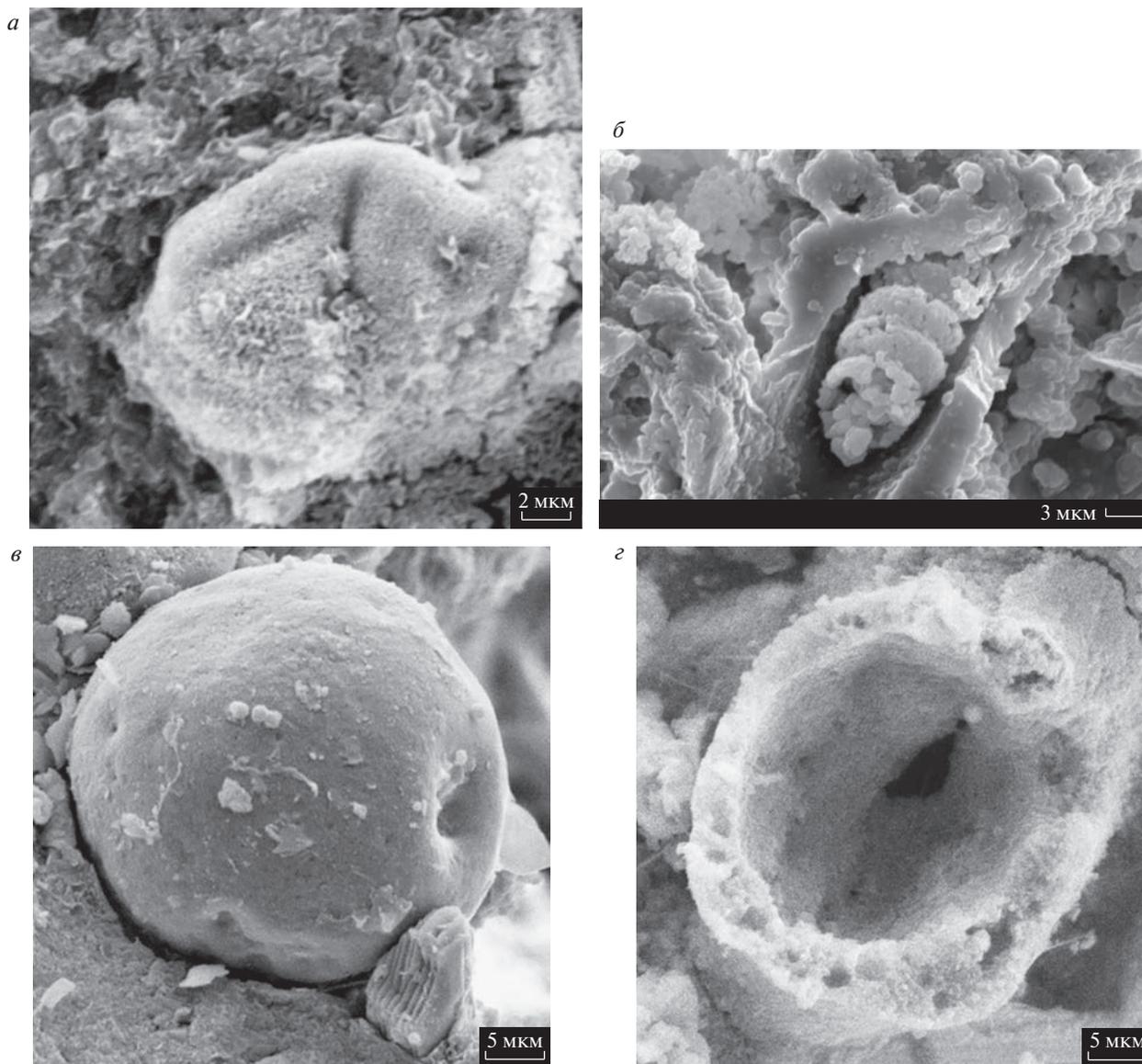


Рис. 7. Ископаемые остатки организмов в метеорите Оргей
 а – спороподобное образование, диаметр 6–7 мкм; б – спиралеобразный *Obruchivela*-подобный организм;
 в – *Tasmanites*-подобный прازیнофит; з – прازیнофит, напоминающий *Pechengia*

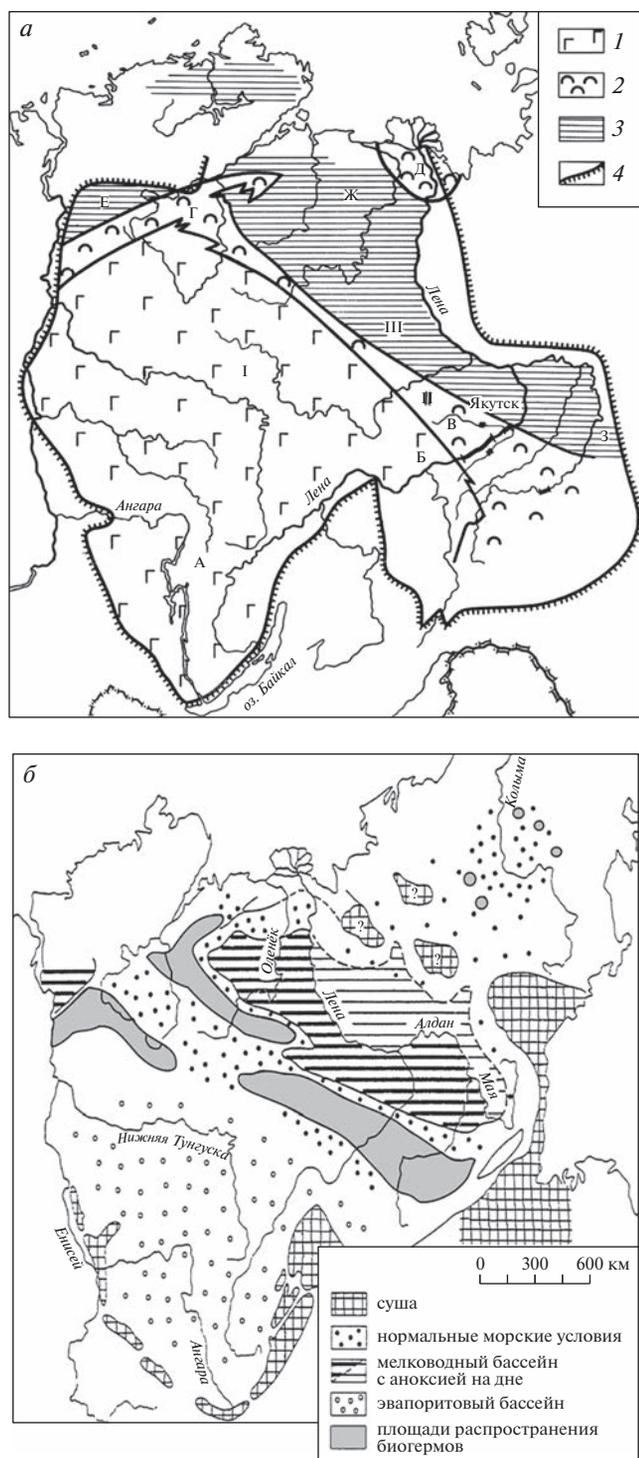


Рис. 8. Палеогеография Сибирской платформы в раннем кембрии
a – традиционная трактовка (по В.Е. Савицкому и В.А. Асташкину): 1 – отложения лагунного типа; 2 – рифогенные отложения; 3 – доманиковые отложения шельфа открытого моря; 4 – граница Сибирской платформы; *б* – после обнаружения цианобактериальных матов (по А.Ю. Розанову и Г.А. Заварзину)

Другой важнейший итог работы в области бактериальной палеонтологии – возможность приблизительно представить общую картину разви-

тия органического мира в докембрийское время. Так, с появлением достоверных осадочных пород возрастом около 4 млрд лет было зафиксировано существование (согласно изотопным данным М.В. Шидловского), вероятно, красных водорослей, а может, и зелёных водорослей ганфлинского типа. Многочисленные находки описаны на основе материалов из Австралии и Южной Африки (3.3–3.4 млрд лет) [3, 28], которые в ранних работах обычно характеризуются как следы жизни или артефакты. Сегодня благодаря большому объёму исследований с помощью бактериально-палеонтологических методов в этих образцах можно уверенно распознать разные эукариотические организмы.

М.М. Астафьева зафиксировала и описала цианобактериальные образования в архейских породах Курской магнитной аномалии [29]. Можно предположить, что и древние архейские строматолиты, описанные разными авторами [26, 30], вероятно, тоже свидетельствуют о достаточно широком распространении цианобактериальных образований. Кроме того, детальное изучение материалов, связанных с так называемой большой оксигенизацией атмосферы (приблизительно 2.5 млрд лет назад), доказывает, что традиционные представления, попавшие в учебники всех стран, не подтверждаются.

Как отмечалось выше, обосновано представление о появлении несомненных метазоа не позднее 2 млрд лет назад, а дополнительное тщательное изучение следов, оставленных древними организмами, показало, что целоматные организмы появились не позднее, чем 1.6 млрд лет назад [15, 26]. Это подтверждается публикациями по акритархам⁵, в частности, при повторном обращении к коллекции Б.В. Тимофеева и его книге “Микрофитофоссилии раннего докембрия” [31]. К сожалению, ранее в его результаты никто не поверил. Эта информация также хорошо согласуется с данными по хемофоссилиям, следы метазоа в которых были датированы 2 млрд лет. Следует отметить, что биохимические данные нефтяников также не противоречат этому факту.

Сегодня уже не подвергается сомнению огромная роль бактерий и протистов в формировании осадочных полезных ископаемых (включая докембрийские) и доказана полная состоятельность убеждений В.И. Вернадского. Но всё вышесказанное подтверждает необходимость проведения специальных исследований, способствующих биостратиграфическому обоснованию корреляции осадочных толщ докембрия, с которыми в Сибири, вероятно, связаны огромные запасы углеводородов (рис. 9).

⁵ Акритархи – кажущиеся одноклеточными ископаемые остатки микроскопических организмов, на самом деле – настоящие эукариоты.

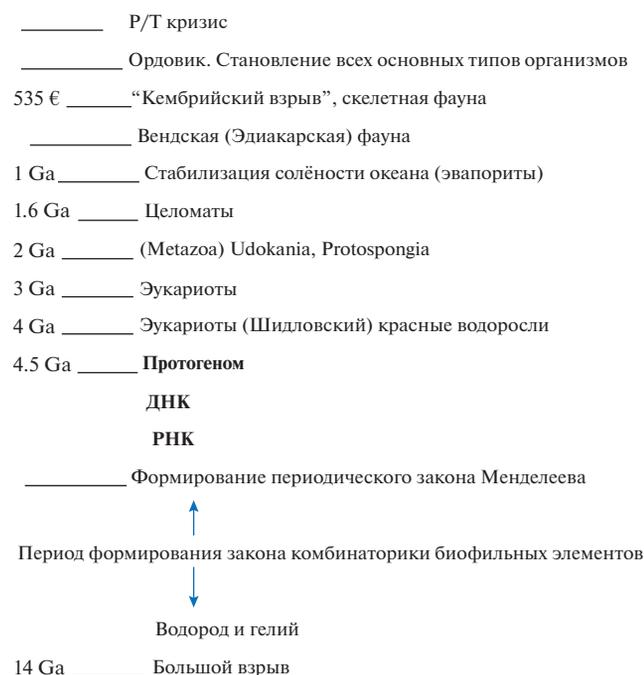


Рис. 9. Схема последовательности важнейших биотических событий в истории Земли

С зарождением бактериальной палеонтологии открылись потенциально перспективные возможности палеонтологического и, соответственно, биостратиграфического изучения древних толщ. Подтверждением раннего появления эукариот на Земле служат результаты исследования их фоссилизированных остатков на других телах планетного типа возрастом старше Земли (метеорит Оргей) [27].

Для решения задачи корреляционной качественной сопоставимости с палеозоем, что можно осуществить в течение 10–15 лет, необходимо подготовить предложения по планомерному систематическому изменению образовательной системы. Важно прививать интерес к электронно-микроскопическим и томографическим исследованиям у школьников и студентов. Естественно, это потребует налаживания кооперации вузов с научными учреждениями, дооснащения их соответствующей аппаратурой. Надо вводить специальные курсы в вузах и восстановить специальность “геологическая съёмка”. В курсы палеонтологии должны быть включены разделы по микронным объектам палеонтологического толка.

В связи с новизной предлагаемых приёмов изучения древних пород возникает потребность в разработке ряда методических рекомендаций, которые следует опубликовать в виде возможных наставлений: по примеру опубликованных в 1950–1960-е годы по отдельным группам фауны и

флоры, которые послужили прекрасным подспорьем для работающих на геологической съёмке и любых стратиграфических работах. Подготовку таких материалов должны взять на себя учреждения, где подобная деятельность уже налажена. Безусловно, на первых порах необходимы регулярные совещания и семинары для формирования единообразной методики исследования. Стоит попробовать организовать подготовку новых учебных пособий, учитывающих хотя и фрагментарный, однако новый и важный комплекс добытых за последнее время знаний. Кроме того, палеонтологам и стратиграфам, нужно провести тщательный анализ состояния реально действующих кадров и выявить лакуны, которые образовались в результате деградации организационной структуры и разрушения науки в учреждениях РАН и вузах.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Вернадский В.И.* Биосфера. М.: Мысль, 1967.
2. *Заварзин Г.А.* Планета бактерий // Вестник РАН. 2008. № 4. С. 328–336; *Zavarzin G.A.* A Planet of Bacteria // Herald of the Russian Academy of Sciences. 2008. № 2. P. 144–151.
3. *Wacey D.* Early Life on Earth. Springer, 2009.
4. Earth's biosphere, its origin and evolution / Ed. by J.W. Schopf. Princeton: Princeton Univ. Press, 1983.
5. Бактериальная палеонтология. М.: ПИН РАН, 2002.
6. Бактериальная палеонтология. М.: ПИН РАН, 2021.
7. *Герасименко Л.М., Жегалло Е.А., Жмур С.И. и др.* Бактериальная палеонтология и исследования углистых хондритов // Палеонтологический журнал. 1999. № 4. С. 103–125.
8. *Астафьева М.М., Герасименко Л.М., Гейтнер А.Р. и др.* Ископаемые бактерии и другие микроорганизмы в земных породах и астроматериалах / Науч. ред. А.Ю. Розанов, Г.Т. Ушатинская. М.: ПИН РАН, 2011.
9. *Astafieva M.M., Rozanov A.Yu., Hoover R.B.* Multicellular algae from Lower Proterozoic (2.45 Ga) weathering crusts of Kola Peninsula // Proc. SPIE. 2011. V. 8152. 815204-1-815204-10.
10. *Школьник Э.Л., Тяньфу Т., Еганов Э.А. и др.* Природа фосфатных зёрен и фосфоритов крупнейших бассейнов мира. Владивосток: Дальнаука, 1999.
11. *Сергеев В.Н., Семихатов М.А., Федонкин М.А. и др.* Основные этапы развития докембрийского органического мира: сообщение 1. Архей и ранний протерозой // Стратиграфия. Геол. корреляция. 2007. № 2. С. 25–46.
12. *Розанов А.Ю.* Псевдоморфозы по микробам в метеоритах // Проблемы происхождения жизни. М.: ПИН РАН, 2009.
13. *McKay D.S., Gibson E.K., Thomas-Keprta J. et al.* Search for past life on Mars: possible relic biogenic activity in Martian meteorite ALH 84001 // Science. 1996. V. 273. P. 926–930.
14. *Розанов А.Ю., Заварзин Г.А.* Бактериальная палеонтология // Вестник РАН. 1997. № 3. С. 241–245;

- Rozanov A. Yu., Zavarzin G. A.* Bacterial Paleontology // Herald of the Russian Academy of Sciences. 1997. № 2. P. 109–113.
15. *Kauffman E. G., Steidtmann J. R.* Are these the oldest metazoan trace fossils? // J. Paleontol. 1981. № 5. P. 923–947.
16. *Розанов А. Ю., Астафьева М. М.* Празинофиты (зелёные водоросли) из нижнего протерозоя Кольского полуострова // Палеонтологический журнал. 2008. № 4. С. 90–93.
17. *Розанов А. Ю.* Ископаемые бактерии, седиментогенез и ранние стадии эволюции биосферы // Палеонтологический журнал. 2003. № 6. С. 41–49.
18. Биogeография и эволюционные процессы // Материалы LXVI сессии ВПО. 2020. С. 349.
19. *Беляев А. М., Юханин П. В.* Древняя глубинная биосфера Земли // Труды LXIX сессии ВПО. 2023. С. 14–16.
20. *Беляев А. М., Юханин П. В.* Находки микрофоссилий колониальных прокариот в кремнистых породах хугландской вулканогенно-осадочной формации (1640 млн лет) // Труды LXVII сессии ВПО. 2021. С. 12–14.
21. *Жегалло Е. А., Розанов А. Ю.* Редкоземельно-ниобиевые руды Томтора // Бактериальная палеонтология / Под ред. А. Ю. Розанова. М.: ПИН РАН, 2021.
22. *Жмур С. И., Кравченко С. М., Розанов А. Ю., Жегалло Е. А.* О генезисе богатых редкоземельно-ниобиевых руд Томтора (север Сибирской платформы) // ДАН. 1994. № 3. С. 372–375.
23. *Жегалло Е. А., Зайцева Л. В., Карпов Г. А., Самылина О. С.* Современная фоссилзация и гейзериты Камчатки // Бактериальная палеонтология. М.: ПИН РАН, 2021.
24. *Алексеев А. О., Алексеева Т. В.* Астропедология и палеопочвенные архивы Земли. Тезисы докладов // 4-я Всероссийская конференция по астробиологии. Пушино, 2023. С. 7–9.
25. *Розанов А. Ю., Жегалло Е. А.* К проблеме генезиса древних фосфоритов Азии // Литология и полезные ископаемые. 1989. № 3. С. 67–82.
26. Проблемы происхождения жизни. М.: ПИН РАН, 2009.
27. Метеорит Оргей (атлас микрофоссилий) / Отв. ред. А. Ю. Розанов. М.: ОИЯИ, 2020.
28. Fossil and Recent Biofilms. A Natural History of Life on Earth / Ed. by W. E. Krumbein, D. M. Paterson, G. A. Zavarzin. KLUWER, 2003.
29. *Астафьева М. М.* Железистые кварциты (джеспилиты) // Бактериальная палеонтология. М.: ПИН РАН, 2021.
30. *Hofmann H. J.* Archaeal stromatolites as microbial archives // Microbial sediments. Berlin: Springer, 2000.
31. *Тимофеев Б. В.* Микрофитофоссилии раннего докембрия. Л.: Наука, 1982.

BACTERIAL PALEONTOLOGY TODAY AND TOMORROW

A. Yu. Rozanov^{1, #}

¹The Paleontological Institute, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

[#]E-mail: aroza@paleo.ru

The history of bacterial paleontology is outlined. The author describes how the refinement of methods has led to confirmation or rejection of proposed hypotheses. The role of ancient bacteria in the genesis of sedimentary rocks and the importance of bacterial paleontology for understanding the origin and evolution of weathering rinds and paleosols are emphasized. Incorporating this discipline into university curricula is important to attract young researchers to this field of study.

Keywords: bacterial paleontology, sedimentary rocks, microscopy, protists, eukaryotes, fossils.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИНВАЗИИ ЧУЖЕРОДНЫХ ВИДОВ – ГЛОБАЛЬНЫЙ ВЫЗОВ ПОСЛЕДНИХ ДЕСЯТИЛЕТИЙ

© 2023 г. Ю. Ю. Дгебуадзе^{a,b,*}

^aИнститут проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия

^bМосковский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*E-mail: yudgeb@gmail.com, yudgeb@yandex.ru

Поступила в редакцию 22.07.2023 г.

После доработки 26.07.2023 г.

Принята к публикации 30.07.2023 г.

Биологические инвазии чужеродных видов – освоение живыми организмами территорий и акваторий за пределами их исторического ареала – приобрели в настоящее время гигантский размах, затронув все страны и континенты. Наблюдаемые в последнее время тенденции развития инвазионного процесса свидетельствуют о существенной его интенсификации. В предлагаемом обзоре приводятся сведения о масштабах биологических инвазий на Земле, истории, современном состоянии и основных направлениях научных исследований в этой области. В частности, рассмотрены факторы, определяющие возможность вселения чужеродного вида; этапы инвазионного процесса; экологические, генетические и эволюционные последствия инвазий для природных экосистем; воздействие видов-вселенцев на безопасность и здоровье людей и социальную сферу и экономику; подходы к прогнозированию и управлению инвазионным процессом.

Ключевые слова: инвазия, чужеродный вид, инвазионный вид, натурализация, интродукция.

DOI: 10.31857/S0869587323090050, EDN: ХМУМҚО

В условиях глобальных вызовов, которые стоят перед человечеством в последние десятилетия (климатические изменения, загрязнение окружающей среды и переэксплуатация возобновляемых природных ресурсов) особое место занимает проблема биологических инвазий чужеродных видов. Исследования этой проблемы во многих своих аспектах связаны с созданием научных основ стратегии обеспечения биологической безопасности многих стран мира, включая Российскую Федерацию.

Под термином *биологическая инвазия* обычно понимают создание каким-либо видом живых ор-

ганизмов самовоспроизводящейся (устойчивой) популяции за пределами его естественного (исторического) ареала. Такие расширения территорий и акваторий, в которых обитают виды живых организмов, могут происходить в результате естественного саморасселения, связанного с климатическими изменениями, флуктуациями численности и ресурсов, а также преднамеренной и случайной интродукции или реинтродукции человеком ценных в хозяйственном отношении (“полезных”) организмов (растений и животных).

Следует отметить, что инвазии чужеродных видов происходили всегда, с начала появления жизни на нашей планете. Исследователи хронологически выделяют *палеоинвазии* как отдельный тип. Палеоинвазии были связаны с глобальными геологическими и климатическими изменениями Земли в далёком прошлом: с соединениями и разъединениями континентов, преобразованием водных бассейнов и т.п. В связи с многовековой изменчивостью Земли и соответственно мест обитания живых организмов специалисты, изучающие инвазии, столкнулись с такой проблемой, как установление времени, с которого следует считать наблюдаемый ареал вида (террито-



ДГЕБУАДЗЕ Юрий Юлианович – академик РАН, заведующий лабораторией ИПЭЭ РАН, заведующий кафедрой общей экологии и гидробиологии МГУ им. М.В. Ломоносова.

рия или акватория, на которой он обитает) историческим или приобретённым.

В настоящее время на этот счёт преобладают три точки зрения: считать чужеродным (видом-вселенцем) вид, проникший за пределы своего исторического ареала после неолита (с начала нашей эры – 9.5 тыс. лет назад); после 1492 г. (год открытия Америки, который принят за начало эпохи великих географических открытий); с 1800 г. Все три точки зрения имеют под собой весомые основания. В начале нашей эры человек перешёл от собирательства к растениеводству и скотоводству и в связи с этим, как полагают, способствовал распространению живых организмов. Великие географические открытия, когда путешественники перевозили живые организмы с континента на континент, также стали причиной интенсификации инвазионного процесса. А к началу XIX столетия (после 1758 г.) среди учёных-биологов утвердилась предложенная Карлом Линнеем система каталогизации биоразнообразия – бинарная номенклатура, согласно которой каждый вид имеет название, состоящее из двух латинских слов. Именно с этого времени стало возможным составлять научные списки видов живых организмов, обитающих в том или ином регионе.

Инвазии чужеродных видов, которые происходят после обозначенных дат, обычно именуют четвертичными. Особенно интенсивно инвазионный процесс стал наблюдаться на Земле во второй половине XX в., когда практически все страны мира столкнулись с его последствиями. Именно тогда стала развиваться и терминология, связанная с вселениями организмов. В частности, появилось понятие *инвазионного вида* – чужеродного вида, который натурализовался (создал самовоспроизводящуюся популяцию) в новоприобретённом ареале и *нанёс существенный ущерб аборигенным видам и экосистемам*.

Озабоченность мирового сообщества проблемами инвазий чужеродных видов отразилась в Конвенции о биологическом разнообразии (1992), которая, признавая “непреодолимую ценность биологического разнообразия”, декларировала: “Каждая договаривающаяся сторона, насколько это возможно и целесообразно, предотвращает интродукцию чужеродных видов, которые угрожают экосистемам, местам обитания или видам, контролирует или уничтожает такие чужеродные виды” (ст. 8, раздел h).

МАСШТАБЫ ИНВАЗИОННОГО ПРОЦЕССА

Анализ периодических изданий АН СССР и РАН, проведённый в конце 1990-х годов, показал, что на территории РФ обнаружено более 500 видов чужеродных видов животных. Безусловно,

Таблица 1. Живые организмы, которые к началу XXI в. вселились на территорию Европы [4]

| Организмы | Число вселившихся чужеродных видов |
|--------------------------------------|------------------------------------|
| Грибы | 84 |
| Мхи и лишайники | 58 |
| Сосудистые растения | 3749 |
| Наземные беспозвоночные животные | 1522 (из них насекомые – 1306) |
| Пресноводные беспозвоночные животные | 357 |
| Рыбы | 75 |
| Амфибии | 35 |
| Рептилии | 72 |
| Птицы | 193 |
| Млекопитающие | 88 |

но, реальное число вселенцев уже тогда было гораздо больше, если принять во внимание общее снижение в конце прошлого века интенсивности полевых исследований, которые позволяют получать материал о состоянии биоразнообразия, включая данные о наличии видов-вселенцев.

В России в настоящее время наблюдается несколько горячих точек инвазионного процесса. Для наземных экосистем это прежде всего европейская часть страны и отчасти Приморский край. В водных экосистемах больше всего вселенцев отмечено в Чёрном, Азовском, Каспийском, Балтийском и дальневосточных морях, а также в бассейнах крупных рек – Волги, Оби и Енисея. С начала XXI в. в европейской части России встречаются следующие вселенцы: 1150 видов растений (причём все они ранее обитали за границами региона, а не расширяли свой ареал в его пределах); 192 вида растительных насекомых (абсолютное большинство из которых – вредители сельского, лесного и паркового хозяйств); 59 видов рыб; 62 вида млекопитающих. К этому же времени в бассейн Чёрного моря вселилось и натурализовалось 156 чужеродных видов [1]; в дальневосточных морях РФ обнаружено 63 вида-вселенца [2]. Из пресноводных бассейнов лидирует Волга: только чужеродных рыб в её бассейне отмечено 36 видов (32.1% ихтиофауны) [3]. Схожую картину крупных масштабов инвазий демонстрируют и данные, полученные и за пределами нашей страны, в частности, в Европе (табл. 1).

Не следует забывать, что проблема инвазий чужеродных видов включает и расселение резервуаров, переносчиков и возбудителей болезней чело-

Таблица 2. Прогнозируемый рост относительного и абсолютного числа чужеродных видов с 2005 по 2050 г. [6]

| Континент | Относительное увеличение 2005–2050 гг., % | Абсолютное увеличение 2005–2050 гг. |
|-----------------------|--|--|
| Африка | 39 (14.51) | 767 ± 133 |
| Азия умеренного пояса | 50 (0.117) | 1597 ± 197 |
| Тропическая Азия | 30 (10.67) | 360 ± 78 |
| Австралия | 16 (5.28) | 1286 ± 44 |
| Европа | 64 (13.100) | 2543 ± 237 |
| Северная Америка | 23 (6.42) | 1484 ± 74 |
| Тихоокеанские острова | 21 (0.56) | 132 ± 29 |
| Южная Америка | 49 (16.99) | 1391 ± 258 |
| В среднем | 36 (0.117) | 1195 ± 131 |

Примечание: Относительное увеличение представляет собой среднее относительное увеличение и диапазон увеличения по таксономическим группам; абсолютное увеличение – это суммы появляющихся чужеродных видов и стандартные отклонения по таксономическим группам. Абсолютный рост рассчитывался только с учётом таксономических групп, которые были доступны для большинства континентов (сосудистые растения, рыбы, птицы и членистоногие).

века, животных и растений. В частности, человечество пережило три крупные пандемии чумы, в результате одной из которых (1346–1353), по разным оценкам, в Европе погибло от 75 до 200 млн человек, что составляло 45–50% всего населения этой части света. Распространение возбудителя чумы *Yersinia pestis* в значительной степени обусловлено ареалами носителей этого микроба, а это более чем 233 вида млекопитающих и 180 видов и подвидов его переносчиков – блох [5].

Особенность современной ситуации – *интенсификация инвазионного процесса*. С каждым годом на всех континентах наблюдается рост числа видов-вселенцев. На основе имеющихся тенденций методами математического моделирования удаётся показать, сколь масштабно инвазионный процесс может развиваться в будущем (табл. 2).

ИСТОРИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ БИОЛОГИЧЕСКИХ ИНВАЗИЙ ЧУЖЕРОДНЫХ ВИДОВ

Считается, что научные исследования биологических инвазий чужеродных видов в современном понимании этого явления начались после выхода в 1958 г. книги выдающегося британского эколога Чарльза Элтона, который показал масштабность этого явления и обобщил большой объём данных о видах-вселенцах и их влиянии на аборигенные виды и экосистемы [7]. Фактически в это время появилось новое направление науки – *инвазионная биология*. Важно, что по инициативе профессора биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова Н.П. Наумова книга Ч. Эл-

тона довольно быстро была переведена и издана в СССР [8].

Очевидно, что инвазионная биология появилась не на пустом месте. Многие положения, которые теперь вошли в это направление, давно развивались эпидемиологами, паразитологами, физиологами, биогеографами, ботаниками, зоологами, экологами, генетиками и эволюционистами. Особо следует отметить научные исследования, связанные с популярной (прежде всего в XX в.) деятельностью по преднамеренной интродукции живых организмов за пределами их естественных ареалов. Первоначально работы велись в направлении поиска полезных для человека живых организмов, которых можно было бы привезти из отдалённых регионов и натурализовать в новых местах. При этом изучались как виды, которые, как считалось, могли бы повысить продуктивность аборигенных экосистем и увеличить ассортимент ресурсов, используемых человеком, так и виды, способные помочь людям бороться с вредителями сельского хозяйства. Не обсуждая целесообразность подобных мероприятий, можно с уверенностью сказать, что полученные в рамках подготовки и проведения интродукций научные результаты много дали для понимания хода инвазионного процесса, в особенности для оценки возможностей вселенцев адаптироваться к новым абиотическим факторам среды. Кроме того, в результате этих исследований была предложена схема инвазионного процесса, подробно описаны этапы и определены сроки натурализации чужеродных видов после их преднамеренной интродукции. Следующим этапом исследований стал анализ результатов многолетних исследова-

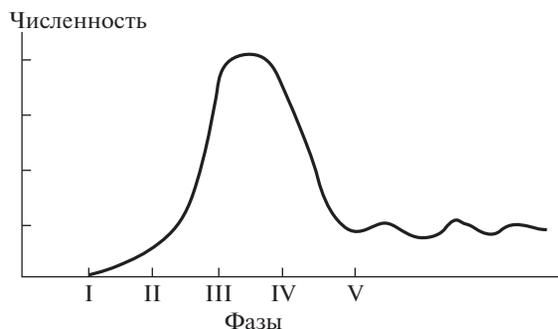


Рис. 1. Основные этапы (фазы) инвазионного процесса: I — выживание первых рекуттов; II — создание самовоспроизводящейся популяции; III — взрыв численности; IV — падение численности; V — стабилизация численности (по [9] с изменениями)

ний по интродукции и создание сводок по ряду видов-вселенцев. Так, в нашей стране были опубликованы монографии по колорадскому жуку, дрейссене, ондатре, пеляди, овцебыку и ряду других видов-вселенцев СССР и России. В некоторых работах были предприняты попытки оценить воздействие видов-вселенцев на экосистемы-реципиенты.

СОВРЕМЕННЫЕ НАУЧНЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О БИОЛОГИЧЕСКИХ ИНВАЗИЯХ ЧУЖЕРОДНЫХ ВИДОВ

Основные факторы, определяющие возможность вселения чужеродного вида. В настоящее время в инвазионной биологии сложился основной понятийный аппарат, отражающий в том числе и направления исследований в этой области. Прежде всего представляется важным установить основные факторы, определяющие возможность вселения чужеродного вида в ту или иную экосистему. Анализ успешных инвазий показал, что к таким факторам относятся:

- наличие транзитных путей инвазий (инвазионные коридоры) — путей, по которым постоянно перемещаются живые организмы из региона-донора в регион-реципиент;
- наличие векторов (способов) распространения, которые бывают *естественными* (саморасселение, например, миграции животных; гидрохория, то есть благодаря водным течениям морей и пресноводных водотоков; аэрохория, то есть распространение с воздушными потоками) и *антропогенными* (преднамеренная или случайная интродукция — антропохория — с наземными транспортными средствами и судами (обрастания, балластные воды), “хулиганская интродукция”, например, выпуск аквариумных гидробионтов, экзотических питомцев, видов, используемых в пищу человеком, наживок для ловли рыб и проч.);

- адаптивные возможности вида-вселенца — широта нормы реакции на факторы среды;

- генетическое разнообразие вида-вселенца (например, успешность инвазии может быть выше, если в новый ареал попадает смесь вселенцев из разных аллопатрических донорских популяций вида);

- величина пресса рекуттов (*propagule pressure*) — определяемая количеством (числом вселившихся особей) и частотой проникновения чужеродного вида в новую для него экосистему;

- наличие симбионтов (ряд видов нуждается в организмах-симбионтах, которые обеспечивают им необходимые для существования жизненные функции, например, биогенные элементы, азот и фосфор);

- уязвимость аборигенных экосистем: исследования показали, что наиболее подвержены инвазиям экосистемы, нарушенные природным или антропогенным воздействием вследствие изменений климата, землетрясений, наводнений, пожаров, загрязнений (включая тепловое), изменений баланса биогенных элементов (эвтрофирование), переэксплуатации биологических ресурсов, а также нарушенные при создании новых антропогенных экосистем — агроценозов, урбоценозов, каналов, водохранилищ.

Перечисленные факторы определяют успешность и ход инвазионного процесса, причём их роль может меняться в каждом конкретном случае — в зависимости от определённой экосистемы и того или иного вида-вселенца. Выявление факторов, определяющих возможность вселения чужеродного вида, не только диктует направления научных исследований инвазионного процесса, но и является основой для оценки риска, предотвращения и контроля инвазий.

Основные этапы инвазионного процесса. Как уже отмечалось выше, ещё в период увлечения преднамеренной интродукцией “полезных” для человека живых организмов в прошлом веке была предложена общая схема хода инвазионного процесса, основанная на наблюдениях за популяциями видов-вселенцев (рис. 1).

Особенно важным для успеха инвазии является период между фазами I и II, продолжительность которого часто именуют лаг-фазой (задержкой) инвазионного процесса. Безусловно, продолжительность лаг-фазы зависит от упомянутых выше факторов, обуславливающих возможность инвазии, и часто бывает весьма протяжённой. Например, в приведённом в книге Ч. Элтона [7, 8] случае инвазии морской миноги *Petromyzon marinus* (саморасселение после постройки Уэллэндского канала) в Великие озёра Северной Америки лаг-фаза длилась более 20 лет, а при преднамеренной интродукции камчатского краба *Paralithodes camtschaticus* в Баренцево море в

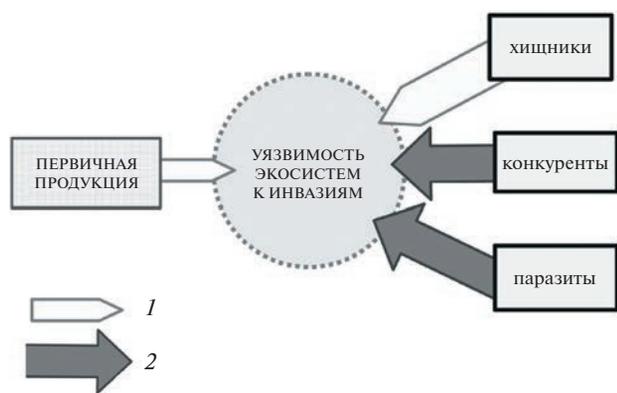


Рис. 2. Схема биологического регулирования уязвимости экосистем к инвазиям: 1 – фактор, повышающий уязвимость экосистем, 2 – фактор, понижающий уязвимость экосистем [10]

прошлом веке – 30 лет. Исследования популяций видов-вселенцев на первых этапах инвазии, когда ещё не произошла натурализация, особенно важны для прогнозирования и предотвращения нежелательных вселений.

Изменения климата как стимулятор биологических инвазий чужеродных видов. В настоящее время можно считать доказанными происходящие на Земле глобальные климатические изменения, связанные не только с потеплением, но и с неустойчивостью режимов температуры и влажности. Безусловно, климатические условия влияют на все факторы, определяющие возможность вселения чужеродного вида. Имеющиеся данные позволяют предложить упрощённую схему уязвимости экосистем к инвазиям чужеродных видов в период “стабильного климата” (рис. 2). Повышение продукции и усиление пресса хищников делает экосистему более уязвимой, а аборигенные конкуренты и паразиты препятствуют проникновению вселенцев.

Потепление климата стимулирует процесс биологической инвазии, поскольку вселенцы с юга оказываются лучше приспособлены к новым условиям, чем аборигенные виды. При потеплении экосистемы становятся более уязвимыми из-за роста первичной продукции и вследствие этого появления дополнительного пищевого ресурса и из-за снижения роли аборигенных видов, так как многие из них испытывают дискомфорт. Виды-вселенцы из более тёплых климатических зон получают конкурентное преимущество (рис. 3).

В качестве примера влияния изменения климата на инвазионный процесс можно привести ситуацию с вселенцами-гидробионтами после образования северного водного инвазионного коридора в бассейне Волги и других рек во второй половине XX в. В первые годы после гидростроительства в европейской части СССР (каналы,

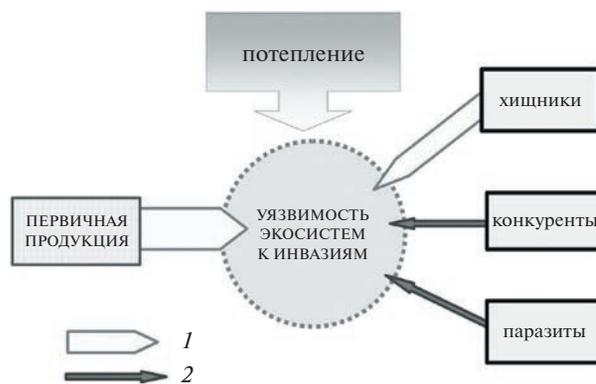


Рис. 3. Схема биологического регулирования уязвимости экосистем к инвазиям при потеплении климата: 1 – фактор, повышающий уязвимость экосистем, 2 – фактор, понижающий уязвимость экосистем [10]

связывающие бассейны разных рек, формирование водохранилищ) в 1940–1970-е годы в бассейне Волги во всех группах гидробионтов (водные растения, зоопланктон, бентос, рыбы) преобладали виды, вселившиеся из северных водоёмов, а позднее, когда началось глобальное потепление (1980–2000), большая часть вселенцев была представлена южными видами [4, 11]. Расширение ареалов южных видов на север наблюдается и для многих наземных видов. Одним из примеров инвазии, в значительной степени стимулируемой глобальным потеплением, является расширение ареала кабана *Sus scrofa* (рис. 4).

Влияние биологических инвазий на аборигенные виды и экосистемы. В настоящее время накоплен большой материал относительно влияния видов-вселенцев на местную флору и фауну и их инвазионного ареала. Появление чужеродных видов за-

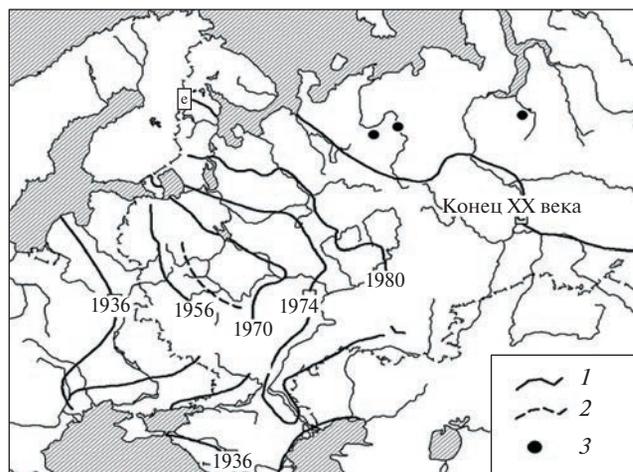


Рис. 4. Продвижение на северо-восток ареала кабана *Sus scrofa*: 1–2 – границы ареала, 3 – единичные находки [11]

частую приводит к изменению биоразнообразия, структуры и функций экосистем. Перечислю основные формы воздействия:

- виды-вселенцы могут существенно изменять местообитания аборигенных видов (особенно когда новые живые организмы являются видами-эдификаторами – ключевыми видами экосистемы);
- виды-вселенцы могут становиться конкурентами аборигенных видов, снижать их численность до полного вытеснения;
- виды-вселенцы могут стать хищниками по отношению к аборигенной фауне и также вытеснять её;
- виды-вселенцы могут переносить или вызывать болезни, а также быть паразитами аборигенных видов.

Примером инвазии ключевого вида является вселение гребневика *Mnemiopsis leidyi* в Чёрное море. Это небольшое (10–12 см) желтелое беспозвоночное животное в начале 1980-х годов проникло (предположительно с балластными водами) в Азово-Черноморский бассейн. Его родина – североамериканский континент. Довольно быстро, к концу 1980-х годов, мнемииопсис достиг гигантской численности. Биомасса его в пробах составляла до 12–13 кг на 1 м³ воды. Мнемииопсис потребляет беспозвоночных планктонов и икhtiопланктон. После его вселения наблюдалось уменьшение прозрачности воды (в прибрежье до 4–6 м, в открытых участках до 6–10 м) из-за слизи, выделяемой гребневиком как при жизни, так и при отмирании; в местах концентрации мнемииопсиса снижается содержание кислорода, кремнекислоты, рН и повышается содержание минерального фосфора, аммония, нитратов и нитритов, уменьшается соотношение Si:N и Si:P, что ведёт к эвтрофированию. Гребневик повлиял практически на все компоненты пищевой сети – от первичных продуцентов, бактериальной петли до рыб и дельфинов [12].

Другими ключевыми видами, которые часто выступают в роли чужеродных, являются речной (обыкновенный) (*Castor fiber*) и канадский (*C. canadensis*) бобры. Их строительная деятельность (норы, плотины, пруды и каналы на малых реках) и потребление древесной околотовной растительности существенно меняют местообитания и приводят к серьёзным трансформациям пищевых сетей и колебаниям скоростей сукцессий в водных и околотовных экосистемах [13–16].

Генетические и эволюционные аспекты инвазий чужеродных видов. Поскольку в новый регион попадает только небольшая часть популяции вида-вселенца, при инвазии наблюдаются изменения её генетической структуры. Обычно изменяются такие параметры, как частота редких аллелей, количество гаплотипов, доля полиморфных локу-

сов, средняя гетерозиготность. Всё это сказывается на ходе инвазионного процесса, а при определённых условиях может приводить к формообразованию. Часто при попадании в регион-реципиент, в случае различий в условиях обитания, вид-вселенец претерпевает преадаптацию, при которой происходит отбор наследуемых признаков. Случаи преадаптации описаны, в частности, для видов гидробионтов, которые при инвазии проникают в водоёмы с другими условиями температуры и солёности. Например, у черноморско-каспийской тюльки *Clupeonella cultriventris* при её инвазии из Азово-Черноморского бассейна в водохранилища Волги постепенно менялась частота аллелей мышечной лактатдегидрогеназы. Доля свойственной для морских популяций аллели, отвечающей за высокую теплоустойчивость и способность переносить более высокие концентрации неорганических ионов и мочевины, в пресноводных популяциях (инвазионный ареал) существенно снижается. Меняется и ферментативная активность отдельных локусов [17]. Схожее явление наблюдалось при инвазии в бассейн Волги двустворчатого моллюска дрейссены *Dreissena polymorpha* [18].

Важное генетическое и эволюционное последствие инвазий чужеродных видов – гибридизация видов-вселенцев с аборигенными видами. При этом происходит не только стимуляция инвазионного процесса, но и образование новых форм организмов, создаются новые генотипы, и высокая генетическая изменчивость позволяет гибридам выживать при широком диапазоне условий. Ярким примером роли гибридизации в инвазиях является случай с двумя видами бесхвостых амфибий Северной Америки – равнинного лопатонога *Spea bombifrons* (северный вид) и мексиканского лопатонога *S. multiplicata* (южный вид). При инвазии равнинного лопатонога на юг расширение ареала в направлении непривычных местообитаний привело к высокой генетической дифференциации, низкому конспецифическому потоку генов¹ и эффекту бутылочного горлышка (сокращение генетического разнообразия). Гибридизация же с аборигенным видом *S. multiplicata* привнесла генетическое разнообразие и способствовала освоению новых для вселенца местообитаний [19].

Воздействие видов-вселенцев на безопасность и здоровье людей. Многочисленные исследования в разных регионах мира показали, что основные угрозы жизни и здоровью людей в связи с инвазиями сводятся к следующему:

- виды-вселенцы вызывают заболевания людей, являясь патогенами или паразитами, резервуарами или переносчиками патогенов;

¹ То есть генов, свойственных только для вида-вселенца.

- могут возникать раны от укусов и ожогов;
- некоторые вселенцы выделяют аллергены и токсические вещества;
- новые виды могут способствовать травмам, психическим заболеваниям и даже смерти людей через другие механизмы;
- в некоторых регионах появление вселенцев приводит к голоду из-за потерь в урожае, болезней и гибели скота, сокращения водных, лесных и охотничьих ресурсов.

За последние 100 лет появилось около 20 новых опасных и чрезвычайно опасных вирусных инфекций человека и животных, распространение которых по планете фактически является частью инвазионного процесса. Значительное число таких заболеваний имеет своим источником Африканский континент. Речь идёт о СПИДе, лихорадке западного Нила, африканской чуме свиней, лихорадке Зика, лихорадке Ласса, геморрагической лихорадке Эбола. Из Азии, кроме чумы и холеры в прошлом, по всему миру распространились птичий грипп и COVID-19. В подавляющем большинстве случаев резервуарами и переносчиками этих болезней являются животные. Совершенно очевидно, что борьба с такими заболеваниями должна вестись с применением подходов инвазионной биологии и начинаться с анализа ведущих факторов и хода инвазионного процесса.

Воздействие чужеродных видов на социальную сферу и экономику. По всему миру инвазии чужеродных видов наносят ущерб человечеству. Они оказывают негативное влияние на:

- природные биологические ресурсы (рыбное, лесное и охотничье хозяйство);
- сельское хозяйство (растениеводство, животноводство);
- рекреацию и туризм;
- энергетику (повреждение сооружений);
- водное и коммунальное хозяйство;
- здравоохранение;
- охрану природы (биоразнообразии, редкие и исчезающие виды и экосистемы);
- контроль чужеродных видов;
- занятость населения;
- доходы и потребление пищи населением.

Биологические инвазии чужеродных видов влекут за собой существенное изменение природного биоразнообразия, а также большие экономические потери для общества и денежные затраты, связанные с управлением инвазиями. База данных InvaCost позволила подсчитать денежные издержки из-за биологических инвазий по всему миру: общая сумма ущерба от инвазий чужеродных видов за 1970–2017 гг. достигла минимум 1.288 трлн долл. США при среднегодовых затра-

тах в размере 26.8 млрд долл., а максимальные среднегодовые расходы могут достичь 162.7 млрд долл. [20]. Величина ущерба от биологических инвазий для России, оценённая по той же базе данных, в 2007–2019 гг. составила как минимум 51.52 млрд долл. (1.38 трлн руб.) [21]. Следует учитывать, что по многим регионам мира нет достоверных количественных оценок ущерба, наносимого видами-вселенцами.

Прогнозирование и управление инвазионным процессом. Для прогнозирования инвазионного процесса особое значение имеет анализ рисков, то есть установление вероятности инвазий и их характеристик, оценка величины риска, разработка мер его смягчения. Важный итог этой работы – обеспечение прогнозной информацией лиц, принимающих решения. Основой для анализа риска является подробное рассмотрение всех перечисленных выше факторов, определяющих вероятность вселения чужеродного вида. Например, при оценке адаптивных возможностей вида-вселенца важно знать особенности биологии успешных вселенцев: размеры и особенности морфологии организмов, наличие покоящихся стадий, широту нормы реакции на абиотические факторы среды, особенности воспроизводства, для животных – их способность совершать дальние миграции. При прогнозировании инвазий для региона-донора необходимо располагать информацией о наличии факторов, способствующих саморасселению живых организмов: созданных людьми инвазионных коридорах и новых местобитаниях (дороги, каналы, тоннели, водохранилища, урбанизированные ландшафты), а также об источниках саморасселения (объекты агро- и аквакультуры, ботанические сады, парки).

В последнее время в прогнозировании инвазий большое развитие получили методы математического моделирования. Особенно перспективным представляется прогнозирование на основе анализа современных и древних ареалов с учётом прошлых и будущих климатических изменений [22]. Особое значение в установлении рисков инвазий и их прогноза имеют информационные системы – составление перечней успешных вселенцев и соответствующих баз данных.

Управление инвазионным процессом предполагает прежде всего предупреждение вселения новых видов, раннее его выявление, уничтожение видов-вселенцев, сдерживание их распространения, мониторинг ситуации. Доказано, что наиболее эффективный с экономической точки зрения метод – предотвращение инвазий вредных чужеродных видов. Следует иметь в виду, что часто инвазии необратимы – вселившейся и натурализовавшийся вид невозможно уничтожить. Предотвращение первого вселения особенно важно там, где скорость натурализации и распространения

чужеродных видов высока. Причём действия должны быть направлены на все звенья и этапы инвазионного процесса. Превентивные меры включают законодательные акты и предписания по ограничению интродукции и транспорта вредных чужеродных видов, анализ риска, пограничный и карантинный контроль.

Если вид-вселенец уже натурализовался, то уничтожить его очень сложно, если вообще возможно, и это обычно требует больших затрат. Например, в случае проникновения чужеродного растения, возможно его уничтожение, если оно занимает площадь менее 1 га; при площади от 1 до 100 га успех достигается лишь иногда, а свыше 100 га – очень редко [23].

Предлагаются следующие меры по предотвращению распространения чужеродных видов: механический контроль (кошение растений, отстрел и отлов животных), химический контроль (применение пестицидов и гербицидов), биологический контроль, меры в отношении среды обитания (восстановление нарушенных местообитаний и снижение поступления в экосистемы дополнительных пищевых ресурсов, что делает их более уязвимыми для инвазий), интегрированный подход, включающий все вышеперечисленные меры [24]. В качестве биологического контроля практикуются вселение и размножение врагов вселенца и генетические методы. Последние получили развитие с середины прошлого века, первоначально они были нацелены на насекомых-вредителей и основывались главным образом на выпуске в контролируемые популяции стерильных самцов [25]. Позднее с вселенцами стали бороться путём нарушения полового состава популяции при внедрении особей, несущих “тройную” Y-хромосому, использования самцов с неполноценными сперматозоидами, изменения генофонда для индукции устойчивости у ценного вида-хозяина, скажем, зернового растения [26], выпуска генномодифицированных самцов, несущих доминантную леталь (применяется в борьбе с инвазионным комаром *Aedes aegypti*, переносчиком вирусов Зика и жёлтой лихорадки [25]).

НАУЧНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ИНВАЗИЙ ЧУЖЕРОДНЫХ ВИДОВ В РОССИИ

Российскими биологами проблема чужеродных видов в современном её понимании интенсивно обсуждается и разрабатывается сравнительно недавно, с 1990-х годов. Именно эти годы ознаменовались интенсификацией инвазионного процесса в России. Инициаторами таких исследований стали институты Отделения биологических наук РАН.

Важный итог последних лет – выявление основных транзитных путей инвазионного процесса. Наибольшие успехи достигнуты в определении путей проникновения в Россию сорных растений, насекомых-вредителей и гидробионтов. Увеличилось число публикаций, посвящённых обнаружению чужеродных видов в пределах нашей страны, особенностям их образа жизни, воздействию на аборигенные виды и экосистемы. Предприняты шаги по инвентаризации чужеродных видов России с представлением результатов в доступной для исследователей и регулирующих организаций форме. Созданы базы данных по основным группам организмов и регионам. Из общедоступных интернет-ресурсов по проблеме чужеродных видов следует отметить проблемно ориентированный портал “Чужеродные виды на территории России” (<https://www.sevin.ru/invasive/>). Материалы по инвазиям в РФ представлены в Международной базе данных по биоразнообразию GBIF (<https://www.gbif.org/>).

Большую роль в развитии исследований по биологическим инвазиям чужеродных видов сыграли всероссийские и международные конференции, организованные в последние годы. Один из таких форумов – симпозиум “Чужеродные виды в Голарктике”, единственное международное мероприятие, посвящённое чужеродным видам, которое регулярно проводится в России и охватывает исследования по этой актуальной проблеме на значительной части Земного шара. Первый такой симпозиум был организован в 2001 г., последний, шестой, в 2021 г.

С 2008 г. издаётся электронный “Российский журнал биологических инвазий” (в открытом доступе на сайте: <http://www.sevin.ru/invasjour/>), с 2010 г. он выходит и на английском языке, распространяется издательством “Springer”. Журнал включён во все ведущие международные базы данных. С 2007 г. начата публикация монографических изданий серии “Чужеродные виды России”, к настоящему времени вышли в свет 12 книг. Они посвящены отдельным видам-вселенцам или целым группам чужеродных организмов, натурализовавшимся в России: растениям, млекопитающим, растительноядным насекомым. Понимая важность выбора видов-мишеней (особенно опасных), приоритетных для исследования и контроля, в 2018 г. была опубликована книга “Самые опасные инвазионные виды России (ТОП-100)” [27]. Это издание занимает особое место в данной серии, так как знаменует определённый этап в исследованиях инвазионного процесса в стране.

Предпринимаются шаги по подготовке соответствующих специалистов. На биологическом факультете Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова создан и препода-

даётся курс “Биологические инвазии чужеродных видов” (лекции и семинары).

Основные перспективы исследований биологических инвазий чужеродных видов видятся в решении следующих основных задач:

- разработка научных основ и ведение мониторинга инвазионного процесса (выявление новых вселений, инвазионных коридоров и векторов, публикация и размещение этой информации в базах данных);
- исследование биологических характеристик успешных и потенциальных видов-вселенцев;
- изучение процессов, определяющих уязвимость экосистем к новым инвазиям при колебаниях абиотических факторов;
- развитие системы оценки риска и разработка мер контроля инвазионного процесса;
- исследование экологических, генетических и эволюционных последствий биологических инвазий.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках Программы развития Междисциплинарной научно-образовательной школы МГУ им. М.В. Ломоносова “Будущее планеты и глобальные изменения окружающей среды” и поддержана средствами государственного бюджета по государственному заданию ИПЭЭ РАН № 0109-2018-0076.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Шиганова Т.А.* Чужеродные виды в экосистемах южных морей Евразии. Автореф. ... докт. дисс. М.: ИПЭЭ РАН, 2009.
2. *Адрианов А.В.* Экологическая безопасность дальневосточных морей России // Вестник РАН. 2011. № 2. С. 111–121.
3. *Слынько Ю.В., Дгебуадзе Ю.Ю., Новицкий Р.А., Христов О.А.* Инвазии чужеродных рыб в бассейнах крупнейших рек понто-каспийского бассейна: состав, векторы, инвазионные пути и темпы // Рос. журн. биол. инвазий. 2010. № 4. С. 74–89.
4. DAISIE Handbook of alien species in Europe. Springer, Dordrecht, 2009.
5. *Каримова Т.Ю., Неронов В.М.* Природные очаги чумы. М.: Наука, 2007.
6. *Hanno S., Bacher S., Blackburn T.M. et al.* Projecting the continental accumulation of alien species through to 2050 // Glob Change Biol. 2021.27. P. 970–982. <https://doi.org/10.1111/gcb.15333>
7. *Elton C.S.* The ecology of invasions by animals and plants. London: Methuen, 1958.
8. *Элтон Ч.* Экология нашествий животных и растений. М.: Инстр. литер., 1960.
9. *Каревич А.Ф.* Теория и практика акклиматизации водных организмов. М.: Пищевая пром-сть, 1975.
10. *Дгебуадзе Ю.Ю.* Глобальные изменения климата и инвазии чужеродных видов // Изменение климата и биоразнообразии России / Под. ред. Д.С. Павлова, В.М. Захарова. М.: Акрополь, 2007. С. 8–16. ISBN 978-5-98807-012-2
11. *Бобров В.В., Варшавский А.А., Хляп Л.А.* Чужеродные виды млекопитающих в экосистемах России. М.: Т-во научных изданий КМК, 2008.
12. *Shiganova T.A., Sommer U., Javidpour J. et al.* Patterns of invasive ctenophore *Mnemiopsis leidyi* distribution and variability in different recipient environments of the Eurasian seas: a review // Marine Environmental Research 2019. 152: 104791. doi.org/. 2019.104791 <https://doi.org/10.1016/j.marenvres>
13. *Schlosser I.J.* Dispersal, boundary processes and trophic level interactions in streams adjacent to beaver ponds // Ecology. 1995. № 76. P. 908–925.
14. *Завьялов Н.А.* Средообразующая роль обыкновенного бобра (*Castor fiber* L.) в европейской части России // Тр. Гос. природного заповедника “Рдейский”. Вып. 3. Вел. Новгород, 2015.
15. *Bashinskiy I.V.* Beavers in lakes: a review of their ecosystem impact // Aquat Ecol. 2020. № 54. P. 1097–1120. <https://doi.org/10.1007/s10452-020-09796-4>
16. *Dgebuadze Y.Y., Bashinskiy I.V., Osipov V.V.* The influence of Eurasian beaver *Castor fiber* activity on fish assemblages in small steppe rivers in Russia // Environ Biol. Fish. 2021. № 104. P. 689–700. <https://doi.org/10.1007/s10641-021-01103-w>
17. *Карабанов Д.П.* Генетико-биохимические адаптации черноморско-каспийской тюльки *Clupeonella cultriventris* (Nordmann, 1840) при расширении ареала. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. М.: ИПЭЭ РАН, 2009.
18. *Voroshilova I.S., Artamonova V.S., Yakovlev V.N.* The Origin of Populations of *Dreissena Polymorpha* Near the North-Eastern Boundary of Its Distribution Area // Mussels: Anatomy, Habitat and Environmental Impact / Ed. L.E. McGevin. Nova Science Publishers, Inc., 2011. P. 453–468. ISBN 978-1-61761-763-8
19. *Pierce A.A., Gutierrez R., Rice A.M., Pfennig K.S.* Genetic variation during range expansion: effects of habitat novelty and hybridization // Proc. R. Soc. 2017. B 284: 20170007. <https://doi.org/10.1098/rspb.2017.0007>
20. *Christophe D., Leroy B., Vaissire A.Ch., Gozlan R.E. et al.* High and rising economic costs of biological invasions worldwide // Nature. 2021. V. 592. P. 571–585.
21. *Kirichenko N., Haubrock P.J., Cuthbert R.N. et al.* Economic costs of biological invasions in terrestrial ecosystems in Russia // Zenni R.D., McDermott S., García-Berthou E., Essl F. (Eds). The economic costs of biological invasions around the world // NeoBiota. 2021. № 67. P. 103–130. <https://doi.org/10.3897/neobiota.67.58529>
22. *Tang Cindy Q., Matsui Tetsuya, Ohashi Haruka et al.* Identifying long-term stable refugia for relict plant species in East Asia // Nature communications. 2018. V. 9. № 1 (2018). 9:4488 <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06837-3> www.nature.com/naturecommunications
23. *Rejmanek M., Pitcairn M.J.* When is eradication of exotic plant pests a realistic goal? // C.R Veitch and

- M.N. Clout, ed. Turning the tide: the eradication of invasive species. IUCN, Gland, Switzerland, 2002. P. 249–253.
24. Wittenberg R., Cock M.J.W. Best practices for the prevention and management of invasive alien species // H.A. Mooney, R.N. Mack, J.A. McNeely, L.E. Neville, P.J. Schei, J.K. Waage, ed. SCOPE 63. Invasive alien species: a new synthesis. Washington DC.: Island Press, 2005. P. 209–232.
25. Викторов А.Г. Генетические методы борьбы с вредными насекомыми. История и современное состояние // Рос. журн. биол. инвазий. 2021. № 1. С. 51–63. <https://doi.org/10.35885/1996-1499-2021-14-1-51-63>
26. Махров А.А., Карабанов Д.П., Кодухова Ю.В. Генетические методы борьбы с чужеродными видами // Рос. журн. биол. инвазий. 2014. № 2. С. 110–125.
27. Самые опасные инвазионные виды России (ТОП-100) / Под. ред. Дгебуадзе Ю.Ю., Петросян В.Г., Хляп Л.А. М.: Т-во научных изданий КМК, 2018. <http://naukamedia.ru/news/kniga-samyе-opasnyе-invazionnyе-vidy-rossii-top-100/>

BIOLOGICAL INVASIONS OF ALIEN SPECIES – A GLOBAL CHALLENGE IN THE LAST DECADES

Yu. Yu. Dgebuadze^{1,2,#}

¹*Severtsov Institute of Ecology and Evolution of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

²*Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

[#]*E-mail: yudgeb@gmail.com, yudgeb@yandex.ru*

Biological invasions of alien species – the occupation by living organisms of territories and water areas outside their historical range – have now acquired a gigantic scale, affecting all countries and continents. The recent trends in the development of the invasive process indicate its significant intensification. The proposed review provides information on the scale of biological invasions on Earth, history, current state and main directions of scientific research in this area. In particular, the factors that determine the possibility of invasion of an alien species are considered; stages of the invasive process; ecological, genetic and evolutionary consequences of invasions for natural ecosystems; the impact of invasive species on human safety and health and the social and economic sectors; approaches to forecasting and control of the invasive process.

Keywords: invasion, alien species, invasive species, naturalization, introduction.

ГЕН *TAG7* И ЕГО ПРОДУКТ БЕЛОК TAG7: ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В МЕДИЦИНЕ

© 2023 г. Д. В. Яшин^{а,*}, Л. П. Сашченко^{а,**}, Г. П. Георгиев^{а,***}

^аИнститут биологии гена РАН, Москва, Россия

*E-mail: yashin_co@mail.ru

**E-mail: sashchenko@genebiology.ru

***E-mail: georgiev@genebiology.ru

Поступила в редакцию 22.07.2023 г.

После доработки 11.08.2023 г.

Принята к публикации 16.08.2023 г.

В статье рассматриваются свойства, а также возможности медицинского применения гена *tag7* и белка Tag7, открытых в Институте биологии гена РАН. Tag7 — многофункциональный белок, обладающий противоопухолевым и противовоспалительным действием. Его взаимодействие с рецептором TREM-1 на моноцитах приводит к появлению лимфоцитов, убивающих опухолевые клетки. Tag7-Hsp70-комплекс связывается с рецептором TNFR1, вызывая гибель клеток ряда опухолей в процессе апоптоза и некроптоза. Комплекс Tag7-Mts1 взаимодействует с рецептором CCR5 и привлекает к опухоли цитотоксические лимфоциты. Взаимодействие самого Tag7 с рецепторами TNFR1 и TREM-1 препятствует связыванию других лигандов с этим рецептором, что инициирует противовоспалительный эффект. В составе Tag7 выявлены пептиды, имитирующие разные проявления его активности. Полученные результаты позволяют рассчитывать на возможное применение белка Tag7 в лечении онкологических и аутоиммунных заболеваний.

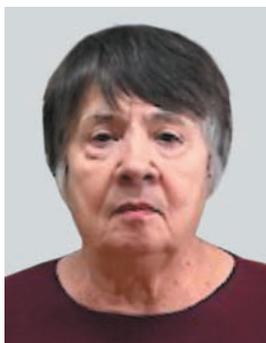
Ключевые слова: Tag7, Hsp70, Mts1, противоопухолевая активность, противовоспалительная активность.

DOI: 10.31857/S086958732309013X, **EDN:** BBQGDN

Ген *tag7* и кодируемый им белок Tag7 были открыты в Институте биологии гена РАН, и там же установлена их противоопухолевая активность [1, 2]. Первоначально *tag7* был проклонирован как ген, активно экспрессирующийся в опухолевой линии VMR-Liv с высоким уровнем метастазирования [1]. Однако оказалось, что это исключение, *tag 7* вообще не экспрессируется почти ни в одной

опухоли. Более того, белок Tag7 обладает сильной противоопухолевой активностью [3, 4].

Позднее тот же ген был описан западными авторами под названием peptidoglycan recognizing protein (PGRP или PGLYRP1) [5]. (Эти названия неудачны. Первое из них — лабораторное обозначение гена. Второе даёт представление лишь об одном свойстве белка.) Далее работы развивались



ЯШИН Денис Владимирович — доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммуногенетики рака ИБГ РАН. **САЩЕНКО** Лидия Павловна — доктор биологических наук, заведующая лабораторией молекулярной иммуногенетики рака ИБГ РАН. **ГЕОРГИЕВ** Георгий Павлович — академик РАН, научный руководитель ИБГ РАН.

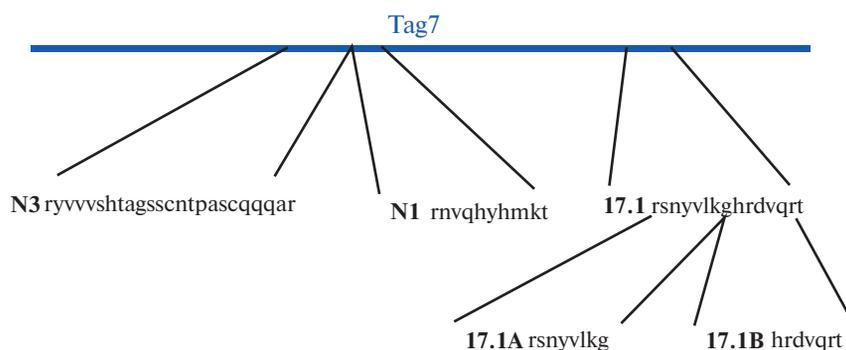


Рис. 1. Пептиды Tag7

в двух направлениях. На Западе они были сосредоточены на изучении роли белка PGRP во врожденном иммунитете. Исследователи продемонстрировали антибактериальную активность белка Tag7 [6, 7].

В ИБГ удалось установить роль белка Tag7 в противоопухолевой защите, поэтому работы сконцентрировались на выяснении механизма действия Tag7 и использовании его в терапевтических целях. Было показано, что трансфекция опухолевых клеток конструкцией, обеспечивающей синтез белка Tag7, приводит к подавлению опухолевого роста, а часто и к полному рассасыванию опухоли. Из первых работ по противоопухолевому действию Tag7 следовало, что этот белок, во-первых, вызывает инфильтрацию опухоли Т-лимфоцитами и, во-вторых, обладает цитотоксичностью по отношению к ряду опухолей [8].

Последнее положение базировалось на том факте, что среда после инкубации лимфоцитов человека и опухолевых клеток K562 обладает цитотоксичностью по отношению ко многим типам опухолевых клеток, а антитела к Tag7 полностью её подавляют [9]. Позднее выяснилось, что рекомбинантный Tag7 цитотоксичностью не обладает [5]. Последнюю определяет его комплекс с основным белком теплового шока Hsp70 [9]. Возникает вопрос о механизме действия Tag7. Каким образом осуществляется привлечение к опухоли Т-лимфоцитов и почему Tag7-Hsp70 проявляет цитотоксичность? Прежде всего предстояло выяснить, с какими рецепторами взаимодействуют Tag7 и Tag7-Hsp70. Оказалось, что Tag7 связывается с двумя клеточными рецепторами – TNFR1 [10] и TREM-1 [11].

Взаимодействие Tag7 с рецептором TNFR1, основным специфическим рецептором для важного и хорошо изученного цитокина – фактора некроза опухолей TNF [12]. Последний играет ключевую роль в развитии иммунной системы и в иммунном ответе. Как следует из названия, TNF способен также вызывать гибель опухолевых клеток. В зависимости от типа клеток связывание

TNF с рецептором TNFR1 может приводить к различным исходам: к активации генов, находящихся под контролем транскрипционного фактора NFκB, или к гибели клетки [13]. Активация указанных генов определяет пролиферацию клеток иммунной системы и провоспалительный иммунный ответ [14]. Вторым наиболее вероятным процессом, протекающим после взаимодействия TNF со своим рецептором, является клеточная смерть [14]. В частности, он способен вызывать гибель опухолевых клеток по одному из двух механизмов программируемой клеточной смерти – апоптозу или некроптозу [14].

Апоптоз служит основным механизмом избавления организма от ненужных клеток. Он происходит в короткие сроки, неиммуногенен и ассоциирован с активацией семейства сериновых протеаз – каспаз. В случае нарушения проведения сигнала в этой цепи включается запасной механизм программируемой клеточной смерти – некроптоз. Фенотип некроптоза близок к фенотипу неспецифической гибели клетки под действием неблагоприятных внешних факторов – некрозу. Некроптоз специфически запускается семейством киназ RIP. Он развивается в течение более длительного времени, чем апоптоз, и иммуногенен [15].

С рецептором TNFR1 может связываться и Tag7, и комплекс Tag7-Hsp70 [10]. При этом свободный Tag7 способен подавлять взаимодействие TNFR1 со всеми своими другими лигандами, прежде всего с TNF. Поэтому он может выступать в роли противовоспалительного агента [10]. Иными словами, выявилась ещё одна потенциальная функция Tag7.

Дальнейшие исследования позволили локализовать участок белка Tag7, ответственный за связывание с рецептором и синтезировать короткий пептид 17.1 (рис. 1), который способен связываться с TNFR1, предотвращая его связывание и активацию другими лигандами, в том числе TNF [16]. Можно было ожидать, что и Tag7, и пептид 17.1 будут проявлять противовоспалительную ак-

тивность, так как они подавляют взаимодействие основного провоспалительного цитокина TNF с рецептором клеток. Действительно, в опытах на мышах, у которых был индуцирован аутоиммунный артрит, внутривенное введение пептида 17.1 вело к значимому снижению разрушения хрящевой и костной ткани, характерного для данного заболевания. Также на модели вызванного с помощью липополисахарида (LPS) сепсиса мышей при введении пептида 17.1 происходило существенное увеличение выживаемости [16]. Таким образом, противовоспалительное действие пептида 17.1 проявлялось в опытах *in vivo*.

Как указывалось выше, с рецептором TNFR1 может взаимодействовать комплекс Tag7 с Hsp70. Это белок шаперон, обладающий сильным протективным действием, защищающим клетки от стрессов разного типа, что существенно и для защиты опухолевых клеток, которые большую часть своей жизни находятся в стрессовых условиях гипоксии, недостатка питательных веществ и противоопухолевого иммунного ответа. Белок Hsp70 помогает им выживать, служа защитником [17]. Однако при взаимодействии Hsp70 с Tag7 образуется комплекс, который сохраняет способность белка Tag7 связываться с рецептором TNFR1, но при этом приобретает новую функцию. Tag7-Hsp70 сам активирует этот рецептор, но эта активация приводит к программируемой смерти клеток [10].

Рецептор TNFR1 есть у многих опухолевых клеток. Инкубация ряда типов таких клеток с комплексом Tag7-Hsp70 приводит к их гибели в процессе апоптоза и некроптоза. Интересно, что хотя у многих опухолевых клеток имеются механизмы, препятствующие активации каспаз и апоптозу, некроптоз как запасной путь программируемой клеточной смерти у них исправно работает [18].

Инъекция комплекса Tag7-Hsp70 мышам с меланомой привела к двукратному увеличению продолжительности жизни экспериментальных животных по сравнению с контролем [19]. В итоге противоопухолевый эффект комплекса был продемонстрирован не только *in vitro*, но и *in vivo*.

Взаимодействие пептида 17.1 с Hsp70 происходит аналогично взаимодействию с последним полноразмерного белка Tag7. Результирующий комплекс 17.1-Hsp70 может активировать TNFR1-рецептор и убивать опухолевые клетки, чувствительные к Tag7-Hsp70-комплексу [16].

Возникает вопрос, возможно ли разделить функции белка Tag7 и выявить его фрагменты, способные выполнять только один вид активности? Оказалось, что можно выделить два пептида, входящие в состав 17.1 и выполняющие разные функции. Один из них, пептид 17.1A, способен с высокой афинностью связываться с рецептором

и предотвращать связывание с TNFR1 всех остальных его лигандов, включая TNF [23]. При этом пептид 17.1A не связывается с Hsp70. Он так же, как и 17.1, предотвращает разрушение хрящевой и костной ткани при аутоиммунном артрите у мышей и снижает смертность при сепсисе [20].

В то же время другой фрагмент пептида 17.1 – пептид 17.1B, хотя и сохраняет способность взаимодействовать с TNFR1, но афинность такого взаимодействия слишком низкая для того, чтобы предотвратить связывание других лигандов с рецептором. Однако пептид 17.1B сохранил способность эффективно связываться с Hsp70 и образовывать комплекс 17.1B-Hsp70, который обладает противоопухолевой активностью (неопубликованные данные).

Нам удалось разделить виды активности белка Tag7 и выделить три пептида, способные выполнять различные функции полноразмерного белка. Пептид 17.1 полностью повторяет активность целого белка Tag7, вызывая блокирование рецептора TNFR1 и его активацию при образовании комплекса с белком Hsp70. Пептид 17.1A способен только блокировать рецептор, а пептид 17.1B только активировать данный рецептор при взаимодействии с Hsp70 (рис. 2).

Взаимодействие Tag7 с рецептором TREM-1. В ходе исследований воспалительного иммунного ответа был обнаружен новый рецептор, с которым способен взаимодействовать белок Tag7. Им оказался TREM-1. Этот рецептор расположен на клетках врождённого иммунитета, в основном на моноцитах [21]. Взаимодействие Tag7 с TREM-1 может приводить к усилению экспрессии провоспалительных цитокинов [11]. Для TREM-1 известно точно только два лиганда: белок Tag7 и ядерный белок HMGB-1, ещё несколько белков рассматриваются в качестве кандидатов на эту роль [21].

Мы показали, что Tag7, связываясь с рецептором TREM-1 на поверхности моноцитов, вызывает активацию этих клеток и секрецию ими в среду провоспалительных цитокинов IL-1b, IL-6 и TNF [22]. Экспрессия IL-1b и IL-6 на моноцитах человека под действием Tag7 возрастает в 25 и в 130 раз соответственно. Образование TNF возрастает незначительно, в 2 раза. Секреция провоспалительных цитокинов моноцитами приводит к активации других клеток.

Опыты велись путём добавления Tag7 к клеткам РВМС. Последние представляют собою мононуклеарные клетки периферической крови, инкубируемые *in vitro*. После добавления Tag7 клетки в РВМС на 4-е и 6-е сутки приобретают способность лизировать опухолевые клетки, лишённые комплекса гистосовместимости. За убийство опухолевых клеток отвечает несколько популяций лимфоцитов, образующихся в ответ

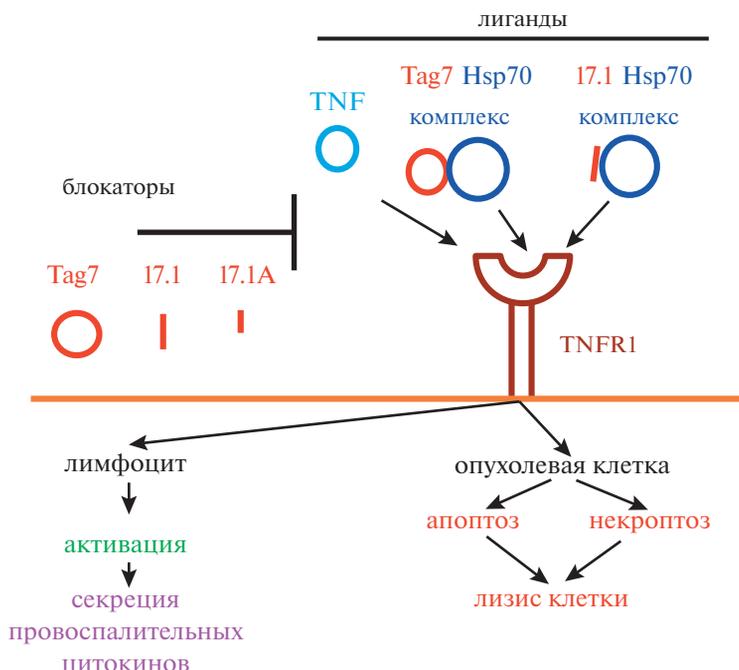


Рис. 2. Схема взаимодействия Tag7 и его пептидов с рецептором TNFR1. Лиганды TNF, Tag7-Hsp70-комплекс и 17.1-Hsp70-комплекс могут активировать рецептор. Блокаторы Tag7, 17.1 и 17.1A защищают рецептор от активации лигандами. В лимфоидных клетках основной механизм передачи сигнала активированным рецептором – секреция провоспалительных цитокинов. В опухолевых клетках чаще активируется программируемая клеточная смерть

на секрецию цитокинов моноцитами под действием Tag7. Все обладающие противоопухолевой активностью популяции лимфоцитов имеют общее свойство – способность распознавать опухолевые клетки с помощью активирующего рецептора NK-клеток, NKG2D [23]. Этот неклассический механизм распознавания раковых клеток позволяет субпопуляциям лимфоцитов бороться с опухолевыми клетками, зашедшими в своём развитии так далеко, что они избавились от комплекса гистосовместимости, необходимого для узнавания клеток при адаптивном иммунном ответе.

Всего в РВМС активируется три субпопуляции клеток, обладающих противоопухолевым эффектом. На 4-е сутки инкубации появляется субпопуляция цитотоксических NK-клеток. Они экспрессируют NKG2D-рецептор для распознавания опухолевых клеток, а лизис мишеней осуществляется с помощью гранзимов, специфических протеаз, проникающих внутрь клетки с помощью Hsp70, находящегося на поверхности опухолевых клеток [23].

Также на 4-е сутки появляются CD4+ Т-лимфоциты, которые тоже экспрессируют NKG2D-рецептор для распознавания опухолевых клеток. Лизис последних происходит в результате взаимодействия трансмембранного белка семейства Фактора некроза опухолей FasL (CD95L) с Fas-рецептором (CD95), что индуцирует программи-

руемую клеточную смерть путём апоптоза или некроптоза, осуществляющегося с участием RIP-киназы и клеточных органелл – лизосом и митохондрий [24]. Противоопухолевая цитотоксическая активность сохраняется у этой субпопуляции также и на 6-е сутки после добавления Tag7. Примерно каждый третий донор изначально обладает CD4+ Т-лимфоцитами такого типа, они составляют около 10% всех лимфоцитов крови [25]. На 6-е сутки активируется новая популяция – CD8+ Т-лимфоцитов, которая, так же как CD4+ Т-лимфоциты, обладает способностью распознавать опухолевые клетки с помощью рецептора NKG2D и лизировать их в процессе апоптоза и некроптоза, вызванного взаимодействием FasL–Fas [22].

Полученные данные позволяют заключить, что белок Tag7 может изменять пролиферацию клеток иммунной системы человека и вызывать появление новых субпопуляций цитотоксических лимфоцитов, обладающих противоопухолевой активностью.

Интересно, что данные цитотоксические популяции клеток появляются только в том случае, когда инкубация РВМС с Tag7 происходит в отсутствие опухолевого антигена. В присутствии мембранных белков опухолевых клеток под действием Tag7 также активируются лимфоциты в РВМС и появляются цитотоксические популя-

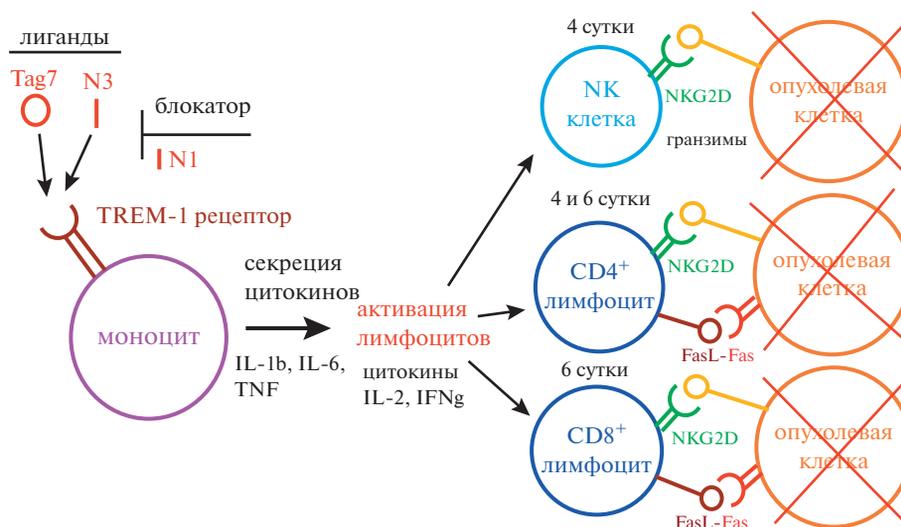


Рис. 3. Схема взаимодействия Tag7 и его пептидов с рецептором TREM-1. Tag7 и его пептид N3 могут активировать TREM-1 рецептор. Пептид N1 является блокатором связывания с рецептором. Взаимодействие лиганда с TREM-1-рецептором приводит к активации моноцитов, секреции ими провоспалительных цитокинов и последующей активации эффекторных противоопухолевых клеток – NK-клеток и CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов. Эффекторные клетки используют NKG2D рецептор для распознавания опухолевых клеток и гранзимы или FasL-Fas взаимодействия для их лизиса

ции клеток. Однако они становятся специфическими по отношению к опухолевым клеткам, поверхностные антигены которых использовались при активации, и перестают убивать опухолевые клетки, утратившие комплекс гистосовместимости [26]. Таким образом, в присутствии антигена опухолевых клеток Tag7 способен вызывать пролиферацию классических лимфоцитов адаптивного иммунитета, как CD4+, так и CD8+ субпопуляций. Иначе говоря, Tag7 может стимулировать и адаптивный клеточный иммунитет.

Далее мы исследовали, какие пептиды в составе Tag7 отвечают за его взаимодействие с рецептором TREM-1 (рис. 3). Были выявлены пептиды N3 и N1, способные связываться с TREM-1 [27]. Пептид N3 проявляет те же свойства, что и полноразмерный белок Tag7. Он взаимодействует с TREM-1 на поверхности моноцитов, вызывает их активацию и секрецию цитокинов, в итоге это приводит к появлению противоопухолевой популяции лимфоцитов в РВМС. Пептид N1 тоже связывается с рецептором TREM-1, но не активирует моноциты, а препятствует взаимодействию рецептора с другими лигандами, в частности, с полноразмерным белком Tag7. Предварительная инкубация пептида N1 с моноцитами полностью блокирует их способность активироваться под действием Tag7.

Поскольку активация TREM-1 связана с секрецией провоспалительных цитокинов, было проведено исследование действия ингибирующего пептида N1 на модели индуцированного аутоиммунного артрита у мышей [28]. Оказалось, что

внутривенное введение пептида N1 значительно снижает характерное для этого заболевания разрушение костной и хрящевой тканей, то есть обладает выраженным терапевтическим эффектом.

В ходе наших работ выявлена новая цитотоксическая популяция лимфоцитов, способная распознавать и убивать опухолевые клетки, несущие на своей поверхности Fas-рецептор и молекулу MtsA – лиганд для рецептора NKG2D. Эти обладающие противоопухолевой активностью лимфоциты появляются в составе РВМС человека после взаимодействия Tag7 с TREM-1-рецептором на поверхности моноцитов под действием секретированных моноцитами провоспалительных цитокинов.

Взаимодействие Tag7 и Mts1. Tag7 способен взаимодействовать с разными белками, что оказывает влияние на его активность. Так, мы обнаружили, что он может связываться с белком Mts1/S100A4, который входит в семейство S100 белков, секретируется метастазирующими опухолевыми клетками и служит сильным стимулятором метастазирования [29]. Mts1 конкурирует с Hsp70 за связывание с Tag7, разрушая цитотоксический Tag7-Hsp70-комплекс при высоких концентрациях, характерных для метастазирующих клеток, поэтому он, как правило, не обладает цитотоксичностью по отношению к клеткам метастазирующих опухолей [30].

Наряду с этим оказалось, что комплекс Tag7-Mts1 способен индуцировать хемотаксис, то есть направленные движение клеток иммунной системы по градиенту его концентрации [31]. В итоге

Tag7-Mts1 приобретает способность привлекать клетки иммунной системы к метастазирующим опухолям, приобретая дополнительную противоопухолевую активность.

Несмотря на то, что в структуре Tag7-Mts1–комплекса нет специфического мотива, характерного для остальных лигандов рецепторов хемокинов, он взаимодействует с рецептором хемокинов CCR5 [32]. Комплекс выступает в роли нового лиганда хемокинового рецептора CCR5, и, возможно, это определяет ещё одну функцию белка Tag7.

Противоопухолевые вакцины с использованием белка Tag7. Можно сделать вывод, что белок Tag7 многофункционален. При этом ряд видов его активности имеет противоопухолевую направленность, поэтому возникла идея его использования в терапевтических целях путём создания вакцин на базе модифицированных опухолевых клеток, продуцирующих белок Tag7.

Протокол включал следующие этапы: 1 – получение опухолевого материала при операции, 2 – приготовление клеточной культуры из полученных опухолевых клеток, 3 – трансфекция клеток конструкцией, содержащей ген *tag7* и обеспечивающей синтез белка Tag7 в клетках культуры, 4 – инактивация клеток рентгеновским облучением, 5 – подкожное введение тому же пациенту, от которого взят операционный материал (на первом этапе планировалось использование аутологических вакцин).

В опытах, проведённых на мышах с разными линиями меланомы, при использовании подобной технологии было показано, что для многих опухолевых линий удаётся добиться полного уничтожения опухоли у большинства животных. Условием успеха стало то, что вакцина готовилась из клеток той же линии, которая бралась для перевивки [8].

В Национальном медицинском исследовательском центре онкологии им. Н.Н. Петрова были проведены первая и вторая фазы клинических испытаний вакцин с участием больных с диагностированными меланомой или раком почек 3-й или 4-й стадии. Проводились многократные инъекции вакцины, на второй фазе испытаний – вплоть до 26 раз. На первой фазе испытаний, которую проводили с участием 21 пациента, была продемонстрирована полная безопасность вакцины и в ряде случаев частичное подавление опухолевого роста. Заметных эффектов не наблюдалось [8].

На второй фазе испытаний с участием 80 пациентов число инъекций было увеличено. 15-летние наблюдения за пролеченными больными показали существенно более высокую эффективность

терапии [33]. Выживаемость за три года составляла 25%. Спустя 5 лет были живы и находились в контакте с онкологами 12 человек. Прогрессии опухоли у них не наблюдалось. В течение 5–15 лет с ними постепенно утрачивался контакт, причём это не было связано с заболеванием. При последнем контакте признаки роста опухоли не были выявлены. Через 15 лет после проведения терапии контакт был утрачен с тремя последними пациентами. Их лечение начинали, когда им было от 33 до 40 лет.

Для дальнейшего анализа опухоли были разделены на три группы: 1-я группа – опухоли, не продуцирующие факторы подавления иммунитета (15 пациентов), 2-я – смешанная группа (53 пациента), 3-я – опухоли с активной продукцией иммунодепрессантов (12 больных). В 3-й группе больные погибали за 1–2 года. В 1-й группе выживаемость больных через 3, 5 и 10 лет составляла около 40%. Таким образом, разработанный метод вакцинотерапии при правильном подборе пациентов не уступал, а на 10-летнем отрезке даже превосходил лучшие результаты, полученные на Западе с использованием антител к PD1 или PDL1 [34].

Следует подчеркнуть, что при иммунотерапии сочетанное применение технологий с разным механизмом действия может давать сильный позитивный эффект. Действительно, введение дополнительных процедур существенно улучшает результаты терапии в опытах на животных. К сожалению, в связи с введением американских правил проведения испытаний все клинические испытания были приостановлены.

Подавление цитокинового шторма. Как было продемонстрировано выше, ряд пептидов белка врождённого иммунитета Tag7 обладает выраженными противовоспалительными свойствами. Пептиды 17.1 и 17.1A блокируют проведение сигнала через TNFR1-рецептор, а пептид N1 – через TREM-1-рецептор.

В связи с пандемией COVID-19 антицитокиновая противовоспалительная терапия привлекла повышенное внимание медицинских кругов. Оказалось, что вирус SARS-CoV-2 способен подавлять иммунный ответ больного до некоторого момента, а затем обнаружение вируса клетками иммунной системы приводит к чрезвычайно сильному иммунному ответу, известному в литературе как “цитокиновый шторм”. Этот механизм лежит в основе многих негативных эффектов вирусной инфекции [35].

В Институте биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН была разработана модель острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС), воспроизводящая процессы воспалительного ответа при

вирусной инфекции. Мы исследовали эффект введения пептидов 17.1, 17.1a и N1 на секрецию цитокинов после индукции ОРДС у мышей [36]. Эксперименты показали, что все три пептида снижают уровень провоспалительных цитокинов TNF, IL-6, IL-1b, а также ключевого цитокина для развития иммунного ответа IFN γ . Следовательно, они могут рассматриваться в качестве кандидатов на роль терапевтических агентов для уменьшения эффектов “цитокинового шторма” у больных COVID-19.

Аутоиммунные заболевания получают всё более широкое распространение, и их терапия становится важным направлением современной медицины. Как показано выше, Tag7 и его пептиды, блокирующие рецепторы TNFR1 и TREM-1, эффективны в подавлении провоспалительных процессов у животных, что позволяет рассчитывать на их использование в медицине [37].

* * *

Итак, в настоящее время уже очевидно, что Tag7 является многофункциональным белком. В нашей статье рассматривается только часть видов его активности, связанных с противоопухолевым и противовоспалительным действием.

Противоопухолевая активность может реализовываться разными путями. Взаимодействуя с рецептором TREM-1 на моноцитах, Tag7 запускает образование цитокинов IL-1b и IL-6, что, в свою очередь, ведёт к появлению нескольких субпопуляций Т-лимфоцитов, убивающих опухолевые клетки. В зависимости от типа последних формируются цитотоксические Т-лимфоциты, характерные для врождённого или адаптивного иммунитета. В комплексе с белком Hsp70 Tag7 связывается с рецептором TNFR1, вызывая гибель клеток ряда опухолей в процессе апоптоза и некроптоза. Наконец, комплекс Tag7 с Mts1 взаимодействует с рецептором CCR5 и выполняет функцию хемокина для привлечения к опухоли Т-лимфоцитов.

Взаимодействие самого Tag7 с рецепторами TNFR1 и TREM-1 препятствует связыванию других лигандов с этим рецептором, что вызывает противовоспалительный эффект. В составе Tag7 выявлены пептиды, позволяющие разделить различные активности Tag7. Пептиды 17.1A и N1 связываются с рецепторами TNFR1 и TREM-1 соответственно и вызывают сильный противовоспалительный эффект, пептид N3 работает как цитокин и индуцирует появление в РВМС противоопухолевых лимфоцитов, а пептид 17.1B взаимодействует с Hsp70 и вызывает программируемую смерть клеток ряда опухолей.

Полученные результаты позволяют рассчитывать на возможное применение белка Tag7 в

лечении онкологических и аутоиммунных заболеваний. Клинические испытания аутологических вакцин на базе опухолевых клеток, трансфицированных конструкциями, которые обеспечивают синтез клетками Tag7, дали обнадеживающие результаты.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Kustikova O.S., Kiselev S.L., Borodulina O.R. et al.* A.A. Cloning of the tag7 gene expressed in metastatic mouse tumors // *Genetika*. 1996. V. 32. P. 621–628.
2. *Kiselev S.L., Kustikova O.S., Korobko E.V. et al.* Molecular cloning and characterization of the mouse tag7 gene encoding a novel cytokine // *J. Biol. Chem.* 1998. V. 273. P. 18633–18639.
3. *Kiselev S.L., Larin S.S., Gnuchev N.V., Georgiev G.P.* tag7 Gene and gene therapy of cancer // *Genetika*. 2000. V. 36. P. 1431–1435.
4. *Moiseyenko V.M., Danilov A.O., Baldueva I.A. et al.* Phase I/II trial of gene therapy with autologous tumor cells modified with tag7/PGRP-S gene in patients with disseminated solid tumors: miscellaneous tumors // *Ann. Oncol.* 2005. V. 16. P. 162–168.
5. *Liu C., Gelius E., Liu G. et al.* Mammalian peptidoglycan recognition protein binds peptidoglycan with high affinity, is expressed in neutrophils, and inhibits bacterial growth // *J. Biol. Chem.* 2000. V. 275. P. 24490–24499.
6. *Kashyap D.R., Rompca A., Gaballa A. et al.* Peptidoglycan recognition proteins kill bacteria by inducing oxidative, thiol, and metal stress // *PLoS Pathog.* 2014. V. 10. e1004280.
7. *Dziarski R., Gupta D.* How innate immunity proteins kill bacteria and why they are not prone to resistance // *Curr. Genet.* 2018. V. 64. P. 125–129.
8. *Larin S.S., Korobko E.V., Kustikova O.S. et al.* Immunotherapy with autologous tumor cells engineered to secrete Tag7/PGRP, an innate immunity recognition molecule // *J. Gene Med.* 2004. V. 6. P. 798–808.
9. *Sashchenko L.P., Dukhanina E.A., Yashin D.V. et al.* Peptidoglycan recognition protein tag7 forms a cytotoxic complex with heat shock protein 70 in solution and in lymphocytes // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. P. 2117–2124.
10. *Yashin D.V., Ivanova O.K., Soshnikova N.V. et al.* Tag7 (PGLYRP1) in Complex with Hsp70 Induces Alternative Cytotoxic Processes in Tumor Cells via TNFR1 Receptor // *J. Biol. Chem.* 2015. V. 290. P. 21724–21731.
11. *Read C.B., Kuijper J.L., Hjorth S.A. et al.* Cutting Edge: identification of neutrophil PGLYRP1 as a ligand for TREM-1 // *J. Immunol.* 2015. V. 194. P. 1417–1421.
12. *Kitaura H., Marahleh A., Otori F. et al.* Role of the Interaction of Tumor Necrosis Factor- α and Tumor Necrosis Factor Receptors 1 and 2 in Bone-Related Cells // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. V. 23. P. 1481.

13. Liu X., Xie X., Ren Y. et al. The role of necroptosis in disease and treatment // *MedComm* (2020). 2021. V. 2. P. 730–755.
14. Gough P., Myles I.A. Tumor Necrosis Factor Receptors: Pleiotropic Signaling Complexes and Their Differential Effects // *Front. Immunol.* 2020. V. 11. Art. 585880.
15. Roberts J.Z., Crawford N., Longley D.B. The role of Ubiquitination in Apoptosis and Necroptosis // *Cell Death Differ.* 2022. V. 29. P. 272–284.
16. Romanova E.A., Sharapova T.N., Telegin G.B. et al. A 12-mer Peptide of Tag7 (PGLYRP1) Forms a Cytotoxic Complex with Hsp70 and Inhibits TNF-Alpha Induced Cell Death // *Cells.* 2020. V. 9. P. 488.
17. Hu C., Yang J., Qi Z. et al. Heat shock proteins: Biological functions, pathological roles, and therapeutic opportunities // *MedComm* (2020). 2022. V. 3. P. e161.
18. Yashin D.V., Ivanova O.K., Soshnikova N.V. et al. L.P. Tag7 (PGLYRP1) in Complex with Hsp70 Induces Alternative Cytotoxic Processes in Tumor Cells via TNFR1 Receptor // *J. Biol. Chem.* 2015. V. 290. P. 21724–21731.
19. Dukhanina E.A., Yashin D.V., Lukjanova T.I. et al. Administration of the cytotoxic complex Tag7-Hsp70 to mice with transplanted tumors inhibits tumor growth // *Dokl. Biol. Sci.* 2007. V. 414. P. 246–248.
20. Telegin G.B., Chernov A.S., Kazakov V.A. et al. A 8-mer Peptide of PGLYRP1/Tag7 Innate Immunity Protein Binds to TNFR1 Receptor and Inhibits TNF α -Induced Cytotoxic Effect and Inflammation // *Front. Immunol.* 2021. V. 12. Art. 622471.
21. Arts R.J., Joosten L.A., van der Meer J.W., Netea M.G. TREM-1: intracellular signaling pathways and interaction with pattern recognition receptors // *J. Leukoc. Biol.* 2013. V. 93. P. 209–215.
22. Sharapova T.N., Ivanova O.K., Soshnikova N.V. et al. Innate Immunity Protein Tag7 Induces 3 Distinct Populations of Cytotoxic Cells That Use Different Mechanisms to Exhibit Their Antitumor Activity on Human Leukocyte Antigen- Deficient Cancer Cells // *J. Innate. Immun.* 2017. V. 9. P. 598–608.
23. Ivanova O.K., Sharapova T.N., Romanova E.A. et al. CD3+ CD8+ NKG2D+ T Lymphocytes Induce Apoptosis and Necroptosis in HLA- Negative Cells via FasL-Fas Interaction // *J. Cell Biochem.* 2017. V. 118. P. 3359–3366.
24. Yashin D.V., Romanova E.A., Ivanova O.K., Sashchenko L.P. The Tag7-Hsp70 cytotoxic complex induces tumor cell necroptosis via permeabilisation of lysosomes and mitochondria // *Biochimie.* 2016. V. 123. P. 32–36.
25. Sashchenko L.P., Dukhanina E.A., Shatalov Y.V. et al. Cytotoxic T lymphocytes carrying a pattern recognition proteinTag7 can detect evasive, tumor cells, HLA-negative but HSP-expressing thereby ensuring FasL/Fas-mediated contact killing // *Blood.* 2007. V. 110. P. 1997–2004.
26. Yashin D.V., Sashchenko L.P., Kabanova O.D. et al. The CD8+population of LAK cells can lyse both HLA-positive and HLA-negative cancer cell lines // *Dokl. Biol. Sci.* 2009. V. 426. P. 296–297.
27. Sharapova T.N., Ivanova O.K., Romanova E.A. et al. N-Terminal Peptide of PGLYRP1/Tag7 Is a Novel Ligand for TREM-1 Receptor // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. V. 23. Art. 5752.
28. Telegin G.B., Chernov A.S., Minakov A.N. et al. Short Peptides of Innate Immunity Protein Tag7 Inhibit the Production of Cytokines in CFA-Induced Arthritis // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. V. 23. Art. 12435.
29. Lukanidin E.M., Georgiev G.P. Metastasis-related mts1 gene // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 1996. V. 213. P. 171–195.
30. Romanova E.A., Dukhanina E.A., Sharapova T.N. et al. Lymphocytes incubated in the presence of IL-2 lose the capacity for chemotaxis but acquire antitumor activity // *Dokl. Biol. Sci.* 2017. V. 472. P. 31–33.
31. Dukhanina E.A., Lukyanova T.I., Romanova E.A. et al. A new role for PGRP-S (Tag7) in immune defense: lymphocyte migration is induced by a chemoattractant complex of Tag7 with Mts1 // *Cell Cycle.* 2015. V. 14. P. 3635–3643.
32. Sharapova T.N., Romanova E.A., Sashchenko L.P., Yashin D.V. Tag7-Mts1 Complex Induces Lymphocytes Migration via CCR5 and CXCR3 Receptors // *Acta Naturae.* 2018. V. 10. P. 115–120.
33. Novik A.V., Danilova A.B., Sluzhev M.I. et al. An Open-Label Study of the Safety and Efficacy of Tag-7 Gene-Modified Tumor Cells-Based Vaccine in Patients with Locally Advanced or Metastatic Malignant Melanoma or Renal Cell Cancer // *Oncologist.* 2020. V. 25. P. e1303-e1317.
34. Lurain K., Ramaswami R., Yarchoan R., Uldrick T.S. Anti-PD-1 and Anti-PD-L1 Monoclonal Antibodies in People Living with HIV and Cancer // *Curr. HIV/AIDS Rep.* 2020. V. 17. P. 547–556.
35. Bukhari M.H., Zain S., Syed M. The new criteria for a COVID19 patient for the clinical practice to determine the need for an early therapeutic regimen and to decrease mortality // *Pak. J. Med. Sci.* 2021. V. 37. P. 1536–1539.
36. Sharapova T.N., Romanova E.A., Chernov A.S. et al. Protein PGLYRP1/Tag7 Peptides Decrease the Proinflammatory Response in Human Blood Cells and Mouse Model of Diffuse Alveolar Damage of Lung through Blockage of the TREM-1 and TNFR1 Receptors // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. Art. 11213.
37. Abdulmajid B., Blanken A.B., van Geel E.H. et al. Effect of TNF inhibitors on arterial stiffness and intima media thickness in rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis // *Clin. Rheumatol.* 2023. V. 42. P. 999–1011.

GENE *TAG7* AND ITS TRANSCRIPT TAG7 PROTEIN: PERSPECTIVES OF MEDICAL APPLICATIONS

D. V. Yashin^{1,#}, L. P. Sashchenko^{1,##}, and G. P. Georgiev^{1,###}

¹*Institute of Gene Biology of RAS, Moscow, Russia*

[#]*E-mail: yashin_co@mail.ru*

^{##}*E-mail: sashchenko@genebiology.ru*

^{###}*E-mail: georgiev@genebiology.ru*

Tag7 protein is a multifunctional protein with antitumor and anti-inflammatory effects. The interaction of Tag7 with the TREM-1 receptor on monocytes leads to the appearance of lymphocytes that kill tumor cells. The Tag7-Hsp70 complex binds to the TNFR1 receptor, causing cell death in a number of tumors through apoptosis and necroptosis. The Tag7-Mts1 complex interacts with the CCR5 receptor and attracts cytotoxic lymphocytes to the tumor. The interaction of Tag7 itself with TNFR1 and TREM-1 receptors prevents the binding of other ligands to this receptor, which gives an anti-inflammatory effect. Peptides imitating different Tag7 activities have been identified in Tag7. The results obtained allow us to count on possible applications of the Tag7 protein in the treatment of oncological and autoimmune diseases.

Keywords: Tag7, Hsp70, Mts1, antitumor activity, anti-inflammatory activity.

БИОРАЗНООБРАЗИЕ И БИОРЕСУРСЫ ГЛУБОКОВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМ СЕВЕРО-ЗАПАДНОЙ ЧАСТИ ТИХОГО ОКЕАНА

© 2023 г. А. В. Адрианов^{a,b,*}, В. В. Мордухович^{a,c,**}

^aНациональный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток, Россия

^bМосковский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

^cДальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия

*E-mail: avadr@mail.ru

**E-mail: vvmara@mail.ru

Поступила в редакцию 01.08.2023 г.

После доработки 07.08.2023 г.

Принята к публикации 15.08.2023 г.

В статье рассматриваются современные проблемы изучения биоразнообразия и биоресурсов Мирового океана, а также задачи инвентаризации биоразнообразия и биоресурсов океанских глубин. Приводятся данные по результатам серии глубоководных экспедиций ННЦМБ ДВО РАН по оценке биоразнообразия в наиболее глубоководных районах дальневосточных морей и прилегающих акваторий северо-западной части Тихого океана. Рассматриваются результаты экспедиционных работ консорциума научных организаций в рамках комплексного проекта РАН “Фундаментальные проблемы изучения и сохранения глубоководных экосистем в потенциально рудоносных районах северо-западной части Тихого океана” (проект № 3.1902.21.0012). Приводится описание ряда уникальных глубоководных экосистем в местах залегания ценных минеральных ресурсов на морском дне и районах активного рыболовства. Рассматриваются возможности сохранения этих экосистем путём ограничения применений технических средств, травмирующих донные ландшафты, а также придания им природоохранного статуса.

Ключевые слова: морское биоразнообразие, биоресурсы, минеральные ресурсы, глубоководная добыча, глубоководные экосистемы, глубоководные ландшафты, глубоководные охраняемые районы.

DOI: 10.31857/S0869587323090025, EDN: IEXWUK



АДРИАНОВ Андрей Владимирович — академик РАН, научный руководитель (президент) ННЦМБ им. А.В. Жирмунского ДВО РАН; профессор МГУ им. М.В. Ломоносова. МОРДУХОВИЧ Владимир Владимирович — кандидат биологических наук, заместитель директора по науке ННЦМБ им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, доцент ДФВУ.

Мировой океан, занимающий 71% поверхности нашей планеты, при средней глубине около 3700 м представляет собой колоссальный объём жизненного пространства, на два порядка превышающий объём жизненного пространства на суше, жизнь наполняет его от поверхности до максимальных глубин. Однако глубины океана остаются слабоизученными даже по сравнению с ближайшим космосом, где уже побывало на порядок больше космонавтов и туристов, чем пилотов и учёных, спускавшихся глубже 6 км. До сих пор сохраняются представления, в соответствии с которыми биоразнообразие на суше в части видового богатства на порядок больше такового в морской среде [1, 2], а биомасса биоты в наземных экосистемах почти на два порядка превышает биомассу морских организмов (~6 Гт С) [3]. За исключением филогенетического (макротаксономического) уровня, такие диспропорции отмечают-

ся и при сравнении всех других уровней биоразнообразия — от генетического до экосистемного (при широком понимании этого термина, подразумевающего *все* основанные на наследственности вариации на *всех* уровнях организации живой материи) [4]. Однако новые данные позволяют усомниться в верности подобных утверждений.

В последние годы благодаря развитию подводной робототехники и технологий отбора донных проб глубоководные исследования Мирового океана динамично развиваются. Комплексное изучение биологического разнообразия в глубоководье привело к интереснейшим открытиям, заставляющим существенно пересмотреть наши представления о количественном и качественном составе глубоководной биоты. Повышенное биологическое разнообразие обнаружено на континентальных склонах, абиссальных равнинах, в глубоководных желобах, описываются многие сотни новых видов из самых разных таксонов морской биоты, происходящих из этих зон.

Пересматриваются представления и о биоресурсах Мирового океана. В течение последнего десятилетия за счёт использования новых технологий практически на порядок выросла оценка реальной биомассы мезопелагических рыб — до 11–19 млрд т [5–8]. Открыты удивительные особенности биологии этих глубоководных рыб, например, их сверхчувствительное зрение [9]. Такие рыбы, составляющие по биомассе до 90% всех рыб в Мировом океане, при внедрении соответствующих технологий добычи и переработки, только при изъятии 1% их биомассы могут увеличить ежегодный объём рыбопродукции до 200 млн т, в то время как на протяжении двух последних десятилетий общий ежегодный вылов всех водных биоресурсов стабилизировался на уровне 90–96 млн т в год [10]. Пересматриваются и оценки возможной биомассы зоопланктона. Так, биомасса мезопелагических и батипелагических глубоководных креветок может составить порядка 1.7 млрд т [11].

Помимо потенциальных источников высококачественной белковой продукции, глубоководные экосистемы привлекают особое внимание как гигантский резервуар уникальных лекарственных молекул с высоким химическим разнообразием [12]. Глубоководные организмы адаптировали свои биохимические механизмы для выживания в экстремальных условиях, они обладают большим потенциалом индукции первичных и вторичных метаболических путей для создания структурно уникальных метаболитов. Показано, что около 76% всех соединений, выделенных из глубоководных объектов, обладают биологической активностью, причём почти половина из них проявляет цитотоксичность в отношении ряда линий раковых клеток человека, а часть соеди-

нений демонстрирует выраженную антипролиферативную и антимикробную активность [12, 13].

В глубинах Мирового океана сосредоточены гигантские минеральные и энергетические ресурсы. Согласно экспертным оценкам, на его дне сосредоточено до 70% запасов нефти (60% на шельфе, 40% на континентальном склоне). Здесь присутствуют огромные запасы “топлива будущего” — газогидратов (~5–15 трлн м³), вдвое превышающие общемировые запасы всех традиционных видов топлива [14]. Минеральные ресурсы многих наименований также кратно превышают ресурсы суши. Особый интерес с ресурсной точки зрения представляют железо-марганцевые конкреции (ЖМК), встречающиеся на поверхности бескрайних абиссальных равнин; кобальтоносные марганцевые корки (КМК), залегающие на склонах подводных гор и гайотов; глубоководные полиметаллические сульфиды (ГПС), встречающиеся в зонах гидротермальной активности в районах островных дуг и срединно-океанических хребтов [14]. Да и сама морская вода, содержащая более 70 химических элементов и около 50×10^{15} т солей, — перспективный ресурс для химической промышленности будущего [14, 15].

Биологические, минеральные и энергетические ресурсы Мирового океана всё чаще рассматриваются в качестве определяющего фактора будущего устойчивого развития нашей цивилизации. При их рациональном использовании они способны покрыть потребности всего человечества на сотни лет вперёд, обеспечив будущие поколения практически неисчерпаемыми источниками энергии, минеральными ресурсами для промышленного развития, высококачественными продуктами питания и лекарственными средствами.

Однако уже сейчас, в условиях роста народонаселения и уровня потребления, а также в связи с осознанием ограниченности ресурсного потенциала суши, богатства океана становятся предметом острой конкуренции, геополитической борьбы и попыток ограничения доступа к ним стран-конкурентов [10]. Один из примеров — возникшие несколько лет тому назад претензии к России на площадке Комиссии по сохранению морских живых ресурсов Антарктики при рассмотрении квот для Российской Федерации по добыче криля и глубоководных рыб. Напряжённость удалось снизить благодаря возобновлению совместно с Росрыболовством биоресурсных исследований в этом районе Мирового океана в рамках иницированной РАН научной экспедиционной программы 2020–2022 гг. [10, 16]. Другой механизм давления на площадках упомянутой комиссии — поддержка идеологии создания многочисленных морских охраняемых районов на высокопродук-

тивных антарктических акваториях без достаточного научного обоснования [10].

После раздела шельфа предпринимаются попытки раздела открытых районов Мирового океана за пределами национальных юрисдикций. Уже не только традиционные морские державы, но и динамично развивающиеся страны Азии наращивают современный научно-исследовательский флот, строят глубоководные аппараты, расширяют районы морских исследований, организуют новые институты, ориентированные на изучение минеральных и биологических ресурсов глубин океана.

Россия активно участвует в освоении океанских ресурсов. По соглашению с Международным органом по морскому дну (International Seabed Authority), действующим в рамках Конвенции ООН по морскому праву и регулирующим доступ к минеральным ресурсам океанского дна за пределами национальных юрисдикций, в Международном районе морского дна Мирового океана за нашей страной для разведки и возможной последующей эксплуатации закреплены участки с крупными запасами ЖМК в зоне Кларион-Клиппертон и КМК в районе Магеллановых гор в Тихом океане, а также ГПС на участке Срединно-Атлантического хребта в Атлантике [14]. Отметим, что только одна зона Кларион-Клиппертон, уже разделённая на большое количество участков для многих стран, содержит никеля и кобальта больше, чем все разведанные ресурсы суши [14].

В отношении добычи биоресурсов на морских акваториях вне зон национальных юрисдикций в настоящее время нет единого международного регулятора. Практически вся площадь Мирового океана вне зон национальных юрисдикций учтена в сети региональных межправительственных соглашений, регулирующих лов отдельных ресурсных видов. Россия участвует в 24 региональных организациях по управлению рыболовством и в 62 межправительственных соглашениях по рыболовству с 46 странами [10]. В настоящее время обсуждается вопрос о создании единой международной организации по регулированию рыболовства в Тихом океане. Следует оговориться, что действующие международные соглашения регулируют добычу биоресурсов вне зон национальных юрисдикций только до глубин 1000 м, поскольку на больших глубинах имеющиеся технические возможности не позволяют оценить запасы промысловых пелагических видов и обитателей морского дна [10].

В рамках действующих международных конвенций и соглашений важнейшим условием получения лицензий и квот на добычу минеральных и биологических ресурсов в Международном районе морского дна Мирового океана служит проведение научных исследований, обеспечиваю-

щих достоверную оценку имеющихся запасов, понимание условий их восстановления, рациональное использование добываемого ресурса, а также наличие технических средств и технологий, обеспечивающих сохранение морских экосистем в районах активного международного природопользования. Не отстать в этих ресурсных исследованиях, не допустить технического отставания, поставив благополучие последующих поколений под угрозу ограничений доступа к огромным ресурсам океана – важнейшая государственная задача Российской Федерации.

Особое значение для России имеет ресурсный потенциал дальневосточных морей и прилегающих акваторий северо-западной части Тихого океана. Они обеспечивают около 80% всех добываемых у нас водных биоресурсов. На шельфе и континентальном склоне в этом районе Мирового океана сосредоточены большие запасы нефти, газа, газогидратов, обнаружены значительные залежи ЖМК, КМК, ГПС, причём эти участки расположены гораздо ближе, чем лицензионные участки России в центральных частях Тихого и Атлантического океанов.

Значительный вклад в изучение биоразнообразия глубоководных экосистем северо-западной части Тихого океана внесла серия совместных глубоководных российско-германских экспедиций, организованных Национальным научным центром морской биологии имени А.В. Жирмунского Дальневосточного отделения РАН (ННЦМБ ДВО РАН). За 2010–2016 гг. в рамках 4 комплексных экспедиций была выполнена оценка биоразнообразия в наиболее глубоководной части Японского моря (SoJaBio, 2010 г., до 3660 м); в районе тихоокеанского абиссального плато, примыкающего к Курило-Камчатскому жёлобу (KuramBio I, 2012 г., до 6000 м); глубоководной Курильской котловине Охотского моря и глубоководье у Курильских островов со стороны Курило-Камчатского жёлоба (SokhoBio, 2015 г., до 4700 м); в Курило-Камчатском жёлобе (KuramBio II, 2016 г., до 9500 м).

Несмотря на то, что Японское море принято считать одним из наиболее изученных в северо-западной Пацифике и здесь уже были известны около 100 глубоководных видов животных, в ходе экспедиции SoJaBio вдоль трансекты от глубин 500 до 3660 м был собран 621 вид морских беспозвоночных, из которых 201 вид (32%) оказался новым для науки, а 105 видов (17%) впервые были отмечены для Японского моря [17, 18]. Ещё более впечатляющие результаты экспедиции KuramBio I. За 16 лет глубоководных тралений в середине XX столетия в северо-западной части Тихого океана (1949–1966 гг., 10 экспедиций научно-исследовательского судна “Витязь”) в диапазоне глубин 5000–6000 м были собраны около 600 глубо-

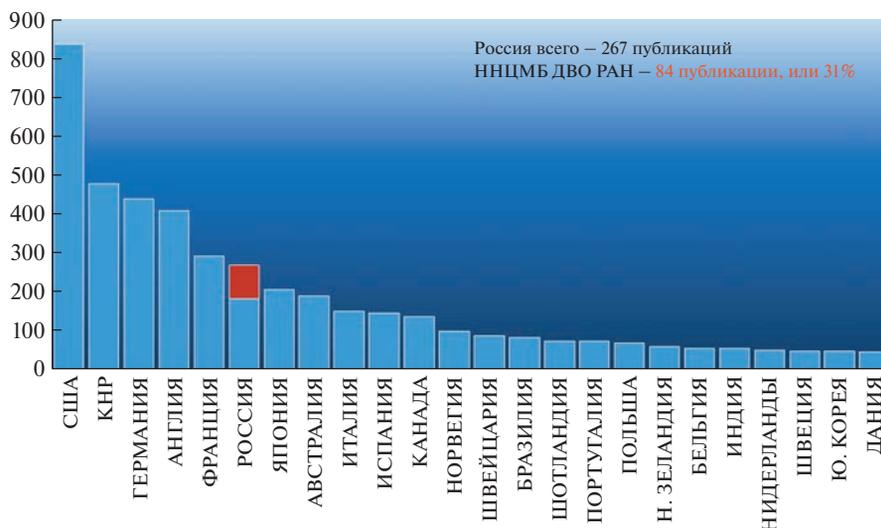


Рис. 1. Число опубликованных в 2015–2023 гг. работ, проиндексированных в Web of Science и посвящённых изучению абиссальной зоны (abyssal zone)

ководных видов, из которых около 300 видов – в районе работ KuramBio I [19]. Благодаря использованию новых технических средств (бокс-кореры, мультикореры, автоматизированные слэджи) в ходе KuramBio I в диапазоне глубин 4830–5830 м собраны более 1800 видов (22 типа животного царства), из которых около 60% оказались новыми для науки [19–21]. В экспедиции SokhoBio в диапазоне глубин 1700–4700 м собраны более 1000 видов, из которых около 50% – новые для науки (ранее в Охотском море были известны только 50 глубоководных видов беспозвоночных животных) [22]. В ходе KuramBio II в диапазоне глубин от 5120 до 9585 м собраны 1328 видов, опять-таки 50% из которых оказались новыми для науки [23]. Эти цифры наглядно свидетельствуют о крайне низкой степени изученности глубоководной биоты и в то же время о её удивительном разнообразии. По результатам этих экспедиций ННЦМБ ДВО РАН опубликованы отдельные тома ведущих научных журналов “Deep-Sea Research Part II” (2013, 2015, 2018) и “Progress in Oceanology” (2020), в которых представлены более 130 статей с описаниями глубоководной биоты. Анализ публикаций в системе Web of Science за 2015–2023 гг. по абиссальной тематике показывает, что доля ННЦМБ ДВО РАН составляет треть всех российских статей, а среди российских статей по морской биологии в абиссали статьи ННЦМБ ДВО РАН составляют почти половину (рис. 1, 2).

Тысячи новых видов из собираемых в последние годы с помощью специальных технических средств представителей глубоководной биоты, к сожалению, могут так и остаться неописанными, ибо скорость описания новых видов совре-

менным научным сообществом не превышает 25 тыс. в год, то есть для описания очередных двух миллионов нам потребуется немногим менее 100 лет.

Полученные данные о реальном биоразнообразии в абиссальных глубинах северо-западной Пацифики хорошо согласуются с результатами масштабного изучения батимальной глубоководной биоты в северо-западной Атлантике в начале 1990-х годов [24]. Вдоль трансекта на континентальном склоне (батималь, от 1500 до 2100 м) у берегов Нью-Джерси и Дэлавера были взяты 233 дночерпательных пробы, собраны десятки тысяч экземпляров беспозвоночных животных (около 800 видов из 14 типов животного царства на общей площади дночерпательных проб 21 м²). 58% видов оказались новыми для науки [24]. Эти работы были продолжены у берегов Северной и Южной Каролины, общее количество собранных в батии экземпляров доведено до 270 тыс., а общее число собранных видов до 1600 (на общей площади дночерпательных проб 56 м²). Интересно, что новыми для науки также оказались более половины всех собранных видов [24].

В отличие от наших абиссальных сборов в северо-западной части Тихого океана, где значительно преобладали ракообразные перакариды (более 50%), на континентальном склоне в северо-западной Атлантике преобладали полихеты (до 48%), а перакариды составляли лишь 23%. Здесь также отмечена очень высокая степень глубоководного эндемизма (90% видов представлены менее 1% от собранных и около 28% видов были собраны только один раз) [24]. Значительное биологическое разнообразие в северной Атлантике, как и в северной Пацифике, связано с очень

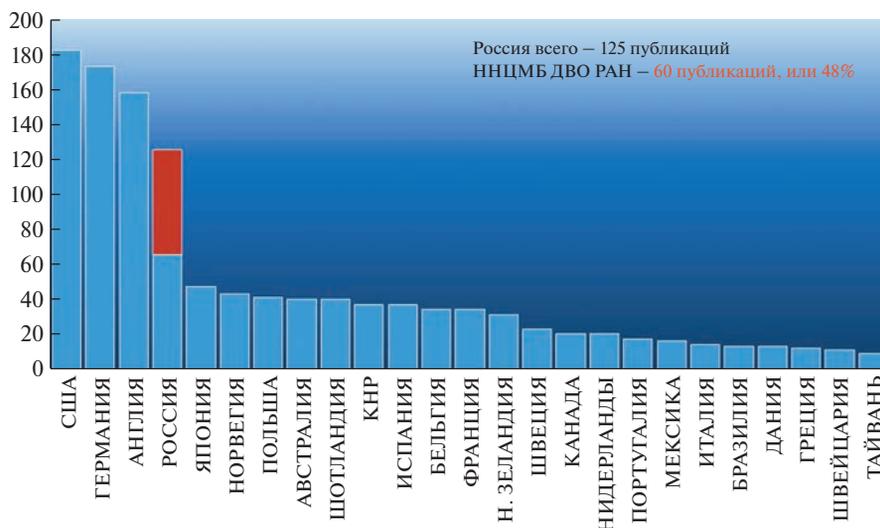


Рис. 2. Число опубликованных в 2015–2023 гг. работ, проиндексированных в Web of Science и посвящённых изучению морской биологии абиссальной зоны (abyssal zone: marine biology)

высоким уровнем первичной продукции в поверхностных слоях океана, что позволяет значительным объёмам пищи достигать батимальных и даже абиссальных глубин. В итоге своих исследований авторы предположили, что каждый квадратный километр континентального склона может дать как минимум 1 новый вид. В целом же, с учётом пространственных олиготрофных абиссальных районов, где уровень первичной продукции может быть очень низким, эти авторы экстраполировали видовое богатство в Мировом океане на глубинах более 1 км на уровне 10 млн видов [24]. Однако, несмотря на многочисленность выполненных проб, общее покрытие исследованного морского дна дночерпателями де-факто составило лишь несколько десятков квадратных метров, что послужило основанием для критики таких количественных расчётов [1, 2, 25]. Но эта пионерская работа имела огромное значение, поскольку обратила внимание морских биологов и океанологов на потенциальное биоразнообразие в глубинах Мирового океана.

В последующем сходные результаты относительно количества новых видов и степени глубоководного эндемизма были получены в ходе аналогичных работ в других глубоководных районах Мирового океана (западной и восточной Атлантике, юго-западной Пацифике и др.) [26–28]. В этих исследованиях количество новых для науки видов составило не менее 50% от числа собранных.

В наших работах мы не считаем полученные данные достаточными для глобальных количественных экстраполяций, однако очевидно, что и на абиссальных глубинах количество видов мно-

гократно выше, чем это предполагают сложившиеся представления.

По данным Мирового регистра морских видов (World Register of Marine Species, WoRMS), на октябрь 2022 г. зарегистрировано лишь 241 589 валлидных (признаваемых) видов, из которых животные составляют 206 462, тогда как наземных организмов описано уже около двух миллионов видов. Безусловно, такая диспропорция связана лишь с уровнем наших знаний о жизни в океанских глубинах, и реальное биологическое разнообразие в Мировом океане вряд ли сильно уступает таковому в наземных экосистемах.

Смена представлений о глубоководном биоразнообразии, в том числе в районах сосредоточения полезных ископаемых, породила одну из актуальных проблем современной глубоководной океанологии – поиск научно-обоснованного компромисса между добычей ценных минеральных и энергетических ресурсов, развитием рыбного промысла и сохранением глубоководных экосистем с их огромным биологическим разнообразием. Уже сейчас нефтеразведочное бурение идёт на глубинах до 3 км; отработаны технологии добычи ЖМК на глубинах до 5 км; ведётся, в том числе и в северо-западной части Тихого океана, промысел ценных видов рыб на глубинах до 2.5 км [10, 14].

В российских дальневосточных морях насчитывается около 110 подводных гор и вулканов, десятки глубоководных каньонов, гидротермальные источники и холодные метановые сипы, абиссальные плато и глубоководные желоба, а также около 50 так называемых коралловых садов – глубоководных оазисов с высоким биологическим разнообразием. Особый интерес пред-

ставляют уникальные глубоководные экосистемы, связанные с гидротермальной активностью, залежами газогидратов, просачиваниями нефтеуглеводородов и залежами минерального сырья. Исследованию таких экосистем в 2011–2021 гг. была посвящена серия глубоководных экспедиций ННЦМБ ДВО РАН.

Оценка степени ландшафтного разнообразия и уникальности глубоководных экосистем, определяющих необходимость их обязательного сохранения или возможность щадящей эксплуатации, требует максимальной визуализации изучаемых участков морского дна и возможности прицельного (точечного) отбора проб и отдельных гидробионтов для последующих генетических, молекулярно-биологических и фармакологических исследований. В этом случае уже не могут быть использованы травмирующие донные ландшафты технические средства (донные тралы, дночерпатели, кореры и даже современные слэджи). В наших исследованиях были задействованы робототехнические средства: телеуправляемые (ТНПА) и автономные (АНПА) подводные аппараты с высокочувствительной оптикой, манипуляторами и возможностями штучного отбора и сохранения глубоководных гидробионтов.

В 2011 и 2013 гг. на НИС “Академик Лаврентьев” с помощью ТНПА “Команч” (рабочая глубина до 6000 м) в наших дальневосточных морях выполнены работы по видеопрофилированию морского дна и описанию донных экосистем в районе Баритовых гор во впадине Дерюгина в Охотском море; в 2016 и 2018 гг. выполнено вертикальное зонирование и описание экосистем вулкана Пийпа в массиве Вулканологов в Беринговом море; в 2018 и 2021 гг. исследованы сообщества в районе метановых сипов на Корякском склоне Берингова моря; в 2020 и 2021 гг. выполнены комплексные исследования в Гамовском каньоне в Японском море. Вне зоны национальной юрисдикции России в 2019 и 2021 гг. подобные исследования выполнены на подводных горах и гайотах Императорского хребта в сопредельных водах северо-западной части Тихого океана. Подробно описаны глубоководные экосистемы и донные ландшафты, изучен состав и особенности пространственного распределения глубоководной биоты, собран богатейший материал для генетических, молекулярно-биологических, биохимических и фармакологических исследований на глубинах от 400 до 4000 м.

С 2020 г. эти работы удалось консолидировать в рамках инициированного Российской академией наук комплексного научного проекта “Фундаментальные проблемы изучения и сохранения глубоководных экосистем в потенциально рудноносных районах северо-западной части Тихого океана” (2020–2022 гг., № 3.1902.21.0012). Для ра-

бот в рамках проекта был создан консорциум, объединивший учёных Национального научного центра морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, Института океанологии им. П.П. Ширшова РАН, Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичёва ДВО РАН, Тихоокеанского института биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Института проблем морских технологий ДВО РАН, Дальневосточного федерального университета, что позволило выполнить комплексные мультидисциплинарные исследования этих экосистем.

Впадина Дерюгина в Охотском море (от 1400 до 1600 м) является зоной рифтогенной деструкции с активной эмиссией эндогенных газов с высокой концентрацией метана, интенсивной карбонатно-баритовой минерализацией, железомарганцевыми и полиметаллическими сульфидными образованиями и рассматривается как перспективный район добычи ценных минеральных ресурсов [29–31]. Экспедициями консорциума изучены различные типы симбиотрофных сообществ в районах метановых просачиваний, проведена инвентаризация биоты на массивных баритовых постройках (баритовые “курильщики” высотой до 40 м), покрытых бактериальными матами разных расцветок [18, 32]. В складках рельефа этих построек встречались крабы *Munidopsis beringianus* и *Paralomis verrilli*, креветки *Eualus bilinguis*. В точках просачиваний и по краям бактериальных матов формируются крупные “гнезда” двустворчатых моллюсков-везикомиид *Archivesica gigas* и *Phreagena soyoae*. В донных осадках на глубинах до 1500 м обнаружены симбиотрофные черви – погонофоры-зибоглиниды *Siboglinum caulleryi* [33]. Эти черви, симбиотическим бактериям которых нужны высокие концентрации метана, служат одним из самых надёжных биоиндикаторов залегания нефтеуглеводородов [33]. Мягкий субстрат вокруг гор покрыт сплошным ковром бесчисленных трубок фораминифер *Bathysiphon* sp. из сульфата бария, формирующих огромную биомассу и пищевой ресурс для донных беспозвоночных и рыб. У подножия Баритовых гор на твёрдых субстратах обнаружены простирающиеся на сотни метров “луга” гидрокораллов *Stylaster eximius* f. *minor* с плотностью от 10–15 до 30–50 колоний на м² – самые масштабные из описанных в Охотском море скопления глубоководных кораллов. Интересно, что, несмотря на многочисленные геологические экспедиции, такие кораллы в Охотском море были лишь однажды обнаружены в качестве единичных находок только у побережья о. Парамушир Курильской гряды. На мягких грунтах отмечены хищные губки *Asbestoplyma* sp., *Chondrocladia* cf. *lampadiglobus*, актинии *Actinostola callosa* и *Liponema brevicornis*. На крупных валунах видны скопления крупных актиний *Phelliactis* cf. *calliecyclus* и

красивейших морских звёзд-бризингид *Hymenodiscus ochotensis* (до 20 экз./м²).

Использование робототехнических средств позволяет отслеживать скопления промысловых гидробионтов и проводить наблюдения за представителями ихтиофауны. Во впадине Дерюгина с помощью ТНПА отмечены бентопелагические чёрные (*Coryphaenoides acrolepis*), пепельные (*C. cinereus*) и малоглазые (*Albatrossia pectoralis*) макрурусы, тихоокеанские белокорые палтусы (*Hippoglossus stenolepis*), длинноперые щипошёки (*Sebastolobus macrochir*), получешуйники (*Hemilepidotus jordani*), мелкочешуйные антимоны (*Antimora microlepis*), слизеголовы (*Bothrocara zestum*), ликоды (*Lycodes soldatovi*), глубоководные скаты (*Bathyraja parmifera* и *B. minispinosa*), а непосредственно вокруг газовых просачиваний наблюдались группы длиннорылых люмпенов (*Lumpenella longirostris*). Отслеживались скопления крабов-стригунов опилио (*Chionocetes opilio*), особи осьминогов *Muusoctopus* sp. Впадина Дерюгина стала первым полигоном изучения глубоководных сообществ Охотского моря с использованием ТНПА [18, 21].

Вулкан Пийпа в Беринговом море – единственный известный активный глубоководный гидротермальный район в территориальных водах России и самый северный гидротермальный район в Тихом океане с богатой облигатной фауной восстановительных биотопов [34]. В 1990 г. здесь состоялись погружения российских обитаемых аппаратов “Мир-1” и “Мир-2”, описаны вершины вулкана, в диапазоне глубин 450–900 м выявлены 30 видов гидробионтов [35, 36]. В наших экспедициях в 2016 и 2018 гг. с использованием ТНПА “Команч” были обследованы северный и южный склоны вулкана, выполнено его вертикальное зонирование от подножия в Командорской котловине до двух вершин с гидротермальной активностью (глубины 368–4288 м) [37–39].

У подножия вулкана со стороны Командорской котловины (северный склон, 4288 м) на мягких грунтах обнаружены огромные скопления глубоководных голотурий *Kolga kamchatica* и *Scotoplanes kurilensis* (до 15 экз./м²). Далее по склону на глубинах до 2500 м встречаются скопления более крупных голотурий *Paelopatides solea*, отдельные очень крупные (до 40 см) экземпляры *Psychropotes longicaudata* и отдельные группы *Pannychia moseleyi*. На мягких грунтах на глубинах 1800–2300 м доминируют кишечнорышачи *Quatuoralisia malakhovi*, встречаются также скопления трахимедуз *Benthocodon* sp., обнаруженные и на южном склоне вулкана на глубинах 2500–2600 м. На этих же глубинах на фрагментах твёрдого субстрата обнаружены губки *Docosaccus rappi* и *Caulophacus* sp., кораллы *Thouarella* sp., морские лилии *Ptilocrinus pinnatus*, осьминоги *Muusoctopus profundorum*, хищные асцидии *Megalodicopia* sp. В диапа-

зоне глубин 750–1800 м описаны сообщества губок с преобладанием *Farrea* sp., сменяющиеся на отметке 750 м сообществами альционарий *Heteropolypus ritteri*. Выше по северному склону до глубин 390 м отмечаются пространные коралловые рифы из зоантарий *Epizoanthus* sp., образующих сплошное покрытие (до 500 экз./м²) на скальных грунтах. Здесь же встречаются скопления альционарий *Heteropolypus ritteri* и актиний *Sagartiogeton rufus*. Помимо этих кораллов на склонах вулкана на разных глубинах выявлены скопления крупных “древовидных” *Paragorgia arborea*, изящные колонии представителей *Nephtidae* и *Isididae*, а на южном склоне – протяжённые сообщества морских перьев *Anthoptilus* sp. Среди представителей ихтиофауны у подножия вулкана отмечены несколько видов макрурусов, а на каменистых склонах скопления щипошёков (*Sebastolobus macrochir*).

Гидротермальная активность отмечена на обеих вершинах вулкана, где описаны обширные восстановительные сообщества. Благодаря ТНПА на вершинах (368–495 м) удалось собрать около 130 видов гидробионтов, четверть из которых оказались новыми для науки; отмечена высокая степень эндемизма обитающих на вулкане глубоководных животных, многие из которых обнаружены только здесь [34]. В районах бактериальных матов у активных карбонатных и ангидритовых гидротермальных построек (так называемые курильщики) встречаются поселения симбиотрофных двустворчатых моллюсков *Caliptogena pacifica*, гастроподы *Parvaplustrum wareni*, кораллиморфрии *Corallimorphus* cf. *pilatus*, актинии *Sagartiogeton rufus*, губки *Vulkanella coltuni*. Помимо выраженной вертикальной зональности сообществ, отмечена их значительная горизонтальная изменчивость между вершинами вулкана вдоль гидрохимических градиентов и в связи с локальной гетерогенностью субстрата [34]. В ходе биохимических исследований с использованием биогеохимических маркеров – состава жирных кислот и соотношений стабильных изотопов биогенных элементов – описаны трофические взаимоотношения гидробионтов [40–42]. Показано, что развитие богатейшей и разнообразной фауны на вулкане Пийпа, в том числе эндемичных сообществ гидробионтов, обеспечивается притоком пищи из высокопродуктивного фотического слоя вод Берингова моря, а также благодаря притоку органики за счёт хемосинтетической активности на вершинах вулкана. Более подробные описания сообществ на склонах вулкана, а также обнаруженных здесь новых видов глубоководных гидробионтов (губки, актинии, моллюски, ракообразные) приведены в многочисленных статьях в отдельном томе журнала “Deep-Sea Research Part II” (2022–2023, Deep-sea benthic fauna and communities in the vicinity of methane seeps and hydrothermal

vents in the Bering Sea [43]), а также в нескольких обобщающих работах [34, 37, 39].

Вулкан Пийпа в Беринговом море рассматривается как очень перспективный район для разработки глубоководных полиметаллических сульфидов и в то же время представляет собой уникальный природный объект с высоким разнообразием биоты (в том числе глубоководными коралловыми рифами, губочными и коралловыми “садами”, уникальными восстановительными сообществами с высокой степенью эндемизма). По результатам этой работы предложено создать первую в России глубоководную особо охраняемую природную территорию федерального значения “Вулкан Пийпа” с целью сохранения его уникальной экосистемы.

В ходе экспедиций 2018 и 2021 гг. в Берингово море также были изучены восстановительные биотопы, связанные с полями высачиваний метана на Корякском участке континентального склона Берингова моря на глубинах 430–695 м [39, 44]. В местах газовых высачиваний здесь формируются обширные бактериальные маты, в районе которых описаны сообщества симбиотрофных двустворчатых моллюсков *Calypptogena pacifica*, массовые скопления зарывающихся морских ежей *Brisaster latifrons*, поля морских перьев *Halipteris* cf. *willemoesi* [44]. В фоновых сообществах вокруг зоны сипов доминировали офиуры *Ophiophthalmus normani*. В местах выхода твёрдых пород обнаруживаются локальные скопления промысловых крабов-стригунов *Chionocetes opilio*, а на полях из морских перьев отмечены локальные группы промысловой чёрной трески *Anoplopoma fimbria*. На некоторых участках морские перья плотно облеплены крупными офиурами *Asteronix loveni*. В ходе работ в районе сипов обнаружены 335 видов макробентосных гидробионтов. Проведённые в ходе двух экспедиций исследования показали интересную межгодовую динамику донных сообществ, приуроченных к метановым сипам на Корякском континентальном склоне. Наблюдаемые здесь метановые высачивания – самые северные из восстановительных биотопов, известных на сегодняшний день в Тихом океане. Полученные результаты подробно описаны в публикациях консорциума в отдельном томе Deep-Sea Research Part II (2022–2023, Deep-sea benthic fauna and communities in the vicinity of methane seeps and hydrothermal vents in the Bering Sea [43]).

В ходе двух отдельных экспедиций в 2018 и 2021 гг. проведены комплексные исследования глубоководных экосистем гор и гайотов Императорского хребта [45]. Этот район Мирового океана является зоной активного международного рыболовства и в то же время рассматривается в качестве одного из наиболее перспективных для

промышленной добычи кобальтоносных марганцевых корок. Мощность кобальтоносных марганцевых корок на его возвышенностях сопоставима с рудными образованиями Магеллановых гор (где у России имеется участок, выделенный Международным органом по морскому дну), но отличается более высоким содержанием никеля, скандия и суммы редкоземельных элементов. В условиях сильных круговых течений на гайотах образуются залежи железомарганцевых формаций, по содержанию ценных элементов сопоставимые с россыпными железомарганцевыми рудопроявлениями с высоким содержанием стратегических металлов (в том числе платины и золота) [46]. В случае возможной разработки месторождений возникнет угроза подводным горным экосистемам и устойчивому рыболовству в этом районе Мирового океана. Северо-Тихоокеанская комиссия по рыболовству (NPFС, <https://www.npfc.int>), регулирующая здесь добычу биоресурсов, в 2018 г. признала отсутствие необходимой научной информации по оценке степени уникальности и возможности восстановления таких экосистем, призвав заинтересованные страны интенсифицировать научные исследования. В качестве основных характеристик уникальности и уязвимости глубоководных экосистем в местах потенциального природопользования рассматривается наличие медленно восстанавливающихся сообществ губок (Hexactinellidae) и восьмилучевых кораллов (Octocorallia) (“губочные луга” и “коралловые сады”), поддерживающих высокое биоразнообразие и дающих убежище молодым промысловым рыбам и беспозвоночным. Это так называемые индикаторные группы, уже использующиеся, например, Северо-Атлантической комиссией по рыболовству (NEAFC) в зоне активного международного промысла над Срединно-Атлантическим хребтом [45]. В экспедициях, организованных ННЦМБ ДВО РАН, с помощью ТНПА “Команч” были описаны донные ландшафты и сообщества гидробионтов на гайотах Суйко, Нинтоку, Оджин, Коко и горах Джингу и Милуоки в диапазоне глубин от 338 до 2242 м, проведено предварительное вертикальное зонирование их склонов. В работе Т.Н. Даутовой с соавторами [45] подробно описано разнообразие кораллов и губок; на склонах гайота Коко и к югу от него обнаружены и описаны масштабные “коралловые сады” из горгонарий, а на склонах горы Джингу – обширные “луга” из крупных стебельчатых и воронковидных губок (“губочные луга”). На примере возвышенностей хребта впервые показано изменение фауны кораллов в широтном направлении.

Помимо кораллов и губок на склонах гайотов и гор Императорского хребта также отмечены сообщества образующих плотные скопления морских ежей (*Aspidodiadema* sp.), глубоководных голотурий (*Peniagone* sp.), морских лилий и офиур,

локальные группировки крабов *Chaceon imperialis*. Описаны новые виды морских организмов, выявлена высокая степень эндемизма гидробионтов на поднятиях хребта. Показана взаимосвязь разнообразия биотических комплексов с разнообразностью субстрата и особенностями течений вокруг и над возвышенностями хребта. Показано, что хребет выполняет важную биогеографическую функцию в формировании глубоководной биоты этого района Мирового океана. Вдоль цепи поднятий тропические и субтропические виды распространяются в северном направлении, а бореальные тихоокеанские виды могут смещаться в южном. В частности, было показано, что фауна гайотов Суйко и Нинтоку имеет бореальный генезис, Оджин-Джингу – смешанный, а Коко – тропический [45]. Как уже отмечалось, Императорский хребет – зона активного международного рыболовства. В ходе исследований с помощью ТНПА отмечено большое количество представителей ихтиофауны, в том числе важных промысловых видов. В настоящее время для отдельного тома Deep See Research Part II готовится серия статей по описанию экосистем и биоразнообразия Императорского хребта, выполненных в рамках проекта РАН.

Важно отметить, что массовые поселения губок и кораллов встречаются и непосредственно на кобальтоносных корках, мощность которых достаточна для долговременной рентабельной добычи. В то же время в местах скопления кораллов и губок обнаружены следы донных тралений, что недопустимо на таких участках морского дна. Информация по этим участкам на склонах возвышенностей Императорского хребта может служить для НРФС обоснованием принятия ограничений использования травмирующих ландшафты донных орудий лова и ограничения добычи биоресурсов только ярусным ловом. Для Международного органа по морскому дну данная информация служит основанием для ограничений в будущем возможной разработки месторождений полезных ископаемых в этом районе Мирового океана.

В рамках проекта РАН также изучены процессы биоаккумуляции микроэлементов представителями биоты глубоководных восстановительных биотопов Охотского и Берингова морей, проведены исследования влияния биотических и абиотических характеристик биотопов на биоаккумуляцию микроэлементов специализированной донной фауны. В ходе работ по изучению потоков вещества в глубоководных экосистемах проведены исследования трофического статуса массовых видов гидробионтов с использованием состава жирных кислот и соотношений стабильных изотопов азота и углерода как биогеохимических маркеров [39–41]. Показана высокая избиратель-

ность в питании глубоководных организмов, в значительной степени обеспечиваемая очень высокой продуктивностью поверхностных вод и наличием свежего фитодетрита для поддержания необходимого уровня полиненасыщенных жирных кислот, причём недостающие кислоты могут самостоятельно синтезироваться некоторыми глубоководными гидробионтами. Благодаря экспедициям ННЦМБ ДВО РАН в северо-западной Пацифике из глубоководных организмов уже открыты и описаны около 50 новых уникальных полиненасыщенных жирных кислот [40, 41].

В ходе комплексных исследований глубоководных экосистем северо-западной Пацифики силами консорциума выполнен широкий спектр молекулярно-генетических работ по изучению механизмов адаптации глубоководной биоты к среде обитания, особенностей репродуктивной биологии, а также биохимических характеристик уникальных биологически-активных соединений, выделенных из глубоководных гидробионтов.

Глубоководные экосистемы представляют собой экстремальные и необычные местообитания, обуславливающие появление новых структур органических соединений с высокой биологической активностью. Из глубоководных бактерий, морских грибов, губок, кишечнорастворимых, моллюсков и иглокожих выделены ранее неизвестные соединения, обладающие цитотоксическими, гемолитическими, антибактериальными, противовоспалительными, противоопухолевыми и противораковыми свойствами [47–51]. Установлено их полное химическое строение. В рамках отчётности по проекту РАН подготовлены и опубликованы подробные обзоры по результатам работ в области глубоководной фармакологии [13, 41, 51].

Уникальный биологический материал из наших глубоководных экспедиций, помимо музейных научных коллекций, размещён в центре коллективного пользования “Морской биобанк” при ННЦМБ ДВО РАН.

Исследования биоресурсного потенциала глубоководных экосистем, промысловых видов (рыб и беспозвоночных) и потенциальных новых биоресурсных объектов также выполнялись в интересах Росрыболовства в рамках действующего соглашения о сотрудничестве между федеральным агентством и Российской академией наук, подписанного руководителями этих организаций в 2019 г. Президент РАН и руководитель Росрыболовства утверждают на каждый год отдельную программу совместных исследований силами консорциума ВНИРО и группы научных институтов, функционирующих под научно-методическим руководством РАН. Работы продолжены в 2023 году.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Williamson M.* Marine biodiversity in its global context // *Marine Biodiversity. Patterns and Processes* / Eds. R.F.G. Ormond, J.D. Gage, M.V. Angel. Cambridge Univ. Press, 1999. P. 1–17.
2. *May R.M.* Bottoms up for the ocean // *Nature*. 1993. V. 357. P. 278–279.
3. *Bar-On Y.M., Phillips R., Milo R.* The biomass distribution on Earth // *PNAS*. 2018. V. 115 (25). P. 6506–6511. www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1711842115
4. *Адрианов А.В.* Современные проблемы изучения морского биоразнообразия // *Биология моря*. 2004. Т. 30. № 1. С. 3–19.
5. *Wilson R.W. et al.* Contribution of Fish to the Marine Inorganic Carbon Cycle // *Science*. 2009. V. 323. P. 359–362.
6. *Irigoien X., Klevjer T.A., Rostad A. et al.* Large mesopelagic fishes biomass and trophic efficiency in the open ocean // *Nature Communications*. 2014. V. 5. Art. 3271. <https://doi.org/10.1038/ncomms4271>
7. *Proud R., Handegard N.O., Kloser R.J. et al.* From siphonophores to deep scattering layers: uncertainty ranges for the estimation of global mesopelagic fish biomass // *ICES Journal of Marine Sciences*. 2019. V. 76. № 3. P. 718–733. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsy037>
8. *Hidalgo M., Browman H.* Developing the knowledge base needed to sustainably manage mesopelagic resources // *ICES Journal of Marine Sciences*. 2019. V. 76. № 3. P. 609–615. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsz067>
9. *Musilova Z., Cortesi F., Matschiner M. et al.* Vision using multiple distinct rod opsins in deep-sea fishes // *Science*. 2019. V. 364. P. 588–592. <https://doi.org/10.1126/science.aav4632>
10. Проблемы и перспективы освоения биоресурсов Мирового океана в интересах российской экономики // *Аналитический вестник*. № 25(739). Аналитическое управление Аппарата Совета Федерации ФС РФ. М., 2019.
11. *Vereshchaka A.L., Lunina A.A., Sutton T.* Assessing Deep-Pelagic Shrimp Biomass to 3000 m in The Atlantic Ocean and Ramifications of Upscaled Global Biomass // *Scientific Reports*. 2019. V. 9. Art. 5946. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42472-8>
12. *Skropeta D., Wei L.* Recent advances in deep-sea natural products // *Natural Products Report*. 2014. V. 18. P. 54–57. <https://doi.org/10.1039/c3np/0118b>
13. *Katanaev V.I., Falco S.D., Khotimchenko Y.S.* The Anticancer Drug Discovery Potential of marine Invertebrates from Russian Pacific // *Marine Drugs*. 2019. V. 17. Art. 474. <https://doi.org/10.3390/md17080474>
14. Геология будущего. Освоение ресурсов Мирового океана. Росгеология, 2018. www.rosgeo.com
15. *Bardi U.* Extracting Minerals from Seawater: An Energy Analysis // *Sustainability*. 2010. № 2. P. 980–992. <https://doi.org/10.3390/su20140980>
16. *Морозов Е.Г.* Краткие итоги антарктической экспедиции 2021–2022 гг. 87-й рейс НИС “Академик Мстислав Келдыш” // *Океанологические исследования*. 2022. Т. 50. № 1. С. 126–128.
17. *Malyutina M.V., Brandt A.* Introduction to SoJaBio (Sea of Japan Biodiversity Studies) // *Deep-Sea Research Part II*. 2013. V. 86–87. P. 1–9.
18. *Adrianov A.V., Ivin V.V., Malyutina M.V.* Deep-sea investigations of the A.V. Zhirmunsky Institute of Marine Biology, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences // *Proceedings of the Russian-German Workshop “Future Vision II” – Deep-sea Investigations in the Northwestern Pacific, Vladivostok, Russia, September 6–12, 2013*. Vladivostok: Dalnauka. P. 15–20.
19. *Brandt A., Malyutina M.V.* The German-Russian deep-sea expedition KuramBio (Kurile Kamchatka biodiversity studies) on board of the RV Sonne in 2012 following the footsteps of the legendary expeditions with RV Vityaz // *Deep-Sea Research Part II*. 2015. V. 111. P. 1–9.
20. *Brandt A., Elsner N., Brenke N. et al.* Abyssal macrofauna of the Kuril-Kamchatka Trench area collected by means of a camera-epibenthic sledge (Northwest Pacific) // *Deep Sea Research Part II*. 2015. V. 111. P. 175–188. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2014.11.002>
21. *Adrianov A.V., Ivin V.V., Malyutina M.V.* Deep-sea investigations in the North-West Pacific: marine expeditions of the A.V. Zhirmunsky Institute of Marine Biology FEB RAS // *Unique Marine Ecosystems: Modern Technologies of Exploration and Conservation for Future Generations*. Abstracts of International Conference, August 4–7, 2016. Vladivostok, Russia. P. 9–12.
22. *Malyutina M.V., Chernyshev A.V., Brandt A.* Introduction to the SokhoBio (Sea of Okhotsk Biodiversity Studies) expedition 2015 // *Deep-Sea Research Part II*. 2018. V. 154. P. 1–9.
23. *Brandt A., Brix S., Riehl T., Malyutina M.V.* Biodiversity and biogeography of the abyssal and hadal Kuril-Kamchatka trench and adjacent NW Pacific deep-sea regions // *Progress in Oceanography*. 2020. V. 181. Art. 102232.
24. *Grassle J.F., Maciolek N.J.* Deep-sea richness: Regional and local diversity estimates from quantitative bottom samples // *American Naturalist*. 1992. V. 139. P. 313–341.
25. *May R.M.* Conceptual aspects of the quantification of the extent of biological diversity // *Philosophical transactions of the Royal Society of London, Series B*. 1994. V. 345. P. 13–20.
26. *Poore G.C.B., Wilson G.D.F.* Marine species richness // *Nature*. 1993. V. 361. P. 597–598.
27. *Rex M.A., Stuart C.T., Hessler R.P. et al.* Global-scale latitudinal patterns of species diversity in the deep-sea benthos // *Nature*. V. 365. P. 636–639.
28. *Snelgrove P.V.P.* Marine sediments // *Encyclopedia of biodiversity*. N.Y: Academic Press. 2001. V. 4. P. 71–84.

29. Кулинич Р.Г., Обжиров А.И. Барит-карбонатная минерализация, аномалии метана и геофизические поля во впадине Дерюгина (Охотское море) // Тихоокеанская геология. 2003. Т. 22. № 4. С. 35–40.
30. Астахов А.С., Ивин В.В., Карнаух В.Н. и др. Современные геологические процессы и условия формирования баритовой залежи в котловине Дерюгина Охотского моря // Геология и геофизика. 2017. Т. 58. № 2. С. 200–214. <https://doi.org/10.15372/GiG20170202>
31. Семакин В.П., Кочергин А.В., Путьина Т.И. Глубинное строение глубоководных впадин Охотского моря // Геодинамика и тектонофизика. 2018. Т. 9. № 1. С. 109–122. <https://doi.org/10.5800/GT-2018-9-1-0340>
32. Kharlamenko V.I., Kiyashko S.I., Sharina S.N. et al. An ecological study of two species of chemosymbiotic bivalve molluscs (Bivalvia: Vesicomidae: Pliocardinae) from the Deryugin Basin of the Sea of Okhotsk using analyses of the stable isotope ratios and fatty acid compositions // Deep Sea Research Part I. 2019. V. 150. Art. 103058. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2019.06.004>
33. Karaseva N., Gantsevich M., Obzhirov A. et al. Correlation of the siboglinid (Annelida: Siboglinidae) distribution to higher concentrations of hydrocarbons in the Sea of Okhotsk // Marine Pollution Bulletin. 2020. V. 158. Art. 111448. <https://doi.org/10/1016/j.marpolbul.2020.111448>
34. Rybakova E., Krylova E., Mordukhovich V. et al. Mega- and macrofauna of the hydrothermally active submarine Piip Volcano (the southwestern Bering Sea) // Deep Sea Research Part II. 2023. V. 208. Art. 105268. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2023.105268>
35. Сагалевиц А.М., Торохов П.В., Матвеевков В.В. и др. Гидротермальные проявления подводного вулкана Пийпа (Берингово море) // Изв. РАН. Серия геол. 1992. № 9. С. 104–114.
36. Галкин С.В., Сагалевиц А.М. Гидротермальные экосистемы Мирового океана. Исследования с глубоководных аппаратов “Мир”. М.: ГЕОС, 2012.
37. Galkin S.V., Mordukhovich V.V., Krylova E.M. et al. Comprehensive research of ecosystems of hydrothermal vents and cold seeps in the Bering Sea (Cruise 82 of the R/V Akademik M.A. Lavrentyev) // Oceanology. 2019. V. 59. P. 618–621. <https://doi.org/10.1134/S0001437019040052>
38. Rybakova E., Galkin S., Gebruk A. et al. Vertical distribution of megafauna on the Bering Sea slope based on ROV survey // PeerJ. 2020. V. 8. Art. e8628. <https://doi.org/10.7717/peerj.8628>
39. Mordukhovich V.V., Krylova E.M., Dando P.R. Introduction. Seeps and vents of the Bering Sea // Deep-Sea Research Part II. 2023. V. 209. Art. 105290.
40. Kharlamenko V.I. Abyssal foraminifera as the main source of rare polyunsaturated fatty acids in deep-sea ecosystems // Deep-Sea Research Part II. 2018. V. 154. P. 374–382.
41. Svetashev V.I. Investigation of Deep-Sea Ecosystems Using Marker Fatty Acids: Sources of Essential Polyunsaturated Fatty Acids in Abyssal Megafauna // Marine Drugs. 2022. V. 20. Art. 17. <https://doi.org/10.3390/md20010017>
42. Rodkina S.A., Kiyashko S.I., Mordukhovich V.V. Diet of deep-sea holothurians in the Volcanologists Massif, Bering Sea, as inferred from stable isotope and fatty acid analyses // Deep Sea Research Part II. 2023. V. 208. Art. 105266. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2023.105266>
43. Deep-sea benthic fauna and communities in the vicinity of methane seeps and hydrothermal vents in the Bering Sea / Mordukhovich V., Krylova E., Dando P., eds. <https://www.sciencedirect.com/journal/deep-sea-research-part-ii-topical-studies-in-oceanography/special-issue/104SZFTQ70Z> (дата обращения 15.08.2023).
44. Rybakova E., Krylova E., Mordukhovich V. et al. Methane seep communities on the Koryak slope in the Bering Sea // Deep-Sea Research Part II. 2022. V. 206. Art. 105203.
45. Даутова Т.Н., Галкин С.В., Табачник К.Р. и др. Первые сведения о структуре уязвимых морских экосистем Императорского хребта – индикаторные таксоны, ландшафты, биогеография // Биология моря. 2019. Т. 45. № 6. С. 374–383.
46. Михайлик П.Е., Ханчук А.И., Михайлик Е.В. и др. Самородное золото в железомарганцевых корках гайота Детройт (Императорский хребет, Тихий океан) // Вестник ДВО РАН. 2014. Т. 4. С. 13–24.
47. Dyshlovoy S.A., Kudryashova E.K., Kaune M. et al. Uropocidin C: a new marine guanidine alkaloid which selectively kills prostate cancer cells via mitochondria targeting // Scientific Reports. 2020. V. 10. Art. 9764.
48. Silchenko A.S., Avilov S.A., Kalinin V.I. Separation procedures for complicated mixtures of sea cucumber triterpene glycosides with isolation of individual glycosides, their comparison with HPLC/MS metabolomic approach, and biosynthetic interpretation of the obtained structural data // Studies in Natural Product Chemistry / Ed. Rahman A.U., Elsevier B.V. Amsterdam, The Netherlands, 2022. V. 72. P. 103–146.
49. Kalinin V.I., Silchenko A.S., Avilov S.A., Stonik V.A. Progress in the studies of triterpene glycosides from sea cucumbers (Holothuroidea, Echinodermata) between 2017 and 2021 // Natural Product Communications. 2021. V. 16 (10). P. 1–24. <https://doi.org/10.1177/1934578X211053934>
50. Ponomarenko A., Tyrtysheva A., Ivashkevich D. et al. Synaptamide modulates astroglial activity in mild traumatic brain injury // Marine Drugs. 2022. V. 20. Art. 538. <https://doi.org/10.3390/md20080538>
51. Khotimchenko Y.S., Silachev D.N., Katanaev V. Marine natural products from the Russian Pacific as sources of drugs for neurodegenerative diseases // Marine Drugs. 2022. V. 20 (11). Art. 708. <https://doi.org/10.3390/md20110708>

BIODIVERSITY AND BIORESOURCES OF DEEP-SEA ECOSYSTEMS OF THE NORTHWESTERN PACIFIC

A. V. Adrianov^{1,2,#} and V. V. Mordukhovich^{1,3,##}

¹*A. V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology, Vladivostok, Russia*

²*Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

³*Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia*

[#]*E-mail: avadr@mail.ru*

^{##}*E-mail: vvmara@mail.ru*

Modern problems of the investigation of marine biodiversity and bio-resources and their inventory in the deep-sea of the World Ocean are considered. The discussion of these problems is also based on the data of a series of deep-water marine expeditions of the National Scientific Center of Marine Biology of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences (NSCMB FEB RAS) in the deepest areas of the Far Eastern Seas and adjacent waters of the North-West Pacific. New results of a series of the deep-sea expeditions within the special RAS Project “Fundamental problems of investigation and conservation of the deep-sea ecosystems in the potentially ore-reach areas in the North-West Pacific” are briefly introduced and discussed (project of RAS № 3.1902.21.0012). Several “unique” deep-sea ecosystems found in the ore bearing sites and the active fishing areas in the North-West Pacific are described. Some safety opportunities for these “unique” ecosystems and possible limitations in the use of dangerous mining and fishing techniques disturbing deep-sea landscapes are considered, including various conservation statuses.

Keywords: marine biodiversity, bio-resources, mineral resources, deep-sea mining, deep-sea ecosystems, deep-sea landscapes, deep-sea protected areas.

ПРИОНЫ И АМИЛОИДЫ КАК ПРОСТРАНСТВЕННЫЕ МАТРИЦЫ ПРОТЕОМА

© 2023 г. С. Г. Инге-Вечтомов^{a,b,*}, А. П. Галкин^{a,b,**}, Г. А. Журавлёва^{a,***},
А. А. Нижников^{a,c,****}, С. П. Задорский^{a,b,*****}

^aСанкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

^bСанкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Санкт-Петербург, Россия

^cВсероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Пушкин, Россия

*E-mail: ingevechtomov@gmail.com

**E-mail: a.galkin@spbu.ru

***E-mail: g.zhuravleva@spbu.ru

****E-mail: a.nizhnikov@spbu.ru

*****E-mail: s.zadorsky@spbu.ru

Поступила в редакцию 28.04.2023 г.

После доработки 30.07.2023 г.

Принята к публикации 10.08.2023 г.

Исследования амилоидов до недавнего времени были направлены исключительно на выявление их роли в возникновении опасных заболеваний человека и животных. Однако они широко распространены в природе и участвуют в регуляции жизненно важных процессов у представителей всех трёх доменов живого мира: архей, бактерий и эукариот. Дискуссионным остаётся вопрос о биологической значимости особого класса амилоидов — прионов. Открытие новых функциональных амилоидов обусловлено развитием биоинформатических и протеомных методов идентификации белков, формирующих амилоиды. В обзоре представлен путь от изучения патологических амилоидных образований к исследованию адаптивных амилоидов у бактерий, растений и животных. Показана важность амилоидной структуры, основанной на принципе матричного копирования конформации, как одной из важнейших форм надмолекулярной организации белков.

Ключевые слова: амилоиды, прионы, конформационные матрицы, матричные процессы I и II рода, трансляция.

DOI: 10.31857/S0869587323090074, EDN: SQXVLD

Амилоиды как конформационные матрицы. Амилоиды — белковые фибриллярные агрегаты, обладающие особой кросс- β -структурой. Отли-

чительная черта амилоидных фибрилл — способность к росту за счёт присоединения новых мономеров белков, формирующих амилоиды. Присоединение мономера к амилоидной фибрилле сопровождается изменением его конформации. После присоединения она соответствует конформации других мономеров в составе фибриллы. Таким образом, амилоидные фибриллы служат конформационными (пространственными) матрицами для такого изменения [1–3].

ИНГЕ-ВЕЧТОМОВ Сергей Георгиевич — академик РАН, профессор кафедры генетики и биотехнологии СПбГУ, научный руководитель СПбФ ИОГен РАН. ГАЛКИН Алексей Петрович — доктор биологических наук, профессор кафедры генетики и биотехнологии СПбГУ, директор СПбФ ИОГен РАН. ЖУРАВЛЁВА Галина Анатольевна — доктор биологических наук, профессор кафедры генетики и биотехнологии и лаборатории биологии амилоидов СПбГУ. НИЖНИКОВ Антон Александрович — профессор РАН, заведующий лабораторией протеомики надорганизменных систем ВНИИСХМ, профессор СПбГУ. ЗАДОРСКИЙ Сергей Павлович — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник СПбГУ, старший научный сотрудник лаборатории мутагенеза и генетической токсикологии СПбФ ИОГен РАН.

Открытие и изучение амилоидов, в том числе их особого класса — прионов, отличающихся инфекционными свойствами и в ряде случаев способностью к наследованию, позволили модифицировать формулировку центральной догмы молекулярной биологии, описывающей доступные пути реализации генетической информации в живой клетке [4]. Согласно модифицированной

версии догмы, реализация генетической информации осуществляется через матричные процессы I рода (репликация, транскрипция, трансляция) и II рода, в которых участвуют не линейные, а пространственные (белковые) матрицы. В случае последних происходит копирование не первичной структуры белков, а их конформации [2, 5].

Изначально интенсивное изучение амилоидов было связано с их ролью в развитии ряда тяжёлых и, как правило, неизлечимых заболеваний человека и животных — амилоидозов [1, 6–8]. Однако начиная с 2000-х годов накопился большой массив данных, подтверждающих широкое распространение амилоидов в живой природе и их участие в осуществлении и регуляции различных жизненно важных процессов в клетке и организме [1, 9, 10].

Согласно современным молекулярно-биологическим представлениям, амилоидные агрегаты — упорядоченные фибриллярные белковые структуры, состоящие из межмолекулярных бета-складчатых слоёв, стабилизированных многочисленными водородными связями. Рост амилоидного олигомера (матрицы II рода) за счёт присоединения новых мономеров белка, изменяющих при этом свою конформацию, приводит к образованию протофибрилл, которые затем объединяются в фибриллы и крупные амилоидные агрегаты. Упорядоченность амилоидных агрегатов определяется тем, что межмолекулярные связи возникают между одними и теми же последовательностями взаимодействующих мономеров. Переход в амилоидную конформацию обычно сопровождается резким увеличением доли бета-слоёв во вторичной структуре белка [7, 11].

Уникальная структура амилоидных агрегатов определяет их исключительные физико-химические свойства: с одной стороны, повышенную устойчивость к различным воздействиям (в частности, к действию ионных детергентов, протеаз, повышенных температур), с другой — гибкость, эластичность и в ряде случаев способность к регулируемой сборке и разборке, что позволяет непатологическим амилоидам участвовать в выполнении структурной, защитной, запасующей и других жизненно важных функций [9, 10]. Необычайная устойчивость амилоидных агрегатов к повреждающим факторам, способность к самоорганизации и росту за счёт воспроизведения амилоидной конформации, а также (в случае некоторых амилоидов) к взаимодействию с нуклеиновыми кислотами, их защите от деградации позволяют предположить, что они могли играть важную роль на первых этапах возникновения жизни [12].

Амилоидозы. Актуальность исследования амилоидов в первую очередь связана с тем, что они могут способствовать развитию неизлечимых со-

циально значимых заболеваний, многие из которых называют амилоидозами. В настоящее время ассоциация с образованием амилоидных агрегатов установлена для более чем 40 заболеваний человека, поражающих различные органы и системы. Наиболее известные среди них — нейродегенеративные заболевания, такие как болезни Альцгеймера, Паркинсона, Хантингтона и др. [1, 7].

Амилоидозы могут быть системными и локальными и поражать почки, лёгкие, сердце, печень, головной мозг и т.д. Различают три их основных типа: спорадические, наследственные и инфекционные. Инфекционные (прионные) заболевания связаны с проникновением в организм с пищей или иным путём и последующим “размножением” чужеродных фибрилл прионного белка PrP^{Sc} (Scrapie Prion Protein) [6]. Причиной наследственных амилоидозов служат мутации, способствующие патологическому накоплению и (или) агрегации амилоидогенных белков. Спорадические амилоидозы — наиболее распространённая форма, их доля составляет примерно 95%. Причины их возникновения — предмет научных дискуссий и активных исследований.

Анализ данных по всем известным спорадическим амилоидозам человека показал, что в подавляющем большинстве случаев основными факторами риска возникновения этих заболеваний служат различные стрессовые воздействия, в частности, хронические инфекции, рак, нарушение кровоснабжения и травмы [13]. Более того, разные типы стресса вызывают либо сверхпродукцию, либо модификацию амилоидогенных белков, что индуцирует их патологическую агрегацию. Таким образом, при спорадических амилоидозах формирование цитотоксических фибрилл оказывается не первопричиной заболевания, а одним из важных элементов патологического каскада. Кроме того, вероятность развития многих амилоидозов чётко коррелирует с возрастом. Например, частота возникновения таких распространённых заболеваний, как болезни Альцгеймера и Паркинсона, связанных с накоплением цитотоксических фибрилл бета-амилоида (A β) и альфа-синуклеина соответственно, экспоненциально увеличивается с возрастом. По всей вероятности, защитные системы организма, эффективно функционирующие у молодых людей, перестают работать в пострепродуктивный период, что приводит к накоплению, модификациям и агрегации потенциально амилоидогенных белков [13].

Прионы (от “proteinaceous infectious particles”) представляют собой особый класс амилоидов — инфекционные амилоиды. Их главное отличительное свойство — способность к инфицированию клеток (организмов), изначально не несущих прион. Очевидно, главным фактором, обуслов-

ливающим распространение прионных инфекций у млекопитающих, служит способность прионных частиц к размножению в организме хозяина, что подразумевает возможность расщепления прионных агрегатов на более мелкие фрагменты и, следовательно, увеличение числа инфекционных частиц (“семян” приона). В случае неинфекционных амилоидов новые амилоидные олигомеры и агрегаты образуются независимо от предсуществующих, при этом процесс амилоидогенеза включает только образование амилоидных агрегатов *de novo* и их рост [8, 14].

Прион Prp^{Sc}, вызывающий ряд неизлечимых нейродегенеративных заболеваний человека и других млекопитающих, представляет собой агрегированную форму нормального клеточного белка PrP (Prp^C) [6]. Частицы PrP^{Sc} после попадания в организм не расщепляются ферментами желудочно-кишечного тракта, проникают в фолликулярные дендритные клетки и запускают конформационные изменения белка PrP организма хозяина. Далее эти фибриллярные частицы через клетки периферической нервной системы транспортируются в мозг и запускают процесс нейродегенерации [15]. Прионная конверсия белка PrP вызывает болезнь кúру, связанную с ритуальным каннибализмом, болезни Крейтцфельда–Якоба, Герстмана–Штраусслера–Шейнкера, фатальную семейную бессонницу у людей и сходные заболевания млекопитающих. К этой же группе относятся коровье бешенство, или губчатая энцефалопатия крупного рогатого скота (BSE, Bovine Spongiform Encephalopathy), способная развиваться у человека при поедании мяса заражённых животных [6]. Прионные свойства также выявлены экспериментально для белка альфа-синуклеина, агрегация которого ассоциирована с болезнью Паркинсона, однако, в отличие от частиц PrP^{Sc}, прионные фибриллы альфа-синуклеина, вероятно, не передаются естественным путём [8].

Генетический контроль трансляции и прионы дрожжей. Пониманию механизмов, лежащих в основе амилоидо- и прионогенеза, в немалой степени помогло исследование прионов низших эукариот, в частности пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и других грибов. У этих одноклеточных организмов прионы являются нехромосомными наследственными детерминантами белковой природы. Согласно одному из распространённых определений, прионы – инфекционные изоформы белков, способные к автокаталитическому воспроизведению [16]. Обычно прионными свойствами обладает определённый конформационный вариант нормального клеточного белка, образующий амилоидные агрегаты, которые служат конформационными матрицами для присоединения и укладки подобных белков.

Переход белков в прионную форму (прионизация), как правило, приводит к изменению их функциональной активности и возникновению различных фенотипов, которые наследуются в ряду поколений. Этот феномен получил название “белковая наследственность”, то есть наследование признаков, определяемых изменением конформации белка, без изменения нуклеотидной последовательности гена, кодирующего этот белок. При переходе белка в прионную форму его активность часто снижается, в результате клетка может приобретать фенотип, характерный для мутанта по соответствующему гену. В то же время в ряде случаев прионные агрегаты могут выполнять какие-либо новые функции в клетке, что приводит к появлению новых фенотипов, несвойственных соответствующим мутантам [16].

Сегодня известно около 10 прионов дрожжей-сахаромицетов и других низших эукариот [16, 17], а сама история изучения дрожжевых прионов началась с открытия Б. Коксом в 1965 г. нехромосомного наследственного детерминанта [*PSI*⁺], повышающего эффективность прочтения кодонов-терминаторов как значащих в ходе трансляции мРНК, что приводит к подавлению проявления нонсенс-мутаций [18]. Природа фактора [*PSI*⁺] оставалась загадкой в течение почти 30 лет. Лишь в начале 1990-х годов появились экспериментальные данные, позволившие идентифицировать [*PSI*⁺] как прионную форму белка Sup35 – дрожжевого фактора терминации трансляции [16].

Большую роль в идентификации природы [*PSI*⁺] сыграли исследования генетического контроля трансляции, проводимые на кафедре генетики и селекции Ленинградского (ныне – Санкт-Петербургского) государственного университета. История изучения гена *SUP35* – структурного гена фактора [*PSI*⁺], и функционально связанного с ним гена *SUP45* у *S. cerevisiae* насчитывает более 50 лет. В 1964 г. в лаборатории физиологической генетики ЛГУ получены мутации, которые приводили к супрессии нонсенс-мутаций всех трёх типов, или omnipotentной супрессии. Позднее аналогичные мутации были изолированы в других лабораториях мира, а соответствующие им гены названы *SUP35* и *SUP45* [19].

Мутации в генах *SUP35* и *SUP45* приводили к рецессивной omnipotentной супрессии, аллосупрессии, нарушениям клеточного цикла, а также многочисленным плейотропным эффектам. Данные генетических и биохимических исследований, накопленные к началу 1990-х годов, позволили прийти к выводу, что продукты генов *SUP35* и *SUP45* участвуют в контроле точности трансляции. Хотя ещё в ранних работах предполагалось участие белков Sup35 и Sup45 в терминации

трансляции, отсутствие гомологии с факторами терминации трансляции прокариот, а также антисупрессорного эффекта при сверхэкспрессии не давали возможности отнести их к факторам терминации трансляции. Предполагалось, что эти белки могут играть вспомогательную роль в терминации трансляции, взаимодействуя с её факторами или рибосомами [19]. В 1994 г. в лаборатории Л.Л. Киселёва совместно с рядом зарубежных лабораторий было установлено, что белок Sup45 является фактором терминации трансляции, способным узнавать стоп-кодона. Он получил название eRF1 и вместе с бактериальными белками RF1 и RF2 был отнесён к факторам терминации 1 класса. Данные, существенные для установления роли белка Sup35 как фактора терминации eRF3, получены годом позже [20, 21].

В конце 1980-х — начале 1990-х годов на кафедре генетики и селекции ЛГУ (СПбГУ) получены парадоксальные на тот момент данные: несмотря на то, что белок Sup35 является фактором терминации трансляции, его сверхпродукция приводит к нонсенс-супрессорному эффекту, то есть снижает эффективность терминации трансляции. Более того, у части клеток этот эффект сохранялся после окончания сверхпродукции Sup35 и стабильно наследовался в ряду поколений, но исчезал после инкубации таких клонов на среде с гидрохлоридом гуанидина — агентом, изгоняющим фактор [*PSI*⁺]. Таким образом, сверхпродукция белка Sup35 приводила к возникновению фактора [*PSI*⁺] [17]. На основании этих данных Р. Викнер выдвинул гипотезу о том, что цитоплазматический детерминант [*PSI*⁺] представляет собой прионную форму белка Sup35. Одновременно учёный предположил, что другой неменделевский детерминант дрожжей [*URE3*] — это прионная форма транскрипционного регулятора Ure2. Обе версии впоследствии подтвердились [16].

Исследования кафедры генетики и селекции СПбГУ под руководством С.Г. Инге-Вечтомова и лаборатории М.Д. Тер-Аванесяна позволили также выделить в составе белка Sup35 домен, отвечающий за образование и поддержание его прионной формы. Белки Sup35 большинства эукариот, за исключением некоторых простейших, имеют трёхдоменную структуру [19]. Показано, что N-домен дрожжевого белка Sup35 — не жизненно важный, однако требуется для прионизации Sup35 с образованием приона [*PSI*⁺]. M-домен участвует в поддержании приона в ряду клеточных делений. C-концевой домен необходим и достаточен для участия белка Sup35 в терминации трансляции [14]. N-терминальный домен Sup35 отличается необычным аминокислотным составом. У дрожжей *S. cerevisiae* он характеризуется высоким содержанием остатков Q и N (45% по

сравнению со средним значением 10% для протеома дрожжей), а также G и Y (33% по сравнению со средним значением 8%). Домен содержит два субдомена, которые обуславливают прионоподобные свойства этого белка: QN-богатый район (аминокислоты, ак 6–33) и OR — участок олигопептидных повторов (ак 41–97). Присутствие последних (консенсус PQGGYQQ-YN), напоминающих по составу повторы в белке PrP млекопитающих (консенсус PHGGGWGQ), — одно из наиболее интересных свойств N-терминального домена Sup35. Способность Sup35 к прионизации ограничена только почкующимися дрожжами и, по-видимому, объясняется присутствием QN- и OR-участков, отсутствующих у гомологов Sup35 из других организмов [22].

Именно последовательность N-терминального домена позволяет подразделить гомологов eRF3 млекопитающих на два подсемейства. К первому относятся белки GSPT1 (или eRF3a), ко второму — белки GSPT2 (eRF3b) [19]. Хотя N-терминальные домены белков семейства eRF3 млекопитающих не проявляют значительного сходства с соответствующими доменами у низших эукариот, они тоже характеризуются необычным аминокислотным составом. Например, N-домены белка GSPT1 мыши и человека обогащены остатками P, S и G (10%, 15% и 20% соответственно). Вместо QN-участка и олигопептидных повторов, присутствующих в N-доме белка Sup35 дрожжей, субдомен N1 GSPT1 мыши, крысы и человека содержит протяжённые глициновые повторы и глицин-сериновые тракты.

Доказательством функциональной значимости N-терминального домена служит его сохранение в ходе эволюции. У всех секвенированных гомологов eRF3 (за исключением *Giardia lamblia*) присутствует N-терминальный домен. Предполагается, что он может участвовать в образовании комплекса терминации трансляции, а также во взаимодействии с другими белками [22]. Некоторые из белков, взаимодействующих с Sup35 (например, Sla1 и Upf1), могут влиять на его агрегацию [16, 17]. В то же время для многих белков, влияющих на агрегацию, прямое взаимодействие с Sup35 не доказано. Также возможно, что некоторые белки, контактирующие с растворимым Sup35, не способны взаимодействовать с его агрегированной формой [23].

Подобно приону млекопитающих PrP^{Sc}, для которого свойственно присутствие различных штаммов [6, 11], в случае приона [*PSI*⁺] также обнаружены разные варианты, которые отличаются друг от друга по структуре агрегатов, стабильности, эффективности супрессии и другим характеристикам [3, 24].

Различные прионы способны взаимодействовать друг с другом в клетках дрожжей, что может проявляться как стимуляция или, наоборот, ингибирование возникновения или поддержания одного приона в присутствии другого. Так, возникновение приона $[PSI^+]$ при сверхпродукции белка Sup35 или его делеционных вариантов, содержащих N-домен, возможно только в присутствии другого приона – $[PIN^+]$ (от “Psi Inducible”) – агрегированной формы белка Rnq1, или других прионов, функционально замещающих $[PIN^+]$. С другой стороны, присутствие приона $[PSI^+]$ негативно влияет на возникновение $[URE3]$ при сверхпродукции белка Ure2.

Имеющиеся данные говорят о разнообразии влияния прионов друг на друга, при этом характер такого влияния может отличаться для разных вариантов (штаммов) прионов [24, 25]. Кроме того, в рамках концепции белковой наследственности описан феномен “полиприонного” наследования признаков: белки Swi1 и Rnq1, в норме не взаимодействующие друг с другом, в прионной форме могут взаимодействовать, что приводит к появлению нового фенотипа – нонсенс-супрессии [26]. Таким образом, по аналогии с моногенным и полигенным наследованием, в рамках концепции белковой наследственности выделяются типы моноприонного и полиприонного наследования [27].

Исследования с использованием модели дрожжевого приона $[PSI^+]$ оказались чрезвычайно полезны для понимания механизмов поддержания и распространения прионов, роли белков шаперонов в этом процессе и основных отличий инфекционных амилоидов (прионов) от неинфекционных. Показано, что на поддержание приона $[PSI^+]$ влияют многочисленные белки шапероны. Прежде всего необходим промежуточный уровень шаперона Hsp104. Делеция гена *HSP104*, а также ингибирование белка Hsp104 с помощью химических агентов, таких как гидрохлорид гуанидина, приводит к изгнанию $[PSI^+]$. Этот шаперон также необходим для поддержания других дрожжевых прионов [17]. Hsp104 участвует в расщеплении амилоидных фибрилл прионных белков на более мелкие фрагменты (прионные “семена” или пропагоны), которые затем могут быть переданы дочерним клеткам при делении. Именно образование прионных “семян” необходимо для инфекционности/наследуемости амилоидов. Эта гипотеза впервые сформулирована в лаборатории М.Д. Тер-Аванесяна [14]. Для правильной работы белка Hsp104 необходимо участие молекулярных шаперонов, входящих в группы Hsp90, Hsp70 и Hsp40. Из последней группы наиболее важен для поддержания приона $[PSI^+]$

белок Sis1 [28]. Кроме шаперонов, в поддержании прионов принимают участие внутриклеточные факторы сортировки белков (Cur1, Btn2 и Hsp42), а также ряд других белков [28, 29].

До сих пор активно обсуждается вопрос о том, могут ли прионы дрожжей и других низших эукариот быть полезными для клеток-хозяев (по крайней мере при определённых условиях окружающей среды) или являются “молекулярными” болезнями, скорее вредными для клеток. Сравнение скорости роста нескольких штаммов $[PSI^+]$ и $[psi^-]$ показало, что фактор $[PSI^+]$ не влияет на скорость роста клеток дрожжей при обычных условиях культивирования в лаборатории [30]. В то же время систематическое сопоставление фенотипа штаммов $[PSI^+]$ с изогенными штаммами $[psi^-]$ в различных условиях позволило предположить, что присутствие фактора $[PSI^+]$ в клетках дрожжей может обеспечивать селективные преимущества за счёт экспрессии псевдогенов или нетранслируемых в обычных условиях 3'-участков мРНК [31].

Согласно другой точке зрения, прион $[PSI^+]$ – “болезнь” содержащих его дрожжевых клеток [16]. По всей видимости, обе версии имеют право на существование, а соотношение пользы и вреда прионов зависит от генотипа клеток, несущих прион, и условий внешней среды. Последствия прионизации сходны с последствиями миссенс-мутаций – в обоих случаях происходят наследуемые изменения структуры и функциональной активности белка. Более того, прионизация обычно ведёт к инактивации белка и порой к приобретению новой функции. В соответствии с этим в большинстве случаев прионизация должна приводить к негативным последствиям, но иногда возникновение прионов может быть адаптивным. По крайней мере для одного приона низших эукариот, $[Het-S]$ гриба *Podospora anserina*, показано наличие функциональной роли – участие в контроле несовместимости гифов [32].

В поисках новых амилоидов: биоинформатика и экспериментальная протеомика. В последние годы обнаруживается всё больше белков, способных к образованию амилоидных фибрилл и выполняющих свою функцию в амилоидной форме. Функциональные амилоиды обнаружены почти во всех основных группах организмов. Среди многообразных функций амилоидов и амилоидоподобных белков можно отметить формирование биоплёнок у бактерий, регуляцию биогенеза и структуры клеточной стенки у дрожжей, участие в контроле оогенеза и сперматогенеза у позвоночных и беспозвоночных, регуляцию долговременной памяти, контроль полимеризации меланина у животных и др. [9, 10]. Прогресс в открытии

новых функциональных амилоидов и оценке распространённости этого феномена в живой природе в немалой степени связан с развитием биоинформатических и протеомных методов идентификации белков, формирующих амилоиды. Кратко рассмотрим некоторые из этих методов и приведём примеры недавно открытых функциональных амилоидов.

Идентификация каждого нового амилоида – весьма заметное событие, поскольку, несмотря на бурное развитие методологии исследования амилоидных свойств белков, включая высокоразрешающие методы структурного анализа [7], проблема поиска амилоидов в протеомах различных организмов сохраняет свою актуальность. К сожалению, в настоящее время не существует методов, которые позволяли бы выявить в каком-либо биологическом образце все белки, образующие амилоиды, однако существуют подходы, способные быстро и эффективно сузить круг поисков. Так, в последние годы создан целый ряд биоинформатических подходов, направленных на выявление в белках участков, склонных к амилоидогенезу. Участки можно разделить на две основные группы: обогащённые Q и/или N и обогащённые гидрофобными остатками. Именно обогащённость последовательностей структурных белков прионов дрожжей и некоторых патологических амилоидов млекопитающих Q и N стала особенностью, использованной в первой работе по биоинформатическому поиску амилоидоподобных белков в протеомах различных организмов [33].

Позже было разработано более 20 вычислительных методов, основанных на выявлении специфичных для амилоидных белков свойств первичной или пространственной структуры, машинном обучении, а также консенсусных подходов, сочетающих в себе несколько алгоритмов [34]. Существующие биоинформатические подходы не учитывают весь комплекс факторов, определяющих склонность белка к амилоидогенезу *in vivo*, таких как уровень продукции, внутри- и межмолекулярные взаимодействия, посттрансляционные модификации и локализация [34]. Вероятно, наиболее перспективны для дальнейшего совершенствования методологии предсказания амилоидных свойств алгоритмы, основанные на машинном обучении, однако их развитие существенно ограничено небольшим набором белков, амилоидные свойства которых экспериментально доказаны *in vivo*.

Большую роль в росте числа идентифицированных амилоидных белков играют появившиеся в последние годы методы экспериментальной протеомики. Разработана и успешно апробирована методология поиска и идентификации амилоидов в любых тканях, включающая протеомный

скрининг и иммунопреципитацию амилоидных фибрилл из исследуемых организмов [35].

Метод протеомного скрининга основан на универсальном свойстве амилоидных фибрилл – их высокой устойчивости к обработке при комнатной температуре такими ионными детергентами, как додецилсульфат натрия (sodium dodecyl sulfate, SDS). Большинство белковых агрегатов и комплексов при обработке 1% SDS диссоциируют до мономеров, тогда как амилоидные фибриллы остаются интактными. После обработки белкового лизата ионным детергентом фракция, содержащая высокомолекулярные амилоидные фибриллы, отделяется от прочих белков с помощью ультрацентрифугирования и после промывки обрабатывается трипсином. Пептиды идентифицируются с помощью масс-спектрометрии, что позволяет выявлять конкретные белки, представленные во фракции SDS-устойчивых высокомолекулярных агрегатов. Необходимо учитывать, что, помимо амилоидов, некоторые другие фибриллярные структуры и агрегаты также устойчивы к обработке ионными детергентами. Таким образом, этот метод не идентифицирует конкретные амилоиды, однако позволяет значительно сузить круг белков – кандидатов на роль амилоидов. Из списка выявленных в протеомном скрининге белков с помощью биоинформатических подходов и анализа литературных данных определяются наиболее перспективные кандидаты.

На следующем этапе с помощью первичных антител проводится иммунопреципитация одного из перспективных белков, выявленных с помощью протеомного скрининга. Затем белок за счёт кратковременного изменения кислотности отделяется от магнитных шариков и антител. Такой подход позволяет выделять из организма нативные амилоидные фибриллы, не разрушая их структуру. В конце проводится анализ структуры фибрилл с помощью электронной микроскопии, а также окрашивание амилоидспецифичными красителями [35].

Методологию успешно использовали для поиска и идентификации амилоидных белков в клетках дрожжей *S. cerevisiae* и мозге позвоночных животных. В частности, выявлен амилоидный белок FXR1 в нейронах головного мозга млекопитающих [36]. Всё это открывает новые перспективы для системного поиска и идентификации патологических и функциональных амилоидов у организмов с аннотированным геномом.

Амилоиды прокариот и их роль в формировании надорганизменных взаимодействий. История изучения амилоидов бактерий началась с классических исследований коллектива лаборатории М. Чапмана, в которых были продемонстрирова-

ны амилоидные свойства курлина CsgA – основного структурного компонента фибрий (ворсинок) Р-типа у *Escherichia coli* [37]. Позднее был опубликован ряд работ, позволивших выявить новые бактериальные амилоиды, выполняющие разнообразные функции, включая формирование биоплёнок, регуляцию активности токсинов, регуляцию транскрипции и преодоление поверхностного натяжения [9, 38].

Амилоиды, идентифицированные у архей, вовлечены в образование экстраклеточных оболочек и биоплёнок [38]. В настоящее время известно уже более 30 амилоидов прокариот, контролирующих взаимодействия “патоген–хозяин”, большинство из которых участвует в формировании биоплёнок различными микроорганизмами, обеспечивая их прикрепление к тканям хозяина и иным поверхностям и выступая в качестве факторов вирулентности [38]. Принимая во внимание тот факт, что число патогенных для человека видов бактерий превышает 1.5 тыс. и более 60% из них образуют биоплёнки [39], позволяющие им выживать при взаимодействии с хозяином, можно ожидать, что реальное число бактериальных амилоидов может превышать 1 тыс. При этом такие амилоиды являются функциональными для бактерий, продуцирующих их, и патогенными для многоклеточных хозяев [38].

Другой аспект, раскрывающий роль амилоидов прокариот в надорганизменных взаимодействиях, обнаружен недавно при изучении клубеньковых бактерий – группы альфапротеобактерий порядка *Rhizobiales*, имеющих большое значение для сельского хозяйства благодаря их способности фиксировать атмосферный азот в симбиозе с бобовыми, что в свою очередь позволяет существенно сократить дозы минеральных удобрений. Показано, что два белка (RopA и RopB) бактерии *Rhizobium leguminosarum*, имеющие предсказанную структуру поринов и локализацию в наружной мембране, образуют амилоидные фибриллы на поверхности бактериальных клеток, которые находятся в стационарной фазе [40]. Более того, такие же фибриллы были обнаружены на поверхности бактериоидов – выделенных из корневых клубеньков гороха дифференцированных клеток *R. leguminosarum*, осуществляющих фиксацию атмосферного азота [41]. Эти данные свидетельствуют в пользу вовлечённости амилоидов клубеньковых бактерий во взаимодействия с растением-хозяином, хотя их конкретную биологическую роль ещё предстоит установить.

В целом амилоиды прокариот обладают значительным разнообразием функций и опосредуют надорганизменные взаимодействия в системах “патоген–хозяин” и “симбионт–хозяин”.

Амилоиды растений: запасание белка в семенах и пищевая ценность растительных продуктов. Открытие амилоидов у растений – пример успешного применения биоинформатических подходов для предсказания возможных функций и локализации амилоидных белков. Несмотря на то, что амилоидные белки идентифицированы у архей, бактерий, грибов и животных, включая человека, растения до недавнего времени оставались белым пятном на “карте мира” амилоидов.

Масштабный биоинформатический скрининг, проведённый при помощи алгоритма SARP в протеомах многочисленных видов наземных растений с секвенированными геномами, показал, что белками растений, которые наиболее обогащены участками, склонными к амилоидогенезу, являются запасные белки с консервативными доменами CUPIN [42]. Экспериментальная проверка этих данных на семенах посевного гороха *Pisum sativum* L. подтвердила биоинформатические предсказания. Установлено, что запасной глобулин гороха вицилин, имеющий два домена CUPIN1, образует в семенах амилоиды, которые накапливаются при созревании, а затем разбираются при прорастании зародыша [43]. Амилоидогенез запасных белков обеспечивает стабилизацию запаса питательных веществ семян, так как амилоиды – один из наиболее устойчивых к различным воздействиям вариантов надмолекулярной организации белков. Примечательно, что клетки растений, в отличие от человеческих, имеют молекулярные системы, позволяющие разбирать крупные амилоидные комплексы. Идентификация этих систем может представлять потенциальную ценность для биомедицины.

Кроме того, амилоиды запасных белков не перевариваются протеазами желудочно-кишечного тракта в условиях, приближенных к физиологическим [43], то есть присутствие амилоидных скоплений в семенах снижает их пищевую ценность. Это открывает перспективы для поиска аллелей генов, кодирующих запасные белки, не образующие протеазоустойчивые агрегаты, для их дальнейшего использования в селекции. Однако в настоящее время отсутствуют данные, позволяющие сделать заключение о том, насколько изменение протеазоустойчивости агрегирующих белков повлияет на выживаемость семян.

Таким образом, амилоидогенез запасных белков семян служит консервативным механизмом, не только обеспечивающим стабилизацию белков семян при долговременном хранении, в том числе в неблагоприятных условиях, но и снижающим их пищевую ценность.

Функциональные амилоиды позвоночных. Открытие в начале XXI в. функциональных амилоидов у позвоночных указывает на то, что само по

себе наличие кросс- β -структур не может считаться патогенным фактором. Ряд белков в норме функционирует в организме в амилоидной форме. По всей вероятности, цитотоксичность патологических амилоидов определяется их специфическими взаимодействиями с определёнными рецепторами, другими белками или липидами, что провоцирует апоптоз (программируемую гибель клеток). Вместе с тем многие амилоидные белки выполняют жизненно важные функции. Функциональные амилоиды в организме позвоночных могут играть запасующую, структурную, защитную и регуляторную роль [9, 10]. Целый ряд гормональных пептидов эндокринной и нейроэндокринной систем мыши запасается в виде амилоидных фибрилл в секреторных гранулах. При секреции амилоидные фибриллы расщепляются под воздействием неизвестного фактора, и пептиды функционируют в мономерной форме [44]. Биоинформатический анализ даёт основания полагать, что эти гормоны запасаются в амилоидной форме у представителей всех классов позвоночных. Кроме того, фрагмент белка PMEL17 в меланосомах пигментных клеток образует амилоидные фибриллы, которые служат каркасом, необходимым для синтеза и полимеризации меланина [45]. Так, формирование амилоидных фибрилл необходимо для наработки и запасаания меланина, который поглощает ультрафиолетовые лучи и тем самым защищает организм от лучевого повреждения. Консервативные амилоидогенные последовательности в составе белка PMEL17 выявлены не только у млекопитающих, но и у других позвоночных.

С помощью методологии протеомного скрининга и идентификации амилоидов показано, что РНК-связывающий белок FXR1 функционирует в нейронах головного мозга крысы и в культуре клеток нейроblastомы человека в амилоидной форме [36]. Амилоидные олигомеры и фибриллы этого белка связывают различные молекулы РНК, включая мРНК, кодирующую ключевой провоспалительный цитокин TNF- α , и препятствуют их трансляции. Молекулы РНК, взаимодействующие с амилоидными гранулами FXR1, нечувствительны к обработке РНКазой А. Есть основания полагать, что при стрессовых воздействиях амилоидные фибриллы FXR1 инактивируются в составе крупных стресс-гранул, что может способствовать трансляции мРНК, кодирующей цитокин TNF- α . Получены данные о том, что амилоидогенная последовательность FXR1 эволюционно консервативна, и этот белок функционирует в амилоидной форме в нейронах головного мозга рептилий, амфибий, птиц и млекопитающих [46].

Новейшие данные, рассмотренные в настоящем обзоре, позволяют констатировать существенное изменение представлений об амилоидах, долгое время считавшихся исключительно патогенными структурами, и показывают важность амилоидной структуры (в основе которой лежит принцип матричного копирования конформации) как одного из важнейших вариантов надмолекулярной организации белков. Более того, конформационные белковые матрицы участвуют не только в выполнении жизненно важных функций у архей, бактерий и эукариот, включая человека, но и в формировании надорганизменных симбиотических систем.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Разделы работы “В поисках новых амилоидов: биоинформатика и экспериментальная протеомика”, “Функциональные амилоиды позвоночных” подготовлены при поддержке гранта РФФ № 20-14-00148-П, раздел “Генетический контроль трансляции и прионы дрожжей” — при поддержке гранта РФФ № 23-14-00063, раздел “Амилоиды прокариот и их роль в надорганизменных взаимодействиях” — в рамках гранта Президента РФ (МД-2302.2022.5), раздел “Амилоиды растений” — в рамках государственного задания Минобрнауки РФ (тема FGEW-2021-0007).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Нижников А.А., Антонец К.С., Инге-Вечтомов С.Г.* Амилоиды: от патогенеза к функции // Биохимия. 2015. № 9. С. 1356–1375.
2. *Инге-Вечтомов С.Г.* От хромосомной теории к матричному принципу // Генетика. 2015. № 4. С. 397–408.
3. *Kushnirov V.V., Dergalev A.A., Alieva M.K., Alexandrov A.I.* Structural bases of prion variation in yeast // Int. J. Mol. Sci. 2022. № 23 (10). 5738.
4. *Crick F.* Central dogma of molecular biology // Nature. 1970. V. 227. P. 561–563.
5. *Андрейчук Ю.В., Задорский С.П., Жук А.С. и др.* Связь матричных процессов I и II рода: амилоиды и стабильность генома // Молекулярная биология. 2020. № 5. С. 750–775.
6. *Prusiner S.B., Scott M.R.* Genetics of prions // Annu. Rev. Genet. 1997. V. 31. P. 139–75.
7. *Chiti F., Dobson C.M.* Protein misfolding, amyloid formation, and human disease: a summary of progress over the last decade // Annu. Rev. Biochem. 2017. V. 86. P. 27–68.
8. *Галкин А.П., Велижанина М.Е., Сопова Ю.В. и др.* Прионы и неинфекционные амилоиды млекопитающих — сходства и отличия // Биохимия. 2018. № 10. С. 1476–1489.
9. *Otzen D., Riek R.* Functional Amyloids // Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2019. № 11 (12). a033860.

10. *Sergeeva A.V., Galkin A.P.* Functional amyloids of eukaryotes: criteria, classification, and biological significance // *Curr. Genet.* 2020. № 5. P. 849–866.
11. *Horwich A.L., Weissman J.S.* Deadly conformations – protein misfolding in prion disease // *Cell.* 1997. № 4. P. 499–510.
12. *Maury C.P.J.* Origin of life. Primordial genetics: Information transfer in a pre-RNA world based on self-replicating beta-sheet amyloid conformers // *J. Theoret. Biol.* 2015. V. 382. P. 292–297.
13. *Galkin A.P., Sysoev E.I.* Stress response is the main trigger of sporadic amyloidoses // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. № 22 (8). 4092.
14. *Ter-Avanesyan M.D., Kushnirov V.V.* Structure and replication of yeast prions // *Cell.* 1998. № 1. P. 13–16.
15. *Heikenwalder M., Julius C., Aguzzi A.* Prions and peripheral nerves: a deadly rendezvous // *J. Neurosci. Res.* 2007. V. 85. P. 2714–2725.
16. *Wickner R.B., Edskes H.K., Son M. et al.* Yeast prions compared to functional prions and amyloids // *J. Mol. Biol.* 2018. № 20. P. 3707–3719.
17. *Liebman S.W., Chernoff Y.O.* Prions in yeast // *Genetics.* 2012. № 4. P. 1041–1072.
18. *Cox B., Tuite M.* The life of [PSI] // *Curr. Genet.* 2018. № 1. P. 1–8.
19. *Inge-Vechtomov S., Zhouravleva G., Philippe M.* Eukaryotic release factors (eRFs) history // *Biol. Cell.* 2003. V. 95. P. 195–209.
20. *Kisselev L.L., Frolova L.Y.* Termination of translation in eukaryotes: new results and new hypotheses // *Biochemistry.* 1999. № 1. P. 8–16.
21. *Trubitsina N., Zemlyanko O., Moskalenko S., Zhouravleva G.* From past to future: suppressor mutations in yeast genes encoding translation termination factors // *Bio. Comm.* 2019. № 2. P. 89–109.
22. *Inge-Vechtomov S., Zhouravleva G., Chernoff Y.* Biological roles of prion domains // *Prion.* 2007. V. 4. P. 228–235.
23. *Журавлёва Г.А., Бондарев С.А., Землянко О.М., Москаленко С.Е.* Роль белков, взаимодействующих с факторами терминации трансляции eRF1 и eRF3, в регуляции трансляции и прионизации // *Молекулярная биология.* 2022. № 2. С. 206–226.
24. *Derkatch I.L., Liebman S.W.* Prion-prion interactions // *Prion.* 2007. № 3. P. 161–169.
25. *Галкин А.П., Миронова Л.Н., Журавлёва Г.А., Инге-Вечтомов С.Г.* Прионы дрожжей, амилоидозы млекопитающих и проблема протеомных сетей // *Генетика.* 2006. № 11. С. 1–13.
26. *Nizhnikov A.A., Ryzhova T.A., Volkov K.V. et al.* Interaction of Prions Causes Heritable Traits in *Saccharomyces cerevisiae* // *PLOS Genetics.* 2016. № 12 (12). e1006504.
27. *Galkin A.P.* Prions and the concept of polyprionic inheritance // *Curr. Genet.* 2017. № 5. P. 799–802.
28. *Barbitoff Y.A., Matveenko A.G., Zhouravleva G.A.* Differential interactions of molecular chaperones and yeast prions // *J. Fungi.* 2022. № 8 (2). 122.
29. *Matveenko A.G., Barbitoff Yu.A., Jay-Garcia L.M. et al.* Differential effects of chaperones on yeast prions: CURrent view // *Current Genetics.* 2017. № 2. P. 317–325.
30. *Eaglestone S.S., Cox B.S., Tuite M.F.* Translation termination efficiency can be regulated in *Saccharomyces cerevisiae* by environmental stress through a prion-mediated mechanism // *EMBO J.* 1999. № 7. P. 1974–1981.
31. *Shorter J., Lindquist S.* Prions as adaptive conduits of memory and inheritance // *Nat. Rev. Genet.* 2005. V. 6. P. 435–450.
32. *Daskalov A., Saube S.J.* As a toxin dies a prion comes to life: A tentative natural history of the [Het-s] prion // *Prion.* 2015. № 3. P. 184–189.
33. *Michelitsch M.D., Weissman J.S.* A census of glutamine/asparagine-rich regions: implications for their conserved function and the prediction of novel prions // *Proc. Nat. Acad. Sci.* 2000. V. 97. P. 11910–11915.
34. *Navarro S., Ventura S.* Computational methods to predict protein aggregation // *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2022. № 73. 102343.
35. *Belashova T.A., Valina A.A., Sysoev E.I. et al.* Search and identification of amyloid proteins // *Methods Protoc.* 2023. № 6 (1). 16.
36. *Sopova J.V., Koshel E.I., Belashova T.A. et al.* RNA-binding protein FXR1 is presented in rat brain in amyloid form // *Sci. Rep.* 2019. № 9 (1). 18983.
37. *Chapman M.R.* Role of *Escherichia coli* curli operons in directing amyloid fiber formation // *Science.* 2002. V. 295. P. 851–855.
38. *Kosolapova A.O., Antonets K.S., Belousov M.V., Nizhnikov A.A.* Biological functions of prokaryotic amyloids in interspecies interactions: Facts and assumptions // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. № 21 (19). 7240.
39. *Jamal M., Ahmad W., Andleeb S. et al.* Bacterial biofilm and associated infections // *Journal of the Chinese Medical Association.* 2018. № 1. P. 7–11.
40. *Kosolapova A.O., Belousov M.V., Sulatskaya A.I. et al.* Two novel amyloid proteins, RopA and RopB, from the root nodule bacterium *Rhizobium leguminosarum* // *Biomolecules.* 2019. № 9 (11). 694.
41. *Kosolapova A.O., Belousov M.V., Sulatsky M.I. et al.* RopB protein of *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* adopts amyloid state during symbiotic interactions with pea (*Pisum sativum* L.) // *Front. Plant. Sci.* 2022. № 13. 1014699.
42. *Antonets K.S., Nizhnikov A.A.* Predicting amyloidogenic proteins in the proteomes of plants // *Int. J. Mol. Sci.* 2017. № 18 (10). 2155.
43. *Antonets K.S., Belousov M.V., Sulatskaya A.I. et al.* Accumulation of storage proteins in plant seeds is mediated by amyloid formation // *PLOS Biol.* 2020. № 18. e3000564.
44. *Maji S.K., Perrin M.H., Sawaya M.R. et al.* Functional amyloids as natural storage of peptide hormones in pituitary secretory granules // *Science.* 2009. V. 325. P. 328–332.
45. *Fowler D.M., Koulov A.V., Alory-Jost C. et al.* Functional amyloid formation within mammalian tissue // *PLoS Biol.* 2006. № 4. e6.
46. *Velizhanina M.E., Galkin A.P.* Amyloid properties of the FXR1 protein are conserved in evolution of vertebrates // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. № 23 (14). 7997.

PRIONS AND AMYLOIDS AS SPATIAL TEMPLATES OF THE PROTEOME

**S. G. Inge-Vechtomov^{1,2,#}, A. P. Galkin^{1,2,##}, G. A. Zhouravleva^{1,###}, A. A. Nizhnikov^{1,3,####},
and S. P. Zadorsky^{1,2,#####}**

¹*St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia*

²*Vavilov Institute of General Genetics, St. Petersburg Branch, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia*

³*All-Russian Research Institute of Agricultural Microbiology, Pushkin, Russia*

[#]*E-mail: ingevechtomov@gmail.com*

^{##}*E-mail: a.galkin@spbu.ru*

^{###}*E-mail: g.zhuravleva@spbu.ru*

^{####}*E-mail: a.nizhnikov@spbu.ru*

^{#####}*E-mail: s.zadorsky@spbu.ru*

Until recently, studies of amyloids were aimed exclusively at revealing their role in the occurrence of dangerous diseases in humans and animals. However, they are widely distributed in nature and are involved in the regulation of essential vital processes in representatives of all three domains of the living world: archaea, bacteria and eukaryotes. The question of the biological significance of the prions – a special class of amyloids, is still under discussion. The discovery of new functional amyloids became possible due to the development of the bioinformatic and proteomic methods for identification of amyloid-forming proteins. The review describes the way from the study of pathological amyloid structures to the investigation of adaptive amyloids in bacteria, plants, and animals. The importance of the amyloid structure, based on the principle of conformation template copying, as one of the most important forms of supramolecular organization of proteins is shown.

Keywords: amyloids, prions, conformational templates, type I and II template processes, translation.

ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ПРЕПАРАТ НА ОСНОВЕ ГЕННО-МОДИФИЦИРОВАННОГО ВИРУСА ОСПОВАКЦИНЫ VV-GMCSF-Lact

© 2023 г. Е. В. Кулигина^{a,b,*}, В. А. Рихтер^{a,**}, В. В. Власов^{a,***}

^aИнститут химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

^bООО “Онкостар”, Сколково, Московская область, Россия

*E-mail: kuligina@niboch.nsc.ru

**E-mail: richter@niboch.nsc.ru

***E-mail: vlassov@mail.ru

Поступила в редакцию 21.07.2023 г.

После доработки 27.07.2023 г.

Принята к публикации 09.08.2023 г.

Виротерапия, или терапия с помощью онколитических вирусов, — один из наиболее активно развивающихся подходов к лечению широкого спектра солидных опухолей. Статья посвящена разработке и изучению свойств первого отечественного лекарственного препарата на основе рекомбинантного вируса осповакцины. Рекомбинантный вирус VV-GMCSF-Lact получен генно-инженерным путём из российского штамма Л-ИВП вируса осповакцины. На культурах клеток и опухолевых моделях выявлены цитотоксическая активность и противоопухолевая эффективность вируса в отношении опухолевых клеток человека различного тканевого происхождения. Препарат успешно прошёл доклинические исследования как лекарство против рака молочной железы человека, в том числе трижды негативного фенотипа. Доказаны его безопасность, хорошая переносимость и фармакологическая эффективность. В настоящее время препарат находится в клинических исследованиях I фазы: изучение безопасности, переносимости и фармакокинетики у пациенток с рецидивирующим и/или рефрактерным метастатическим раком молочной железы. VV-GMCSF-Lact — первый российский противоопухолевый онколитический вирус, получивший разрешение Минздрава России на проведение клинических испытаний.

Ключевые слова: виротерапия, вирус осповакцины, рак молочной железы, глиома, доклинические и клинические исследования.

DOI: 10.31857/S0869587323090098, EDN: UGRBDM

Онколитические вирусы рассматриваются в качестве перспективных агентов для эффективной терапии опухолей, в том числе резистентных к традиционной химиотерапии [1–4]. Приемле-

мые профили безопасности и хорошая переносимость различных вирусов (аденовирус, вирус осповакцины, реовирус, парвовирус, вирус ботулы Ньюкасла, вирус простого герпеса и др.) у



КУЛИГИНА Елена Владимировна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биотехнологии ИХБФМ СО РАН. РИХТЕР Владимир Александрович — кандидат биологических наук, заведующий лабораторией биотехнологии ИХБФМ СО РАН. ВЛАСОВ Валентин Викторович — академик РАН, научный руководитель ИХБФМ СО РАН.

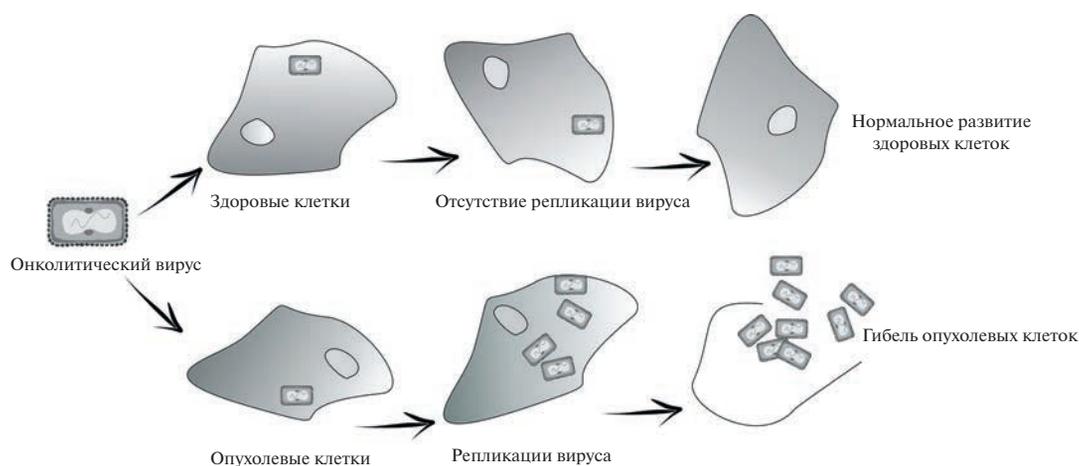


Рис. 1. Схема противоопухолевого действия онколитического вируса

пациентов обнадёживают при использовании их в качестве терапевтических препаратов (рис. 1).

В 2015 г. Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) одобрило первый онколитический вирус Imlygic (talimogene laherparevec, также известный как T-VEC) для лечения пациентов с рецидивирующей меланомой [5]. Практически сразу препарат был разрешён в Европе. Ранее, в 2005 г., в Китае одобрили препарат Онкорин (Oncorine, H101), созданный на основе генетически модифицированного аденовируса, для лечения рака носоглотки в комбинации с химиотерапией [6]. Препарат Rigriv – немодифицированный энтеровирус штамма ECHO-7, был зарегистрирован в Латвии в 2004 г., а затем в Грузии и Армении, и вплоть до 2019 г. использовался для лечения меланомы [7]. Однако в 2019 г. Инспекция здравоохранения Латвии остановила распространение препарата из-за несоответствия его качества заявленным параметрам. Тем не менее компания Rigriv до сих пор работает над возобновлением латвийской регистрации.

Среди огромного разнообразия онколитических вирусов особого внимания заслуживает вирус осповакцины. Организация генома, способность к лизису инфицированных клеток и тропность к широкому спектру опухолей делают его идеальным объектом для конструирования рекомбинантов с повышенной противоопухолевой активностью. В настоящее время несколько препаратов, разработанных на основе этого вируса, находятся на стадиях доклинической разработки и клинических исследований. Наиболее продвинутой среди них – препарат Pexa-Vec компании Jennerex Biotherapeutics (США), созданный на основе штамма JX-594 вируса осповакцины, который сконструирован из родительского штамма Wyeth путём удаления из генома вируса гена ви-

русной тимидинкиназы и встраивания двух трансгенов – гена гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМКСФ) человека и гена β -галактозидазы *Escherichia coli* [8]. Первые фазы клинических испытаний показали многообещающие результаты: безопасность, хорошую переносимость и высокую терапевтическую эффективность, обусловленные не только прямым онколитическим действием вируса на опухолевые клетки, но и усилением ГМКСФ-зависимого противоопухолевого иммунитета [9–12].

Однако рандомизированные клинические испытания (II и III фазы) Pexa-Vec в отношении гепатоцеллюлярной карциномы поздних стадий не показали значительного увеличения выживаемости пациентов по сравнению с контрольной группой [13]. Возможными причинами неудач могли стать как недостаточная литическая активность исходного штамма Wyeth, на основе которого создан Pexa-Vec, так и поздняя стадия развития опухолевого процесса.

Ещё один рекомбинантный штамм вируса осповакцины – vvDD (JX-929 или vvDD-CDSR), прошедший первую фазу клинических исследований, сконструирован на базе штамма WR (Western Reserve), наиболее вирулентного среди штаммов вируса осповакцины. Из генома вируса были удалены гены вирусной тимидинкиназы (tk) и ростового фактора (VGF), в результате чего он потерял способность размножаться в нормальных клетках. В область гена тимидинкиназы встроены гены бактериальной цитозиндезаминазы и рецептора соматостатина. Эффективность онколитического действия вируса в отношении опухолевых клеток при этом значительно увеличилась и превзошла таковую для Pexa-Vec [13–15].

Это лишь два примера разработки противоопухолевых препаратов на основе вируса осповакцины, которые наиболее близки к полученно-

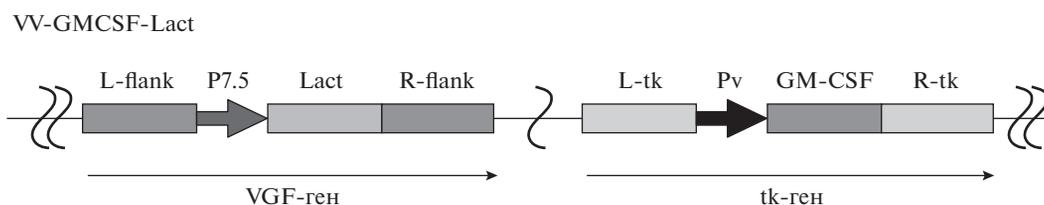


Рис. 2. Схема структуры гено-модифицированного онколитического вируса VV-GMCSF-Lact

L-flank (слева) и R-flank (справа) – фрагменты генома вируса осповакцины, фланкирующие ген вирусного ростового фактора (VGF); Lact – ген лактапина; P7.5, Pv – промоторы вируса осповакцины; L-tk (слева) и R-tk (справа) – последовательности генома VACV, штамм Л-ИВП, фланкирующие ген вирусной тимидинкиназы (tk); GM-CSF – ген ГМКСФ человека

му нами рекомбинантному штамму. Всего же на сайте ClinicalTrials.gov зарегистрировано более 120 клинических испытаний различных рекомбинантов вируса осповакцины в качестве лекарственных препаратов для терапии широкого спектра опухолей. При этом лишь одно клиническое исследование лекарств этого класса проводится в России – по протоколу Oncolact2020 “Открытое мультикогортное исследование I фазы безопасности, переносимости и фармакокинетики лекарственного препарата на основе рекомбинантного штамма VV-GMCSF-Lact вируса осповакцины, раствор для инъекций, замороженный, у пациенток с рецидивирующим и/или рефрактерным метастатическим раком молочной железы в последовательных когортах с эскалацией дозы при однократном и многократном введении” (ClinicalTrials.gov, Identifier: NCT05376527).

Рассмотрим подробнее разработку, доклинические и клинические испытания отечественного инновационного противоопухолевого лекарственного препарата, сконструированного на основе рекомбинантного штамма VV-GMCSF-Lact вируса осповакцины.

Получение гено-модифицированного онколитического вируса VV-GMCSF-Lact. VV-GMCSF-Lact создан коллективом авторов лаборатории биотехнологии Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН и лаборатории вирусных гепатитов Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии “Вектор” Роспотребнадзора на основе отечественного штамма вируса осповакцины Л-ИВП (Lister-Institute of Vaccine Preparations, Moscow, Russia, GenBank accession number: Bank It1780508 LIVP KP233807), который до 1980 г. использовался для вакцинации против оспы. Этот штамм, как и все штаммы вируса осповакцины, реплицируется в цитоплазме, не контактирует с генетическим материалом инфицированной клетки, не имеет онкогенного потенциала и способен индуцировать как гуморальный, так и клеточный иммунный ответ. Ранее было показано, что генетически немодифицированный Л-ИВП обладает естественной ци-

тотоксической активностью по отношению к человеческим и мышинным раковым клеткам [16].

Разработанный нами онколитический вирус, как и vvDD, содержит делеции фрагментов генов вирусной тимидинкиназы (tk) и ростового фактора (virus growth factor, VGF), в районы которых встроены гены ГМКСФ человека и онкотоксического белка лактапина соответственно (рис. 2). В результате проведенных гено-инженерных манипуляций VV-GMCSF-Lact ослаблен (аттенуирован) более чем в 100 раз по сравнению с исходным штаммом Л-ИВП. Лактапин – фрагмент каппа-казеина человеческого молока. Этот пептид индуцирует апоптоз (программируемая гибель клеток) опухолевых клеток человека и животных и не влияет на жизнеспособность нормальных клеток [17–21]. ГМКСФ в свою очередь индуцирует развитие противоопухолевого иммунного ответа [22].

Структура VV-GMCSF-Lact была подтверждена как методом ПЦР, так и прямым секвенированием участков генов tk и VGF. Синтез продуктов обоих трансгенов (ГМКСФ и лактапина) в клетках млекопитающих, инфицированных вирусом, подтвержден методом анализа клеточных лизатов Вестерн-блот и методом иммуногистохимии [23].

Таким образом, удаление двух генов, обеспечивающих способность вируса реплицироваться в клетке, резко снижает его вирулентность в отношении здоровых клеток и увеличивает тропность к быстро делящимся опухолевым клеткам, пролиферативный потенциал которых вирус может использовать для собственного воспроизведения. Наличие трансгенов также усиливает противоопухолевый потенциал вирусной конструкции.

Цитотоксическая активность VV-GMCSF-Lact *in vitro*. Цитотоксическую активность и онкоселективность VV-GMCSF-Lact оценивали по его действию на онкотрансформированные клетки различного происхождения, а также на нормальные немалигнизированные клетки (рис. 3). Установлено, что вирус тормозит развитие опухолевых клеток различного тканевого происхождения, практически не влияя на жизнеспособность

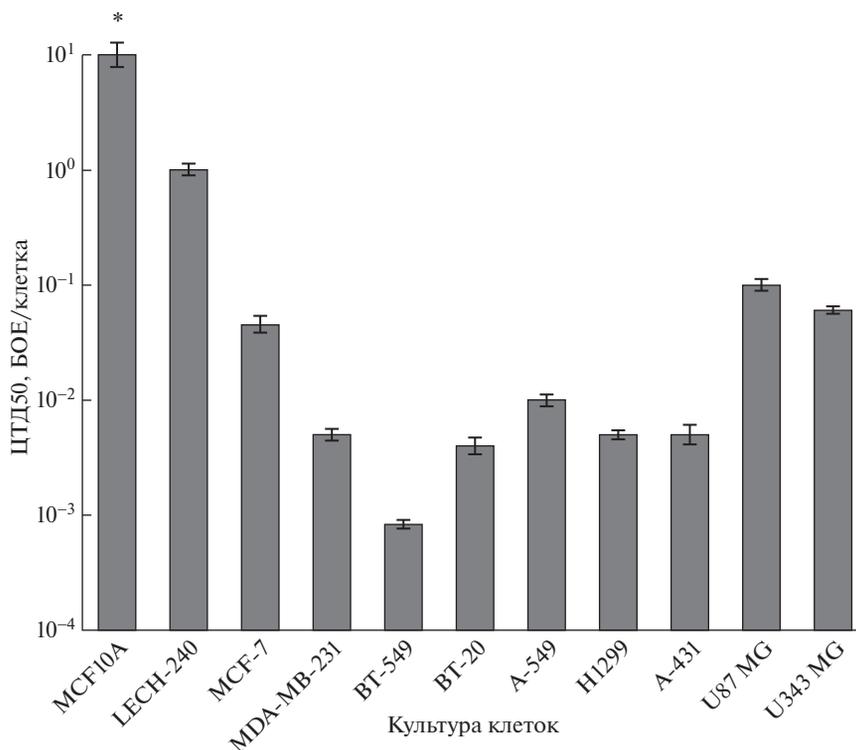


Рис. 3. Цитотоксическая активность VV-GMCSF-Lact в отношении онкотрансформированных и нормальных клеток человека различного тканевого происхождения

Культуры опухолевых клеток: MCF-7, MDA-MB-231, BT-549, BT-20 – рак молочной железы; A-549, H1299 – рак лёгкого; A-431 – эпидермоидная карцинома; U87 MG, U343 MG – глиобластома; культуры немалигнизированных (нормальных) клеток: MCF10A – эпителиоциты молочной железы; LECH-240 – диплоидные клетки лёгкого эмбриона человека; * – максимальная доза вируса 10 БОЕ/клетку не вызвала 50%-го токсического эффекта; БОЕ – бляшкообразующая единица; ЦТД₅₀ – цитотоксическая доза, концентрация вируса, вызывающая гибель 50% клеток (чем больше значение ЦТД₅₀, тем меньшей онколитической активностью обладает вирусный препарат в данной культуре клеток)

нормальных клеток [23]. При этом клетки различных опухолей проявляли разную чувствительность к действию вируса. Наиболее восприимчивыми к онколитическому действию VV-GMCSF-Lact оказались клетки опухолей молочной железы (MDA-MB-231, BT-549 и BT20).

Количественную оценку способности вируса адресно размножаться в опухолевых клетках человека проводили путём расчёта индекса онкоселективности: отношение ЦТД₅₀ в нормальных клетках к ЦТД₅₀ в опухолевых.

Для оценки онкоселективности использовали две культуры клеток нормальных тканей человека (MCF10A – культура клеток нормального эпителия молочной железы человека и LECH-240 – диплоидная культура клеток лёгкого эмбриона человека) и культуры клеток рака молочной железы (MCF-7, MDA-MB-231, BT-549, BT-20) и рака лёгкого (A-549, H1299). Рассчитанные индексы селективности в паре культур молочной железы (нормальная/опухолевая) варьируют от 100 до 12000, для клеток лёгкого – 63 и 190 соответственно. Различия в индексах связаны с тем, что клетки

лёгкого эмбриона человека обладают достаточно высокой пролиферативной активностью (возможность неограниченного деления), что в определённой степени роднит их с раковыми и усиливает способность VV-GMCSF-Lact реплицироваться в них [24].

Противоопухолевая эффективность VV-GMCSF-Lact *in vivo*. Изучение противоопухолевой эффективности и антиметастатического потенциала VV-GMCSF-Lact *in vivo* проводили на иммунодефицитных мышах линий SCID и nude с подкожно трансплантированными опухолями молочной железы человека MDA-MB-231 и BT-549, эпидермоидной карциномы A431 и глиобластомы U87-MG. Вирусный препарат вводили экспериментальным животным как внутривенно, так и внутриопухолево, в дозе 10⁷ БОЕ на животное, курсом из трёх инъекций с интервалом в 7 дней. Индекс торможения роста опухолей во всех экспериментах составил не менее 82% [23, 25]. Титр вируса в гомогенате инфицированных опухолей составлял 10⁸ БОЕ/мл, что свидетельствует об интенсивной репродукции вируса в опухолевых клетках.

Внутриопухолевое введение вируса вызывает деструкцию опухолевой ткани по сравнению с опухолями мышей контрольной группы, получавших физраствор. Репродукция вируса и экспрессия лактапина служат главными факторами деструкции опухоли, однако на этот процесс может влиять и экспрессия ГМКСФ в составе рекомбинантных штаммов. Известно, что локальная гиперэкспрессия этого цитокина приводит к патологическим изменениям ткани [22], что может быть связано с активацией эффекторных клеток иммунной системы. Мы исследовали данное явление в инфицированных VV-GMCSF-Lact опухолях методом иммуногистохимии с использованием антител к CD11b. Белок CD11b (интегрин альфа-M/бета-2) экспрессируется в моноцитах, гранулоцитах, макрофагах и натуральных киллерах и играет ключевую роль в воспалительном процессе, поскольку опосредует адгезию и миграцию лейкоцитов. Введение VV-GMCSF-Lact приводит к накоплению CD11b-позитивных клеток в соединительной ткани, прилежащей к опухоли (что соответствует наблюдаемой лейкоцитарной инфильтрации), а также вокруг кровеносных сосудов [24].

При оценке антиметастатического потенциала VV-GMCSF-Lact установлено, что при внутриопухолевом введении вирус проникает в опухолевые клетки, размножается в них, выходит из опухоли в кровоток и затем находит отдалённые очаги (метастазы) и уничтожает их [26]. Исследование фармакокинетики показало, что по истечении 12 суток после внутриопухолевого введения вирус обнаруживается лишь в опухоли и не тестируется в органах и тканях.

Таким образом, разработанный нами на основе рекомбинантного штамма VV-GMCSF-Lact вирусный препарат эффективно поражает опухолевые клетки, находит метастазы и тормозит их развитие. При этом вирус является самореплицирующимся лекарственным препаратом, который даже при однократном введении способен надолго сохраняться в опухоли и выполнять свою терапевтическую функцию. Полученные данные о противоопухолевой и антиметастатической эффективности препарата в отношении солидных опухолей (негемопоэтические опухоли, то есть развившиеся не из клеток кроветворной системы) позволили нам перейти к его доклиническим испытаниям.

Доклинические исследования VV-GMCSF-Lact. Клетки злокачественных новообразований молочной железы человека оказались одними из наиболее чувствительных к онколитическому действию вируса. Поэтому в доклинических испытаниях вирусный препарат на основе VV-GMCSF-Lact изучался как лекарственное средство для терапии рака молочной железы, в том числе три-

жды негативного фенотипа (представляет собой злокачественную опухоль, для которой характерно отсутствие прогестероновых и эстрогеновых рецепторов, а также рецепторов эпидермального фактора роста). В ходе фармацевтической разработки препарата показано, что наиболее приемлемая готовая лекарственная форма – замороженная вирусная суспензия с титром вируса не менее 1×10^7 БОЕ/мл, требующая при транспортировке и хранении соблюдения холодовой цепи (транспортировка при температуре не выше -20°C ; хранение при -40°C).

Диапазон терапевтических доз лекарственного средства устанавливался в экспериментах на лабораторных животных с трансплантированными опухолями и составил 10^7 – 10^8 БОЕ на животное. Исследования общей (острой и субхронической) токсичности препарата проводили на базе лаборатории биологических испытаний Филиала Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (Пушино), которая имеет аккредитацию соответствия принципам надлежащей лабораторной практики (Statement of OECD GLP Compliance).

Определение нетоксичного дозового уровня показало, что тестируемый препарат при однократном внутривенном введении самцам животных в дозах, в 7.5 (мыши), 30 (крысы) и 150 раз (кролики) превышающих однократную терапевтическую дозу для человека, не обладает выраженным токсическим действием. Наблюдаемые клинические признаки и снижение прироста массы тела свидетельствуют о достижении доз, близких к максимально переносимым.

Изучение острой токсичности лекарственного средства на мышах ICR и крысах SD показало, что его однократное подкожное введение самцам и самкам в дозах, эквивалентных терапевтической, 5-кратной (при введении мышам) и 20-кратной терапевтической (крысам) для человека, является безопасным. Введение препарата внутривенно в дозе, в 5 раз (мышам), либо в 20 раз (крысам) превышающей терапевтическую, способно вызывать ответную реакцию со стороны органов иммунной системы, что, в частности, проявлялось в увеличении массы селезёнки.

Исследование субхронической токсичности, раздражающего действия и фармакологической безопасности лекарственного средства при многократном введении самцам и самкам крыс SD позволило прийти к выводу, что препарат в использованных дозах безопасен для животных. Однако наблюдалось развитие подострой¹ воспалительной реакции в области введения препара-

¹ По продолжительности протекания воспалительные реакции делятся на острые, подострые и хронические. Термин “подострый” означает, что симптомы длятся дольше, чем при острых расстройствах, но не становятся хроническими.

та, что свидетельствует о его местном раздражающем действии. Он также способствовал стимуляции иммунного ответа, что заметно проявилось в регионарных подмышечных лимфоузлах в виде гиперплазии лимфоцитов в паракортикальной области. Что касается субхронической токсичности лекарственного средства при многократном подкожном введении самцам и самкам кроликов NZW, то в использованных дозах оно также безопасно. Кроме того, не выявлено отрицательного воздействия на двигательную активность, состояние сердечно-сосудистой и дыхательной систем.

В рамках изучения специфической токсичности вирусного препарата оценивались его алергизирующее и иммунотоксическое действие, а также влияние на репродуктивную функцию животных. В реакциях общей анафилаксии, активной кожной анафилаксии и гиперчувствительности замедленного типа установлено, что лекарственное средство на основе рекомбинантного штамма VV-GMCSF-Lact вируса осповакцины обладает слабым алергизирующим действием. Слабовыраженный иммунотоксический эффект препарата в использованных дозах зафиксирован при исследовании макропатологии, массы и точности² иммунокомпетентных органов, определении фагоцитарной активности макрофагов и оценке Т-зависимого гуморального и клеточного иммунного ответа. Также введение препарата в терапевтической и 5-кратной терапевтической дозах для человека не оказало существенного влияния на репродуктивную функцию самцов и самок крыс.

Основным механизмом действия лекарственного средства в отношении EGFR-положительных клеток рака молочной железы выступает RIPK-1-независимый EGFR-зависимый некроз. При этом введение в геном вируса трансгена, кодирующего белок лактаптин, индуцирующий апоптоз, усиливает апоптотическую гибель опухолевых клеток [27]. Кроме того, опухолевые клетки, инфицированные вирусом, активно захватываются перитонеальными макрофагами.

Установлено, что фармакокинетика вирусного препарата при однократном и многократном введении является нелинейной. Особенности распределения вируса в организме экспериментальных животных с трансплантированными опухолями обусловлены репликацией (самовоспроизведением) рекомбинантного вируса в клетках опухоли и работой вируснейтрализующих антител. При этом основное содержание вируса детектируется в опухоли и незначительное — в других органах.

В экспериментах *in vitro* на культурах опухолевых клеток человека различного гистогенеза под-

тверждена высокая цитотоксическая активность VV-GMCSF-Lact в отношении опухолевых клеток молочной железы, лёгких, глиом и эпидермоидной карциномы. Противоопухолевую эффективность препарата подтверждали на моделях опухолей молочной железы (MDA-MB-231 и BT-549) и глиобластомы человека (U87-MG), подкожно трансплантированных иммунодефицитным мышам SCID. Препарат вводили внутритуморально в дозе 10^7 БОЕ на животное курсом из 3–4 инъекций с интервалом 7 дней. Индекс торможения роста опухолей составил не менее 85%. VV-GMCSF-Lact также эффективно тормозил рост уже развившейся опухоли молочной железы MDA-MB-231 (индекс 42%).

Доклинические исследования безопасности и фармакологической эффективности лекарственного препарата на основе рекомбинантного вируса VV-GMCSF-Lact как терапевтического средства для лечения рака молочной железы человека успешно завершились в 2019 г. Полученные результаты позволили перейти к I фазе клинических испытаний.

Клинические исследования. Первая фаза клинических испытаний лекарственного препарата (Разрешение Министерства здравоохранения РФ № 787 от 26 ноября 2021 г.) проводится согласно протоколу Oncolact2020 “Открытое мультикогортное исследование I фазы безопасности, переносимости и фармакокинетики лекарственного препарата на основе рекомбинантного штамма VV-GMCSF-Lact вируса осповакцины, раствор для инъекций, замороженный, у пациенток с рецидивировавшим и/или рефрактерным метастатическим раком молочной железы в последовательных когортах с эскалацией дозы при однократном и многократном введении”. Исследование зарегистрировано на сайте ClinicalTrials.gov (идентификатор NCT05376527). Спонсор — ООО “ОНКОСТАР” (Новосибирск), организация и проведение исследования — КИО ООО “АР-СИ-ТИ-ГЛОБАЛ” (Санкт-Петербург), медицинский мониторинг — ООО “3М Веритас” (Пермь), управление данными — Sciencefiles (Екатеринбург), статистический анализ фармакокинетических параметров — KEYSTAT (Смоленск).

Клинические испытания проводятся на четырёх клинических площадках:

- Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова Минздрава России (Санкт-Петербург), главный исследователь — доктор медицинских наук П.В. Криворотко;

- Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России (Москва), доктор медицинских наук Е.В. Артамонова;

² Определение количества клеток иммунокомпетентного органа (на 1 г массы органа) и сопоставление с аналогичными показателями интактных животных.

Таблица 1. Дизайн первого этапа первой фазы клинических исследований

| Номер когорты пациенток | Количество пациенток | Объём препарата, мл | Доза препарата, БОЕ |
|-------------------------|----------------------|---------------------|---------------------|
| 1 | 3 | 0.5 | 1×10^7 |
| 2 | 3 | 1 | 2×10^7 |
| 3 | 3 | 2 | 4×10^7 |
| 4 | 3 | 3 | 6×10^7 |
| 5 | 3 | 4 | 8×10^7 |
| 6 | 3 | 5 | 10×10^7 |
| Всего | 18 | — | — |

• Онкологический научный центр (Санкт-Петербург), кандидат медицинских наук Т.Т. Агисhev;

• Городской клинический онкологический диспансер Минздрава России (Санкт-Петербург), доктор медицинских наук Р.В. Орлова.

Цель исследования – оценить безопасность, переносимость и фармакокинетические параметры лекарственного препарата на основе рекомбинантного штамма VV-GMCSF-Lact вируса осповакцины у пациенток с рецидивирующим/рефрактерным метастатическим раком молочной железы в последовательных когортах с эскалацией дозы при однократном и многократном введении. Основные задачи:

- определение максимально переносимой дозы препарата;
- установление частоты, характера, интенсивности и длительности нежелательных реакций, связанных с применением препарата при его введении в возрастающих дозах;
- выявление дозозимитирующей токсичности (ДЛТ), степени её выраженности, длительности и обратимости;
- определение профиля фармакокинетики вируса и антител к нему;
- оценка объективного ответа на проводимое лечение;
- оценка динамики изменения размеров опухоли.

Первый этап I фазы, однократное введение. Лекарственный препарат (раствор для инъекций, 2×10^7 БОЕ/мл) применялся интратуморально (внутриопухолево) однократно в дизайне³ “3 + 3” в следующих дозах (табл. 1). На каждый уровень дозы (то есть в одну когорту) может быть включено от 3 до 6 пациенток. Исследуемая доза препарата сначала вводилась одной пациентке. В слу-

чае хорошей переносимости, при отсутствии токсичности III степени и выше через сутки такая же доза вводилась второй пациентке и далее, ещё через сутки, третьей. Наблюдение велось в течение трёх дней, затем следующая когорта из трёх человек получала увеличенную дозу препарата по той же схеме. Далее пациентки проходили все процедуры и визиты согласно протоколу.

Эскалация до следующего уровня происходила, если во время дозирования первых трёх пациенток не отмечалась ДЛТ. Если дозозимитирующая токсичность фиксировалась у одной из трёх женщин, производился набор ещё трёх пациенток на данном уровне дозы. Если дополнительных явлений ДЛТ не отмечалось, исследование переходило на следующий уровень, при появлении дополнительных случаев токсичности эскалация доз останавливалась. Исследования также прекращали, если частота случаев ДЛТ в когорте из трёх пациентов составляла два или три. Эскалация дозы для одной и той же пациентки не производилась, то есть для следующего уровня дозы набиралась новая когорта. Максимально переносимой считается доза, более низкая по отношению к той, при которой была определена дозозимитирующая токсичность.

После введения каждой дозы оценивалась частота развития ДЛТ, признаками которой считается наступление как минимум одного из следующих событий:

- негематологическая токсичность III степени и выше (за исключением алопеции);
- развитие фебрильной нейтропении: нейтрофилы $<0.5 \times 10^9$ /л и повышение температуры тела $>38.3^\circ\text{C}$ не более двух дней после введения препарата или клинически значимая системная инфекция (местная инфекция в месте введения препарата или в месте взятия биопсии не будет считаться клинически значимой);
- тромбоцитопения III степени и выше и/или геморрагические осложнения;

³ В данном контексте дизайн – последовательность действий исследования.

- повторное повышение активности аланин-аминотрансферазы (АЛТ) и/или аспартатамино-трансферазы (АСТ) больше чем в 4 раза от верхней границы нормы.

К настоящему моменту исследования первого этапа успешно завершены. Этап охватывал 26 пациенток, 19 из которых получили лекарственный препарат. Согласно полученным результатам, препарат хорошо переносится и безопасен в используемых дозах. Основным нежелательным явлением стала гипертермия, развивавшаяся в течение 1–2 суток после введения препарата, что было ожидаемо ввиду его вирусной природы.

Результаты первого этапа I фазы клинических исследований показали, что противоопухолевый лекарственный препарат на основе рекомбинантного штамма VV-GMCSF-Lac вируса осповакцины безопасен при однократном интратуморальном применении у женщин с рецидивирующим и/или рефрактерным метастатическим раком молочной железы и может быть рекомендован для оценки его противоопухолевой эффективности при многократном введении (второй этап I фазы клинических исследований).

Второй этап I фазы, многократное введение. Второй этап I фазы исследования стартовал во второй половине мая 2023 г. Лекарственный препарат применяется интратуморально (внутриопухолево) раз в неделю в течение 4 недель в 3 дозах, определённых по результатам первого этапа: 10×10^7 БОЕ – максимальная переносимая доза (в нашем случае максимальная из исследованных доз) и две более низкие дозы – 6×10^7 и 8×10^7 БОЕ. Исследование также проводится в дизайне “3 + 3”, то есть эскалация до следующего дозового уровня происходит, если во время дозирования первых трёх пациенток (доза 6×10^7 БОЕ, 4 инъекции с интервалом в 1 неделю) не отмечается дозозащитной токсичности. После последнего введения препарата последней пациентке в когорте проводится наблюдение за пациентками в течение 14 дней, затем следующей когорте из трёх человек вводят следующую дозу препарата по той же схеме.

По состоянию на 10 августа 2023 г. закончено дозирование пациенток первой когорты второго этапа (доза 6×10^7 БОЕ, 4 инъекции с интервалом в 1 неделю). Явлений ДЛТ не зарегистрировано. По окончании периода наблюдения (14 дней) следующей когорте из трёх пациенток будет введена доза 8×10^7 БОЕ и т.д. Окончание второго этапа I фазы клинических исследований запланировано на первый квартал 2024 г.

Перспективы использования VV-GMCSF-Lac для терапии опухолей головного мозга. Известно, что злокачественные новообразования головного мозга и центральной нервной системы характеризуются одним из самых высоких показателей

смертности в структуре онкологических заболеваний в России и мире. Сегодня средняя выживаемость пациентов с диагнозом глиобластома составляет не более 15 месяцев. Имеющиеся в настоящий момент схемы терапии опухолей головного мозга не обеспечивают существенного улучшения качества и увеличения продолжительности жизни пациентов, поэтому, несомненно, важна разработка эффективных методов терапии.

При оценке цитотоксической активности VV-GMCSF-Lact в отношении опухолевых клеток человека в рамках научно-исследовательских работ и доклинических испытаний установлено, что клетки глиобластомы весьма чувствительны к онколитическому действию вируса [23–27]. Показан значительный противоопухолевый потенциал VV-GMCSF-Lact в отношении трансплантированных экспериментальным животным глиом человека U87-MG и U343-MG [25] и глиомы С6 крысы.

Для изучения противоопухолевой эффективности вируса в отношении опухолей внутричерепной локализации целесообразно рассматривать внутривенный способ введения препарата как наименее инвазивный. При попадании в организм вирус провоцирует выработку вируснейтрализующих антител, которые взаимодействуют с вирусными частицами, что снижает противоопухолевый эффект препарата. Для защиты вируса от действия антител существует целый ряд подходов, один из которых – использование аптамеров, способных экранировать вирусы от иммунной системы [28].

В рамках работ по увеличению терапевтического потенциала VV-GMCSF-Lact в отношении опухолей головного мозга с помощью математического моделирования построены полноатомные модели пяти аптамеров, специфичных к онколитическому вирусу, которые отражают наиболее вероятную конформацию аптамеров в растворе. Выявлены потенциальные сайты связывания аптамеров с вирусом и определены нуклеотиды в структуре аптамеров, обуславливающие связывание с вирусной частицей, а также нуклеотиды, поддерживающие геометрию сайта связывания. Кроме того, созданы молекулярные конструкции бифункциональных аптамеров, обеспечивающих одновременно защиту вирусов от иммунной системы и адресную доставку к глиальным опухолям головного мозга. Применение разработанных аптамерных конструкций на опухолевых моделях глиом человека *in vitro* и *in vivo* позволит увеличить противоопухолевую эффективность VV-GMCSF-Lact в отношении опухолей головного мозга.

* * *

Лекарственный препарат, разработанный на основе онколитического вируса VV-GMCSF-Lact, — перспективное противоопухолевое средство для терапии солидных опухолей различного тканевого происхождения. В доклинических исследованиях на животных продемонстрированы безопасность, хорошая переносимость и фармакологическая эффективность препарата. Клинические испытания I фазы у пациенток с рецидивирующим и/или рефрактерным метастатическим раком молочной железы — первые клинические исследования препаратов этого класса в России, подтверждают безопасность применения лекарственного препарата в клинической практике.

Кроме того, препараты на основе онколитических вирусов, в том числе VV-GMCSF-Lact, обладают ещё одним неоспоримым преимуществом: при лечении опухолей они могут использоваться в комбинации с любыми другими терапевтическими подходами (химио- и лучевой терапией, а также иммунотерапевтическими препаратами), что значительно расширяет горизонты их применения.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Научно-исследовательские работы проведены при финансовой поддержке Федеральной целевой программы “Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 гг.” (соглашение о предоставлении субсидии № 14.604.21.0057 от 27.06.2014 г.). Доклинические исследования препарата проведены при финансовой поддержке Федеральной целевой программы “Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу” (Государственный контракт № 14.N08.11.0189 от 27.11.2017 г.). Исследование “Аптамеры как инструменты повышения противоопухолевой эффективности онколитического вируса VV-GMCSF-Lact для терапии злокачественных опухолей головного мозга” выполняется за счёт гранта Российского научного фонда № 22-64-00041 (<https://rscf.ru/project/22-64-00041/>).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Lauer U.M., Beil J.* Oncolytic viruses: challenges and considerations in an evolving clinical landscape // *Future Oncol.* 2022. V. 18. P. 2627–2766.
2. *Li K., Zhao Y., Hu X. et al.* Advances in the clinical development of oncolytic viruses // *Am. J. Transl. Res.* 2022. V. 14 (6). P. 4192–4206.
3. *Yun C.O., Hong J., Yoon A.R.* Current clinical landscape of oncolytic viruses as novel cancer immunotherapeutic and recent preclinical advancements // *Front. Immunol.* 2022. V. 13. 953410.

4. *Lin D., Shen Y., Liang T.* Oncolytic virotherapy: basic principles, recent advances and future directions // *Signal Transduct. Target Ther.* 2023. V. 8 (1). 156.
5. *Pol J., Kroemer G., Galluzzi L.* First oncolytic virus approved for melanoma immunotherapy // *OncoImmunology.* 2015. V. 5. e1115641.
6. *Liang M.* Oncorine, the World First Oncolytic Virus Medicine and its Update in China // *Curr. Cancer Drug Targets.* 2018. V. 18 (2). P. 171–176.
7. *Hietanen E., Koivu M.K.A., Susi P.* Cytolytic Properties and Genome Analysis of Rigvir® Oncolytic Virotherapy Virus and Other Echovirus 7 Isolates // *Viruses.* 2022. V. 14 (3). 525.
8. *Mastrangelo M.J., Maguire H.C., Lattime E.C.* Intraleisional vaccinia/GM-CSF recombinant virus in the treatment of metastatic melanoma // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2000. V. 465. P. 391–400.
9. *Liu T.C., Hwang T., Park B.H. et al.* The targeted oncolytic poxvirus JX-594 demonstrates antitumoral, anti-vascular, and anti-HBV activities in patients with hepatocellular carcinoma // *Mol. Ther.* 2008. V. 16. P. 1637–1642.
10. *Heo J., Reid T., Ruo L. et al.* Randomized dose-finding clinical trial of oncolytic immunotherapeutic vaccinia JX-594 in liver cancer // *Nat. Med.* 2013. V. 19. P. 329–336.
11. *Parato K.A., Breitbach C.J., Le Boeuf F. et al.* The oncolytic poxvirus JX-594 selectively replicates in and destroys cancer cells driven by genetic pathways commonly activated in cancers // *Mol. Ther.* 2012. V. 20. P. 749–758.
12. *Hou W., Chen H., Rojas J. et al.* Oncolytic vaccinia virus demonstrates antiangiogenic effects mediated by targeting of VEGF // *Int. J. Cancer.* 2014. V. 135. P. 1238–1246.
13. *Chan W.M., McFadden G.* Oncolytic Poxviruses // *Annu. Rev. Virol.* 2014. V. 1. P. 119–141.
14. *Zeh H.J., Downs-Canner S., McCart J.A. et al.* First-in-man study of western reserve strain oncolytic vaccinia virus: safety, systemic spread, and antitumor activity // 2015. *Mol. Ther.* V. 23. P. 202–214.
15. *Downs-Canner S., Guo Z.S., Ravindranathan R. et al.* Phase 1 Study of Intravenous Oncolytic Poxvirus (vvDD) in Patients with Advanced Solid Cancers // *Mol. Ther.* 2016. V. 24 (8). P. 1492–1501.
16. *Zonov E., Kochneva G., Yunusova A. et al.* Features of the antitumor effect of vaccinia virus Lister Strain // *Viruses.* 2016. V. 8 (1). 20.
17. *Semenov D.V., Fomin A.S., Kuligina E.V. et al.* Recombinant analogs of a novel milk pro-apoptotic peptide, lactaptin, and their effect on cultured human cells // *Protein J.* 2010. V. 29. P. 174–180.
18. *Koval O.A., Fomin A.S., Kaledin V.I. et al.* A novel pro-apoptotic effector lactaptin inhibits tumor growth in mice models // *Biochimie.* 2012. V. 94. P. 2467–2474.
19. *Fomin A.S., Koval' O.A., Semenov D.V. et al.* The analysis of biochemical markers of MCF-7 cells apoptosis induced by recombinant analog of lactaptin // *Bioorg. Khim.* 2012. V. 38. P. 92–98.
20. *Koval O.A., Sakaeva G.R., Fomin A.S. et al.* Sensitivity of endometrial cancer cells from primary human tumor

- samples to new potential anticancer peptide lactaptin // *J. Cancer Res. Ther.* 2015. V. 11. P. 345–351.
21. Koval O.A., Tkachenko A.V., Fomin A.S. et al. Lactaptin induces p53-independent cell death associated with features of apoptosis and autophagy and delays growth of breast cancer cells in mouse xenografts // *PLoS One.* 2014. V. 9. e93921.
 22. Kumar A., Taghi Khani A., Sanchez Ortiz A., Swaminathan S. GM-CSF: A Double-Edged Sword in Cancer Immunotherapy // *Front. Immunol.* 2022. V. 13.
 23. Kochneva G., Sivolobova G., Tkacheva A. et al. Engineering of double recombinant vaccinia virus with enhanced oncolytic potential for solid tumor virotherapy // *Oncotarget.* 2016. V. 7. P. 74171–74188.
 24. Кочнева Г.В., Ткачёва А.В., Сиволобова Г.Ф. и др. Противоопухолевый потенциал рекомбинантного штамма вируса осповакцины, продуцирующего секретлируемый химерный белок, состоящий из гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора человека и онкотоксического белка лактаптина // *Биофармацевтический журнал.* 2017. № 1. С. 11–21.
 25. Vasileva N., Ageenko A., Dmitrieva M. et al. Double recombinant vaccinia virus: a candidate drug against human glioblastoma // *Life.* 2021. V. 11. P. 1084.
 26. Кочнева Г.В., Гражданцева А.А., Сиволобова Г.Ф. и др. Модель искусственного метастазирования эпидермоидной карциномы человека A431 на мышцах линии nude для исследования онколитической активности вируса осповакцины // *Вавиловский журнал генетики и селекции.* 2015. № 4. С. 480–486.
 27. Koval O., Kochneva G., Tkachenko A. et al. Recombinant vaccinia viruses coding transgenes of apoptosis-inducing proteins enhance apoptosis but not immunogenicity of infected tumor cells // *BioMed Research International.* 2017. V. 2017. 3620510.
 28. Dymova M.A., Kichkailo A.S., Kuligina E.V., Richter V.A. Aptamers enhance oncolytic viruses' antitumor efficacy // *Pharmaceutics.* 2023. V. 15. 151.

ANTITUMOR DRUG BASED ON THE GENE-MODIFIED VACCINIA VIRUS VV-GMCSF-Lact

E. V. Kuligina^{1,2,#}, V. A. Richter^{1,##}, and V. V. Vlassov^{1,###}

¹*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia*

²*LLC “Oncostar”, Skolkovo, Moscow region, Russia*

[#]*E-mail: kuligina@niboch.nsc.ru*

^{##}*E-mail: richter@niboch.nsc.ru*

^{###}*E-mail: vlassov@mail.ru*

Virotherapy, or therapy with oncolytic viruses, is one of the most rapidly developing approaches to the treatment of a wide range of solid tumors. The article is devoted to the development and study of the properties of the first domestic drug based on recombinant vaccinia virus. The recombinant virus VV-GMCSF-Lact was engineered from Lister strain (L-IVP) vaccinia virus. The cytotoxic activity and antitumor efficacy of the virus against human tumor cells of various tissue origins were shown on cell cultures and tumor models. The drug has successfully passed preclinical studies as a drug against human breast cancer, including a triple negative phenotype. The drug was proven to be safe, well tolerated and pharmacologically effective. It is currently in Phase I clinical trials to study safety, tolerability and pharmacokinetics in patients with relapsed and/or refractory metastatic breast cancer. VV-GMCSF-Lact is the first Russian antitumor oncolytic virus which received the permission from the Russian Ministry of Health to conduct clinical trials.

Keywords: virotherapy, vaccinia virus, breast cancer, glioma, preclinical and clinical studies.

СТАНОВЛЕНИЕ ПЕНТАМЕРИИ И ОСЕВОЙ СИММЕТРИИ В ЭВОЛЮЦИИ ИГЛОКОЖИХ

© 2023 г. С. В. Рожнов^{а,*}

^аПалеонтологический институт им. А.А. Борисяка РАН, Москва, Россия

*E-mail: rozhnov@paleo.ru

Поступила в редакцию 22.07.2023 г.

После доработки 08.08.2023 г.

Принята к публикации 15.08.2023 г.

Формирование пятилучевой симметрии в эволюции иглокожих было основано на возможности среднего левого целома к терминальному росту вперёд вдоль переднезадней оси и появления у него второго вектора роста вдоль лево-правой оси при репликации сформировавшегося амбулакра. Оба вектора роста реализовались в пентамерию современных иглокожих благодаря развитию асимметрии целома и последующей торсии, связанной с прикреплением личинки к грунту передним концом тела. В этом процессе, вероятно, совместно использовались общие для билатерий молекулярно-генетические механизмы переднезаднего роста и лево-правой регуляции, связанные с генами сигнальных каскадов Wnt, BMP, Nodal и генов Нох-системы. В процессе репликации каналов, отходящих от амбулакрального кольца, формировавшаяся амбулакральная система явилась организатором симметрии скелета, нервной и мышечной системы. Репликация у многих ископаемых иглокожих закончилась на трёх каналах, отходящих непосредственно от амбулакрального кольца. У морских лилий, морских ежей, морских звёзд, офиур и голотурий проявился второй этап формирования более совершенной пятилучевой симметрии амбулакрального кольца с пятью отходящими от него радиальными каналами, связанный со смещением в онтогенезе точки ветвления на ранние стадии развития гидроцеля.

Ключевые слова: иглокожие, осевая симметрия, пентамерия, тримерия, вектор роста, амбулакральная система, эволюция, солюты, стилофоры, цинкты.

DOI: 10.31857/S0869587323090116, EDN: TYVZLS

По своей морфологии иглокожие – одна из самых необычных групп билатерий благодаря пятилучевой симметрии, отсутствию головы и хвоста. Если к этому присовокупить уникальные водно-сосудистую (амбулакральную) систему, пористый стереомный скелет из “монокристалличе-

ских” табличек и полную перестройку в онтогенезе билатеральной личинки в пентамерное взрослое животное, то становятся понятными эмоциональные высказывания о загадочности иглокожих, которыми начинаются многие статьи и руководства по их морфологии, филогении и происхождению [1].

Ископаемые иглокожие придают ещё больше загадочности происхождению и становлению этого типа вторичноротых животных из-за появления в палеонтологической летописи групп с несколько иным типом пентамерии и вообще без радиальной симметрии. Но они же помогают понять и связать воедино сравнительно-анатомические, эмбриологические и молекулярно-генетические данные для реконструкции становления плана строения современных иглокожих, прежде всего возникновения пентамерии и эволюции осевой симметрии.



РОЖНОВ Сергей Владимирович – академик РАН, заведующий лабораторией высших беспозвоночных ПИН им. А.А. Борисяка РАН.

ОСОБЕННОСТИ СИММЕТРИИ СОВРЕМЕННЫХ ИГЛОКОЖИХ

У взрослых иглокожих хорошо выражены несколько типов симметрии: радиальная вокруг аборально-оральной оси, метамерная, протягивающаяся вдоль проксимально-дистальной оси в каждом луче, и пять плоскостей симметрии, каждая из которых проходит через радиус и противоположный интеррадиус (рис. 1). Особо выделяется плоскость, проходящая через интеррадиус с гидropорой или мадрепоритом. В этой же плоскости у морских лилий находится анус, но у морских ежей мадрепоритовая и анальная плоскости не совпадают [1–4]. Гомология плоскостей симметрии и амбулакров у “элеветрозойных” и “пельматозойных” иглокожих – непростая задача. Поэтому для этих двух групп до сих пор применяются разные системы обозначения радиусов. Личинки иглокожих являются билатеральными, точнее, билатерально-асимметричными, с хорошо выраженной переднезадней осью, вдоль которой располагаются три пары целомов, маркирующие трёхраздельную метамерию. Билатеральное заложение в онтогенезе трёх пар целомов быстро переходит в их асимметричное развитие, которое подчёркивается расположением слева от личиночной плоскости единственной гидropоры, связывающей средний левый целом, гидроцель, через левый передний целом с внешней средой [5]. Переход от билатеральной асимметрии личинки к радиальной симметрии взрослого животного, а также соотношение переднезадней оси личинки и личиночной плоскости симметрии с осями и плоскостями взрослого животного – актуальная проблема биологии развития [4]. Подобная проблема параллельно существует и в палеонтологических исследованиях эволюции и филогении вымерших иглокожих [2–4], разнообразие которых охватывает не менее пятнадцати классов, причём четыре из них исходно не обладали радиальной симметрией.

Пятилучевая симметрия амбулакального кольца и его организующая роль в развитии нервной системы и скелета в онтогенезе. Представители каждого из пяти классов современных иглокожих (морские ежи, морские звёзды, офиуры, голотурии и морские лилии) имеют хорошо развитую пятилучевую симметрию, которая охватывает амбулакральную, нервную, пищеварительную систему и скелет. В онтогенезе иглокожих пятилучевая симметрия сначала появляется при развитии амбулакального кольца из гидроцеля, который разрастается вокруг пищевода и замыкается в кольцо. Перед замыканием на кольцо возникают пять зачатков амбулакальных радиальных каналов, на которых в процессе терминального роста формируются справа и слева амбулакральные щупальца или ножки [1, 5].

Морфологические, эмбриологические и молекулярно-генетические данные указывают на организующую и индуцирующую роль амбулакальной системы в развитии пятилучевой симметрии остальных систем органов [2–5]. Скелет, нервная и мышечная системы повторяют симметрию амбулакальной системы, пятилучевая симметрия которой в онтогенезе появляется раньше остальных. Морфология скелета многих ископаемых иглокожих тоже указывает на организующее действие амбулакальной системы на расположение прилегающих к ней табличек скелета и через них на более удалённые регионы скелета [2, 3]. На примере голотурии *Apostichopus japonicus* показано, что пятилучевая симметрия сначала возникает на амбулакральном кольце, а экспрессия мышечных и нервных маркерных генов свидетельствует о прямом участии гидроцеля в развитии взрослых мышц и нервных тяжёлых [6]. Сделанные на голотурии выводы об организующей роли лопастей развивающегося амбулакального кольца в развитии пентамерии остальных органов вполне можно распространить на других иглокожих.

Развитие правых переднего и среднего целомов затухает уже на ранних стадиях онтогенеза. В этом проявляется билатеральная асимметрия в развитии иглокожих [1, 5]. Исходная переднезадняя ось личинки переформатируется в орально-аборальную ось взрослого пятилучевого животного [4] и меняет своё направление на противоположное благодаря торсионному процессу, проходящему одновременно с перестройкой целомов.

Процесс торсии (элевации) и инверсия переднезадней оси. Процесс изменения направления переднезадней оси иглокожих, торсии, наиболее полно представлен в онтогенезе морских лилий, тогда как у остальных классов современных иглокожих он сильно спрямлён [5]. У морских лилий инверсия переднезадней оси начинается после прикрепления к субстрату личинки передней частью её вентральной стороны, когда зачаток рта вместе с передними и средними целомами перемещается на противоположный, задний конец прикрепленной личинки. Её тело изгибается и принимает вертикальное положение, и задний конец личинки становится ещё и верхним [1–5, 7]. У взрослых морских лилий, как и у ископаемых blastozойных и других иглокожих, наличие этих процессов в онтогенезе может быть выражено не только расположением рта и ануса на одном конце тела, но и закономерным изгибом тела при гетерохрониях – задержке или переразвитии этих процессов в онтогенезе [8–10]. Такой изгиб ярко выражен у нескольких семейств морских лилий, ископаемых паракриноидей и эокриноидей, а также в качестве отдельных aberrаций разной частоты встречается у многих видов других стебельчатых иглокожих [8–10]. Так как процесс торсии

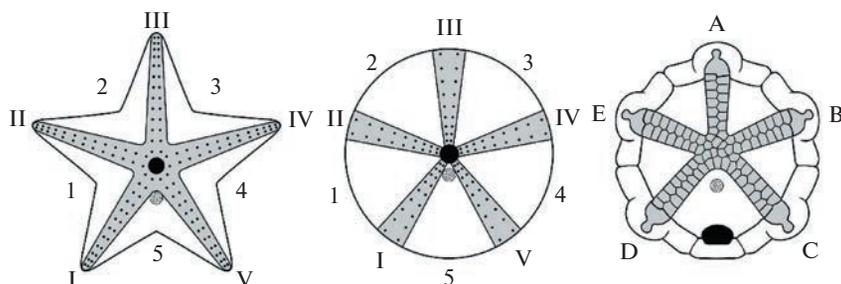


Рис. 1. Схема симметрии морской звезды, морского ежа и морской лилии. Вид сверху
Радиусы показаны серым, гидropора/мадрепорит показана точками, анус зачернён. У морских звёзд и морских ежей радиусы обозначены латинскими цифрами I-V, а интеррадиусы арабскими цифрами 1–5; у морских лилий радиусы обозначены прописными латинскими буквами A, D, C, D, E. Интеррадиусы обозначаются двумя буквами соседних радиусов

проходит в личиночной плоскости, то связанное с ним искривление тела взрослого животного позволяет связать личиночную плоскость с одной из пяти плоскостей симметрии пятилучевого иглокожего [9, 11].

Нарушения пятилучевой симметрии и пять плоскостей симметрии. У пятилучевого иглокожего есть пять плоскостей симметрии, среди которых хорошо выделяется мадрепоритовая плоскость, проходящая через интеррадиус с гидropорой/мадрепоритом (см. рис. 1). Изучение аберрантных форм и таксонов стебельчатых иглокожих с искривлением теки, обусловленным недоразвитием или переразвитием торсии, позволило показать, что плоскость искривления тела у всех представителей всегда одна и та же и проходит через радиус E и интеррадиус BC [8–10]. Такое постоянство свидетельствует о её соответствии личиночной плоскости симметрии. Плоскость симметрии, в которой находится гидropора/мадрепорит (A–CD), является ближайшей соседней и тем самым хорошо соответствует расположению гидropоры с левой стороны от плоскости симметрии личинки. Это свидетельствует и о вторичном перемещении ануса в единую плоскость с гидropорой, что подтверждается современными эмбриологическими данными по морским лилиям [12, 13], и позволяет объяснить расположение ануса в радиусе C у некоторых групп blastozooidных иглокожих как неоконченное перемещение ануса по часовой стрелке из первоначального расположения в личиночной плоскости в сторону интеррадиуса с гидropорой [9, 14]. У морских ежей анус и гидropора не соединились в единую плоскость [5].

Соотношение плоскостей симметрии взрослого пятилучевого иглокожего с личиночной плоскостью, выявленное по плоскости торсионного процесса, может служить репером для гомологизации амбулакров у разных классов blastozooidных иглокожих и морских лилий [11]. Но гомологизировать амбулакры стебельчатых иглокожих с амбулакрами элевтерозойных иглокожих по этому реперу непосредственным образом трудно. Свя-

зующим звеном может быть проявление закона Ловена в распределении первых табличек в скелете амбулакров морских ежей и расширенного для эдриобластоидей, части офиур, голотурий и многих blastozooidных иглокожих в появлении других структур [15].

Трёхлучевая симметрия и закон Ловена. Закон Ловена отражает важное фундаментальное нарушение пятилучевой симметрии, выраженное в скелете, – высвечивание трёхлучевой симметрии. У морских ежей она выявляется в разном расположении и размерах первых, базикорональных, табличек в амбулакальных рядах скелета [15]. Этот закон проявляется у офиур и голотурий, а также у ряда ископаемых форм, что связано с особенностями ветвления амбулакров при переходе от трёхлучевой симметрии к пятилучевой [15]. Трёхлучевая симметрия проявляется в размерах и расположении оральных табличек у морских лилий в виде триады больших табличек на ранних стадиях развития скелета и диады маленьких, более коротких табличек [9]. Эти проявления трёхлучевой симметрии в строении скелета отражают предковую трёхлучевую симметрию амбулакального кольца, характерную для многих палеозойских иглокожих и выраженную в скелете отходящих от рта только трёх амбулакров (рис. 2), два из которых ветвятся на небольшом расстоянии ото рта (пятилучевая симметрия по типу 2–1–2) [2, 3, 9, 16]. Эти проявления тримерии мы рассмотрим позже, а пока укажем, что она отражена и в молекулярно-генетических механизмах формирования пентамерии [17–19].

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОСНОВА ФОРМИРОВАНИЯ ПЕРЕДНЕЗАДНЕЙ ОСИ ЛИЧИНКИ, ОРАЛЬНО-АБОРАЛЬНОЙ И ПРОКСИМАЛЬНО-ДИСТАЛЬНЫХ ОСЕЙ ВЗРОСЛЫХ ИГЛОКОЖИХ

Разметка осевого плана строения у эмбрионов иглокожих, как и всех Metazoa, осуществляется в виде системы позиционной информации, фор-

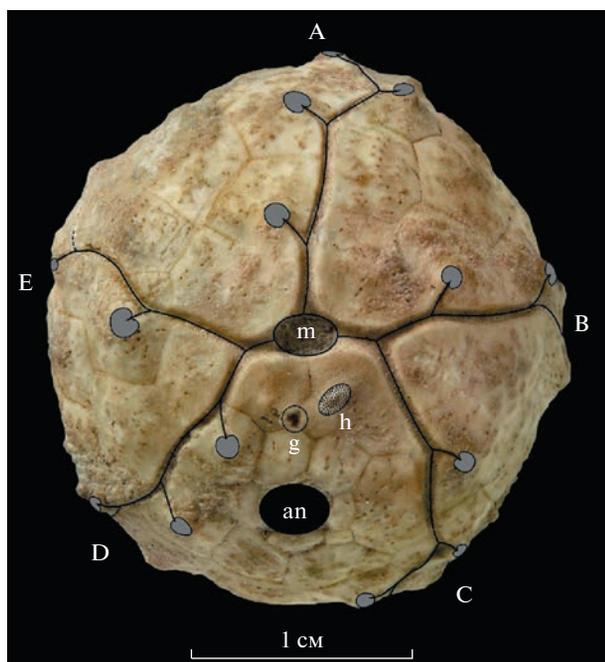


Рис. 2. Тримерия в отхождении амбулакров от рта у диплоритной цистоидеи *Protocrinites fragum*. Ордовик, Ленинградская область
Тонкие чёрные линии показывают расположение радиальных амбулакральных каналов, отходящих от кольцевого амбулакрального канала вокруг пищевода, и подходящих к фасеткам (показаны серым) для прикрепления брахиол. Условные обозначения: an – анус, g – гонопора, h – гидропора, m – рот, буквами А, В, С, D, E обозначены радиусы

мируемой молекулами сигнальных путей, функционирующими как морфогены-организаторы. Эта позиционная информация транслируется в фенотипические осевые различия развивающегося организма [20, 21]. Сигнализация Wnt инициирует временную и пространственную экспрессию генов Нох-кластера, которая специфицирует позиционную информацию вдоль переднезадней оси раннего эмбриона и в координации с геном *Cdx/caudal* кластера генов ParaНох детерминирует векториальный рост развивающегося животного. Гены сигнального каскада Wnt вовлечены в формирование претерминальной зоны роста с прогениторными клетками, характерной для большинства Bilateria [4, 20, 21]. Постериорный рост тела и присутствие единственной оси роста характерны для большинства Metazoa, но у тетраподных позвоночных и у иглокожих появляется несколько осей роста [4, 22]. У зародыша тетрапод, помимо хвостовой почки как основного вектора роста, формируются ещё четыре дополнительных в виде двух пар латеральных почек конечностей. У большинства взрослых современных иглокожих выявляются орально-аборальная, протягивающаяся от рта к противоположному аборальному полюсу, и пять проксимо-дисталь-

ных осей, проходящих вдоль каждого луча от его начала у ротового отверстия к его дистальному, терминальному концу [23, 24].

Дизордер в расположении генов Нох-кластера морских ежей как следствие торсии. Открытие у морских ежей дизордера в Нох-кластере [25] и порядок расположения целомов у современных иглокожих [26, 27] позволили выдвинуть гипотезу “стопки целомов” происхождения пятилучевой симметрии у иглокожих. Согласно этой гипотезе, дизордер в расположении генов Нох-кластера, выраженный в транслокации и инверсии передних *Нох*-генов, привёл к перестройке предкового билатерального плана строения в последовательное расположение всех целомов друг за другом, в стопку, и на этой основе к формированию нового пентарадиального плана строения. Из этого следовало, что такой дизордер существует у всех иглокожих и является их апоморфией [27, 28]. Альтернативой этому взгляду стало предположение, что транслокация и инверсия передних *Нох*-генов произошла из-за необходимости создать в Нох-кластере новую пространственную коллинеарность преимущественно у морских ежей с их сильно спрямлённым онтогенезом после инверсии целомов в результате торсионного процесса [10]. Открытое в дальнейшем отсутствие дизордера у морских лилий и морских звёзд подтвердило это предположение [23]. Тем не менее орально-аборальную ось можно рассматривать как переднезаднюю ось личинки иглокожих, инвертированную торсионным процессом и модифицированную в результате построения всех целомов в единую стопку. Это подтверждает распределение экспрессии генов Нох-кластера вдоль этой оси. Лишь у голотурий наблюдается приобретённое вторично более прямое соответствие орально-аборальной полярности личиночной оси и переднезадней полярности других билатерий [24].

Репликация переднезадней оси предковых билатерий как путь развития пентамерии. Другая гипотеза формирования пентамерии связана с доказательствами гомологии проксимально-дистальной оси каждого луча иглокожих переднезадней оси предковых билатерий. Зона роста амбулакральных радиальных каналов и окружающих их структур, включая скелет, располагается на их дистальном конце, что позволяет выявить в каждом луче переднезаднюю ось, направленную в прокси-дистальном направлении ото рта к концу амбулакра. Попарное расположение амбулакральных шупалец/ножек вдоль радиального канала и структур скелета указывает на своеобразную метамерность амбулакров. Эти особенности свидетельствуют о соответствии прокси-дистальной оси лучей переднезадней оси билатеральной личинки и тела предковых билатерий [4, 20]. Картирование экспрессии *Нох*-генов по оси лучей иглокожих [23] подтверждает такой вывод и показы-

вает возможность возникновения амбулакров путём репликации анцестральной оси тела по аналогии с гипотезой возникновения почек конечностей у позвоночных [4, 20].

Вместе с тем разнообразие форм животных основано на небольшом числе сигнальных путей, общих для всех основных типов Metazoa [21, 24]. Поэтому репликация анцестральной оси тела может представлять собой последовательную кооптацию элементов молекулярно-генетической машинерии формирования анцестральной оси тела в постепенное развитие парных выростов тела у позвоночных и в развитие амбулакров у иглокожих. У иглокожих репликация основной оси тела сопровождалась разрастанием левого гидроцеля вокруг пищевода по часовой стрелке, в ходе которого происходило увеличение числа амбулакров и их усложнение. Этот процесс можно проследить по изменению морфологии и симметрии ископаемых иглокожих.

Палеонтологические свидетельства репликации предковой переднезадней оси. Морфология современных и ископаемых иглокожих показывает, что у них нет хвостового придатка. Стебель иглокожих, хвостовидный вырост солот и цинкт, которые иногда гомологизируют с хвостом, вторичны, имеют другую модель роста, возникшую после торсионного процесса [9]. Мощный пищеворный отросток стилофор, в некоторых случаях выполнявший функциональную роль хвоста, располагался на переднем конце тела [4]. Модель его формирования можно представить как зеркальное отражение морфологической и, видимо, молекулярно-генетической модели переднезаднего роста, локализуемого в задней части тела предковых билатерий, на передний конец тела стилофор.

У многих бластозойных иглокожих амбулакры стелились по поверхности скелета тела и тем самым имели упрощённое строение, которое, вероятно, нуждалось для своего роста в менее сложном молекулярно-генетическом механизме, чем, например, у морских лилий или морских звёзд. Ещё более просто были устроены амбулакры у цинкт – в виде единственного пищеворного желобка у примитивных представителей, стелющегося по левому краю скелета без образования специального выроста [11]. Появление у них второго амбулакра на правой стороне тела показывает, что процесс репликации лучей мог происходить ещё до формирования полных эволюционно законченных морфогенетической модели и молекулярно-генетического аппарата переднезаднего роста в развитии предкового амбулакра.

Таким образом, для формирования просто устроенных амбулакров у цинкт и, видимо, у многих представителей бластозой со стелющимся по поверхности скелета тела пищеворным желобком могло быть достаточно более простого моле-

кулярно-генетического аппарата, чем при развитии лучей современных иглокожих. На мой взгляд, кооптация элементов молекулярно-генетического аппарата переднезаднего роста предковых билатерий в развитие амбулакров и связанных с ними структур могла происходить постепенно и неоднократно при достижении определённого уровня в развитии амбулакальной системы, а именно при сопряжении амбулакров с выростами тела, например, при формировании плана строения морских звёзд, офиур, криноидей, многих классов стебельчатых иглокожих в подтипе бластозой, солот и стилофор или при вовлечении амбулакров в построение всего тела, как у морских ежей.

Увеличение числа амбулакров и соответствующих проксимально-дистальных осей до пяти тоже произошло не сразу. Непосредственные предки современных классов иглокожих и большинство других палеозойских классов обладали трёхлучевым строением амбулакального кольца (см. рис. 2), или подковы, если оно было у них ещё не замкнуто. Об этом свидетельствуют как рассмотренные выше морфологические особенности строения скелета современных иглокожих, так и выявленная у морского ежа *Peronella japonica* тримерия в экспрессии генов *Hox1*, *Hox5*, гомеобоксного гена *Orthodenticle*, *Hox11-13* [17, 18], а также других исследованных генов [19]. Детали перехода от трёхлучевой к пятилучевой симметрии показывают многие палеозойские иглокожие.

СОЧЕТАНИЕ ТРЁХЛУЧЕВОЙ И ПЯТИЛУЧЕВОЙ СИММЕТРИИ У ПАЛЕОЗОЙСКИХ ИГЛОКОЖИХ

Давно замечено, что для вымерших палеозойских классов иглокожих характерен иной тип пентамерии, чем для современных. У современных иглокожих все пять амбулакров непосредственно отходят от рта, а от амбулакального кольца – пять радиальных каналов [1, 5]. У многих представителей бластозойных иглокожих и эдриоастероидей непосредственно от рта отходят только три амбулакра, два из которых на небольшом расстоянии от рта ветвятся (см. рис. 2), образуя таким образом пятилучевую симметрию в дальнейшем расположении амбулакров [2–4, 9, 16]. Поэтому можно уверенно предположить, что у ископаемых иглокожих с тремя отходящими непосредственно от рта амбулакрами прямо от кольцевого амбулакального канала отходило только три радиальных канала. Значит, все такие палеозойские иглокожие с пентамерным скелетом имели трёхлучевую симметрию амбулакального кольца в отличие от пятилучевого амбулакального кольца появившихся в ордовике пяти современных классов. Несмотря на это, только три близких рода раннекембрийских иглокожих, объединённых в семейство *Helicoplacoidae*, име-

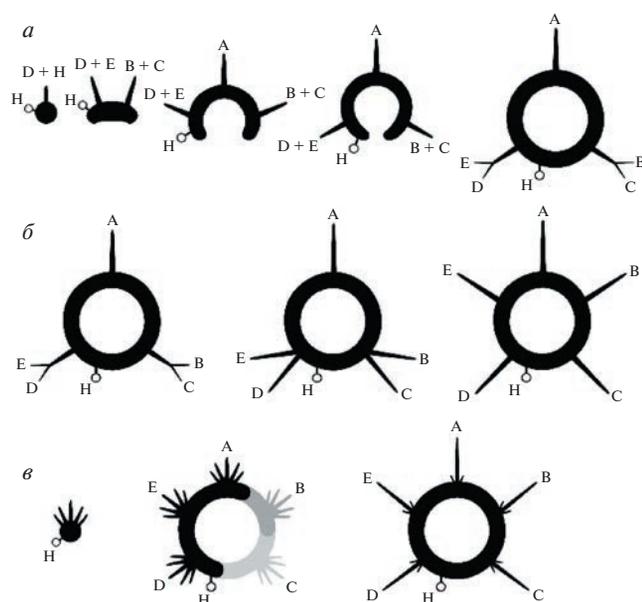


Рис. 3. Схема последовательного формирования амбулакальной системы с тремя отходящими от кольцевого канала радиальными каналами, два из которых ветвятся, в эволюции от предка с одним амбулакром (а) дальнейшего её перехода в онтогенезе к пятилучевому строению (б), усложнённому, вероятно, у морских лилий смещением закладки амбулакальных каналов на раннюю стадию развития гидроцеля (в)

Буквами А, В, С, D, Е обозначены радиусы, Н – гидропора

ли исходно трёхлучевую симметрию в расположении амбулакров [29].

Таким образом, у многих палеозойских иглокожих репликация переднезадней оси застыла на стадии трёх радиальных каналов, отходящих от амбулакального кольца. Общий пентамерный облик их скелета обусловлен ветвлением двух из трёх первичных радиальных каналов вскоре после отхождения от рта и индуцированием возникшей вследствие этого пятилучевой симметрии амбулакров в строении скелета. Поэтому в результате репликации у иглокожих сначала появились только три луча, а два других – в результате ветвления двух из них (рис. 3а). Так сформировалась первичная несовершенная пятилучевая симметрия, которая у всех современных классов иглокожих преобразовалась в настоящую пентамерию с пятью радиальными каналами, отходящими непосредственно от амбулакального кольца (рис. 3б).

У всех пяти классов современных иглокожих, появившихся в ордовике, место разветвления сместилось в онтогенезе на более раннюю стадию развития, и на подкове развивающегося кольцевого канала сразу стали возникать все пять зачатков радиальных каналов. Механизм включения места разветвления непосредственно в амбула-

кральное кольцо неизвестен. Но по особенностям появления и развития каждого зачатка в онтогенезе современных морских лилий в виде сначала трёх, а потом ещё двух щупальцевидных выростов, из среднего из которых развивается радиальный канал, можно предположить следующую последовательность эволюционного развития амбулакального кольца (рис. 3в) [4, 9]: сначала развитие трёх каналов сместилось в онтогенезе на раннюю стадию формирования кольца, а затем на эту стадию сместилось ветвление амбулакров; в результате в онтогенезе могла появиться гипотетическая стадия развития гидроцеля в виде мешка с пятью зачатками щупалец, который потом полимеризовался, реплицировавшись четыре раза вокруг пищевода, и превратился в замкнутое кольцо; в каждом зачатке средний вырост развился в радиальный канал, а сформировавшиеся рядом с ним редуцировались. Палеонтологическим доказательством в пользу такого формирования амбулакальной системы у морских лилий может служить существование в палеозое морских лилий с многочисленными лучами (руками), отходящими непосредственно от каждой или только нескольких радиальных табличек. Видимо, выросты, окружающие в каждом радиусе зачаток амбулакального радиального канала обычных морских лилий, в этом случае не редуцировались, а развились в дополнительные лучи [9].

ИГЛОКОЖИЕ, ИСХОДНО НЕ ИМЕВШИЕ ПЕНТАМЕРИИ

В раннем палеозое встречаются разнообразные иглокожие, исходно не имевшие радиальной симметрии (рис. 4): билатерально-асимметричные солюты, цинкты, стилофоры и почти билатерально симметричные ктеноцистиды с близкими к ним по морфологии ктеноимбрикатами. Их объединяли в особый таксон карпозойных иглокожих или в отдельный подтип *Homalozoa*, которые интерпретировались как базальные прерадиальные иглокожие, как производные от пентамерных иглокожих, как стволовая группа полухордовых и как базальная группа хордовых. Детальное рассмотрение конструктивной морфологии их скелета и анализ осевой симметрии тела показывает, что этот подтип – сборный и каждый из составляющих его четырёх небольших классов обособился на разных стадиях ранней эволюции от бесклетных предковых билатерий к современным пятилучевым иглокожим. Эти группы хотя и не были непосредственными предками пентамерных иглокожих, но детали их строения, по-видимому, отражают особенности морфологической эволюции таинственных первых билатерий.

Для понимания плана строения каждого из этих четырёх классов необходимо было выявить возможность существования в онтогенезе ключе-

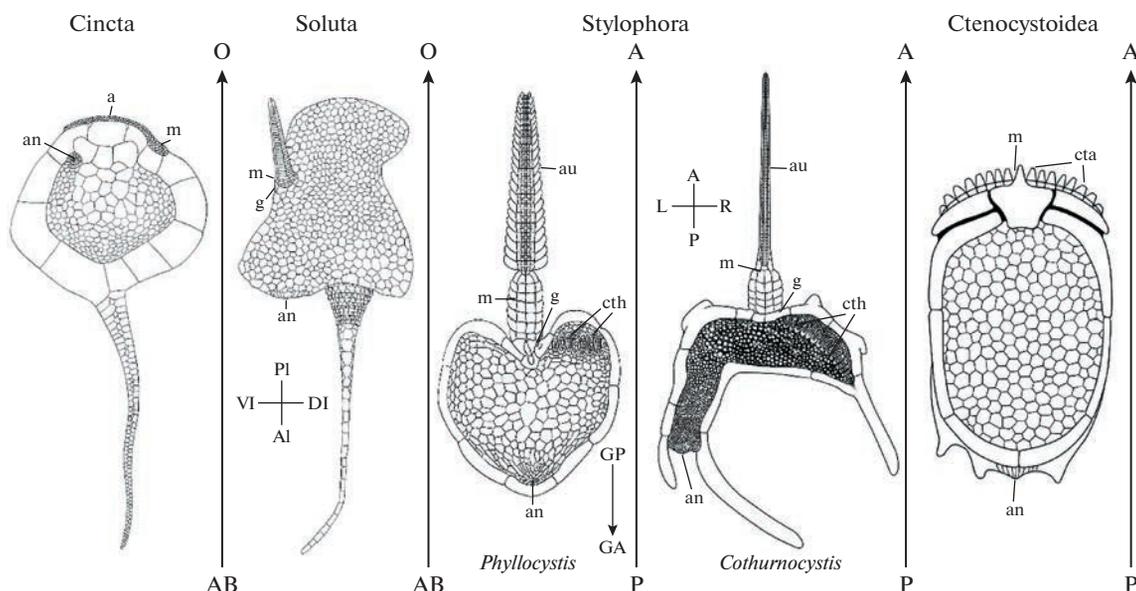


Рис. 4. Схема осевой симметрии иглокожих (цинкты, солюты, стилофоры и ктеноцистиды), исходно не имевших радиальной симметрии

Условные обозначения: а – амбулак, an – анус, au – аулакофор, cta – ктеноидный аппарат, cth – котурнопоры, g – гонопора, h – гидропора/мадрепорит, m – рот; стрелками показаны направления осей с обозначением: А – переднее направление, Р – заднее направление, О – оральный конец, АВ – аборальный конец; у солют перекрестие показывает соотношение сторон взрослого животного и гипотетической личинки (Al и Pl – передний и задний конец личинки, VI и DI – вентральная и дорсальная сторона личинки), у стилофор перекрестие показывает совпадение переднезадней оси (А–Р) и лево-правой оси (L–R) взрослого животного и гипотетической личинки; у стилофоры *Phyllocystis* показана возникшая гидродинамическая передне-задняя ось (GA–GP), противоположная по направлению анатомической

вых процессов, известных в индивидуальном развитии современных иглокожих. Асимметричное развитие целомов, торсионный процесс перемещения рта с переднего конца личинки на задний конец взрослого организма и связанная с этим инверсия переднезадней оси, а также появление новых осей роста – те ключевые процессы, о присутствии которых можно судить по морфологии взрослых животных и по которым можно оценить эволюционный уровень развития этих групп. Конструктивные особенности их пищеварного аппарата выявляют ограничения в возможностях их эволюции.

Солюты имели торсию, но конструктивно у них не могло быть второго амбулакра. У большинства солют плоское тело, покрытое скелетом из типичных для иглокожих табличек, есть хвостовидный отросток, близ которого расположен анус, и полностью закрывающий рот единственный пищеварный отросток, связанный с амбулакальной системой (см. рис. 4). Уникальный кембрийский представитель этой группы имел мешковидное тело и прикрепительную подошву на конце хвостовидного отростка. Мадрепоритовая табличка, несущая множество гидропор и одну более крупную гонопору, расположена рядом с местом отхождения пищеварного отростка, что свидетельствует об асимметрии в развитии левых

и правых целомов. Из-за необычного сочетания признаков и их многозначной интерпретации представление о систематическом положении солют у разных авторов колебалось от близкой к полухордовым группы до бластозойных иглокожих [11]. Изменчивость положения пищеварного отростка у разных родов от срединно-бокового до дистального вдоль одной плоскости хорошо объясняется наличием торсионного процесса в его онтогенезе [11]. Это убедительно соответствует другим особенностям солют и позволяет выявить гомологии сторон тела взрослого животного и их гипотетической личинки. Пищеварный отросток полностью закрывал рот и конструктивно от рта не мог отходить ещё хотя бы один отросток. Тем самым филогенетическая позиция и эволюционный уровень солют реконструируется как ответвление от основного ствола развития иглокожих, застывшее в своей эволюции сразу после торсионного процесса. Соответственно переднезадняя ось у взрослого животного изменила своё направление на противоположное, как у современных морских лилий, и потому её можно назвать инвертированной. Хвостовидный отросток солют является новообразованием, сходным по происхождению и морфогенезу со стеблем морских лилий [11].

Цинкты обладали одним или двумя амбулакрами и, вероятно, в их онтогенезе протекал торсионный процесс. Цинкты исключительно кембрийская группа, представители которой имели плоское тело, оконтуренное маргинальными табличками, с небольшим хвостовидным придатком, ртом с отходящими от него направо и налево двумя амбулакрами или только одним левым амбулакром. Анус и возможная гидропора располагались в левой передней части тела животного (см. рис. 4). Справа от рта находилось ещё одно отверстие неясного происхождения и функции. Переднее расположение рта и ануса свидетельствует о возможности торсионного процесса в онтогенезе цинкт [11]. Наличие только одного амбулакра у части представителей может говорить об асимметричном развитии целомов. Появление второго амбулакра указывает на конструктивную возможность появления третьего амбулакра и возникновения пятилучевой симметрии у возможных потомков цинкт и тем самым на его близость к основному стволу развития иглокожих в сторону пентамерии. Но третье отверстие, помимо рта и ануса, непонятного происхождения и функции, трактуемое иногда как вход в своеобразную атриальную полость, делает цинкт сильно специализированной группой, обособившейся после торсии и сохранившей архаические черты, связывающие их с бесскелетными предками иглокожих.

Стилофоры конструктивно могли обладать только одним амбулакром, не имели торсии в онтогенезе и проявляют черты сходства с хордовыми. Стилофоры — одна из наиболее загадочных групп билатерий, морфология которой нередко интерпретировалась противоположным образом. Единственный членистый отросток считался пищевым отростком с амбулакром согласно аулакофорной гипотезе Ж. Убагса [30] или хвостом в кальцихордатной гипотезе Р. Джефриеса [31]. После открытия в ордовике Марокко образцов со следами строения мягкого тела и их тщательного изучения интерпретация пищевого отростка стилофор как аулакофора, несущего пищевую борозду с протягивающимся вдоль него амбулакральным каналом, стала наиболее обоснованной [32]. При такой интерпретации переднезадняя ось стилофор, как и у остальных билатерий, протягивалась от рта, находившегося в проксимальной части аулакофора, к анусу на противоположном конце тела, покрытого типичными для иглокожих стереомными кальцитовыми табличками (см. рис. 4). Такое расположение оси тела указывает на отсутствие торсии в онтогенезе стилофор [33]. У *Phyllocystis* хорошо выражена гидродинамическая переднезадняя ось противоположного направления, обусловленная их образом жизни [33]. Аулакофор имел терминальный рост, как и хвост хордовых, но в отличие от

него, находился на переднем конце тела. Тем самым модель его осевого роста можно рассматривать как зеркальное отражение модели переднезаднего роста постанального хвостового продолжения тела предковых билатерий.

Гидропора (ею у *Phyllocystis*, *Cothurnocystis* и некоторых других представителей, по-видимому, является правое адоральное отверстие) находилась справа от переднезадней оси [29], что противоположно левому расположению гидропоры у билатеральной личинки современных иглокожих. Правое расположение гидропоры сочетается с меньшей длиной правой стороны теки относительно левой у корнутых стилофор с билатерально-асимметричным очертанием теки. На правой стороне тела расположена серия котурнопор. Расположение гидропоры на правой стороне тела можно объяснить двумя альтернативными предположениями. Одно из них объясняет правое расположение гидропоры развитием амбулакральной системы стилофор из правых целомов в отличие от современных левосторонних иглокожих. На такую трактовку их строения указывает существование правых и левых форм у корнута стилофоры *Peltocystis cornuta* из ордовика Франции, различающихся расположением табличек в скелете у взрослых форм [30]. Но распространялась ли эта правосторонняя асимметрия на целомы, неясно из-за отсутствия данных о расположении гидропоры у этого рода.

Альтернативная гипотеза предполагает, что брюшная сторона стилофор соответствует спинной стороне билатеральных личинок современных иглокожих и других беспозвоночных животных, то есть они были перевёрнутыми по сравнению с последними. В этом проявляется сходство стилофор с хордовыми животными, которые по анатомическим, физиологическим и молекулярно-генетическим особенностям являются перевёрнутыми относительно остальных беспозвоночных животных [34, 35]. В пользу такого предположения свидетельствует расположение котурнопор, вероятно, гомологичных жаберным щелям хордовых животных, в передней части правой стороны спинной поверхности стилофор. Если верна вторая гипотеза, то стилофоры имели более тесные родственные связи с непосредственным предком хордовых, чем остальные иглокожие.

Иглокожие с билатерально-симметричным скелетом могли быть с асимметричными целомами. Среди подобных иглокожих известны прежде всего ктеноцистоидеи с кембрийскими *Ctenocystis*, *Courtessolea*, *Jugoszoovia* и ордовикским *Conollia*. Они имеют уплощённое тело, оконтуренное маргинальными табличками у *Ctenocystis* (см. рис. 4), или более округлое тело, покрытое вытянутыми шиповидными табличками у *Conollia* [36]. На переднем конце тела у них расположен своеобраз-

ный ктеноидный аппарат, а на заднем — анус в виде пирамидки, характерной для иглокожих. Другими билатеральными иглокожими являются *Stenoiimbicata* из низов среднего кембрия Испании, близкие по строению ктеноидного аппарата к ктеноцистоидеям [37].

Судя по расположению рта и ануса на противоположных концах тела, иглокожие с билатеральным скелетом не имели торсии в онтогенезе. Поэтому их переднезадняя ось по направлению соответствует личиночной оси и переднезадней оси других билатерий. Но неясно, охватывала ли их билатеральность строение и развитие правых и левых целомов, так как гидропора у них неизвестна. Небольшая асимметрия в размерах и числе правых и левых маргиналей у *Stenocystis* указывает на возможность их внутренней асимметрии.

ПЕНТАМЕРИЯ ИГЛОКОЖИХ КАК РАЗВИТИЕ БИЛАТЕРАЛЬНОЙ АСИММЕТРИИ

Асимметрия иглокожих в развитии правых и левых целомов имеет фундаментальное значение для понимания их взрослой морфологии. Обычно её возникновение связывают с адаптацией к жизни на боку их билатерального предка [31]. Как представляется, более вероятно, что асимметрия иглокожих отражает процесс становления лево-правой оси и билатерального строения внутренних органов у первых билатерий. Лево-правая ось автоматически появляется после формирования переднезадней и дорсо-вентральной осей. Билатеральность внешних очертаний быстро и легко возникает под давлением симметрии внешней среды, но для её развития в расположении внутренних органов требуется более сложный и опосредованный морфогенетический механизм. Такой механизм появился не сразу, а выработался в процессе ранней эволюции *Metazoa*. На одном из моментов эволюции несовершенная билатеральность могла стать адаптивной в узкой экологической нише, например в движении по спиральному кругу на богатом пищей пятне грунта. Для выхода из этой узкоспециальной тупиковой ниши часть таких животных пошла по пути совершенствования билатеральности, а у других животных, наоборот, усилилась асимметрия в развитии левых средних целомов, связанных со сбором пищевых частиц. Последняя линия развития асимметрии привела к формированию иглокожих. В результате роста гидроцеля вперёд вдоль переднезадней оси формировался первый амбулак, а затем вдоль лево-правой оси с дубликацией сначала второго, а потом и третьего радиального канала появлялись дополнительные амбулакры. Это означает, что в процессе становления пентамерии должны были совместно использоваться молекулярно-генетические механизмы переднезаднего

роста и лево-правой регуляции, связанные прежде всего с генами сигнальных каскадов Wnt, BMP, Nodal и генами Нох-системы. Изучению экспрессии в амбулакральном кольце сигнального каскада Nodal-Ptx2, регулирующего лево-правую симметрию у билатерий, в настоящее время уделяется особое внимание [38]. Билатеральность амбулакров большинства иглокожих характеризуется симметрией скользящего отражения, выраженной в виде поочередно отходящих справа и слева от радиального канала амбулакральных щупалец/ножек и альтернативно чередующихся окружающих структур скелета. Изучение механизма этой модели роста представляется перспективным с точки зрения понимания формирования билатеральности у древнейших *Metazoa*.

* * *

Таким образом, формирование пятилучевой симметрии в эволюции иглокожих — сложный многоэтапный процесс, основанный на возможности среднего левого целома к терминальному росту вперёд вдоль переднезадней оси и появления у него второго вектора роста вдоль лево-правой оси при репликации сформировавшегося амбулакра. Оба вектора роста смогли реализоваться благодаря развитию асимметрии целомов и последующей торсии, связанной с прикреплением к грунту передним концом тела. Поэтому можно предположить, что в процессе становления пентамерии совместно действовали общие для билатерий молекулярно-генетические механизмы переднезаднего роста и лево-правой регуляции, связанные прежде всего с генами сигнальных каскадов Wnt, BMP, Nodal и генов Нох-системы. В процессе репликации каналов, отходящих от амбулакрального кольца, сформировавшаяся амбулакральная система выполняла роль организатора симметрии скелета, нервной и мышечной системы. Репликация закончилась на трёх каналах, отходящих непосредственно от амбулакрального кольца. У представителей классов иглокожих, доживших до современности, имел место второй этап формирования более совершенной пятилучевой симметрии амбулакрального кольца, которое у предков морских лилий проходило в два этапа — смещения на ранние стадии формирования гидроцеля закладки всех пяти радиальных каналов, а затем полимеризации этого зачатка до пяти.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор искренне благодарен В.В. Исаевой за обсуждение основных положений статьи, а Г.А. Анекеевой ещё и за помощь в подготовке рисунков к печати.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Hyman L.* The Invertebrates. V. 5. Phylum Echinodermata. New York: Mc-Graw-Hill, 1955.
2. *Rozhnov S.V.* Development of symmetry and asymmetry in the early evolution of the echinoderms // *Paleontological journal*. 2012. V. 46. № 8. P. 780–792.
3. *Rozhnov S.V.* Symmetry of echinoderms: From initial bilaterally-asymmetric metamerism to pentaradiality // *Natural Science*. 2014. V. 6. № 4. P. 171–183. <https://doi.org/10.4236/ns.2014.64021>
4. *Isaeva V.V., Rozhnov S.V.* Transformation of the Ancestral Body Plan and Axial Growth in Echinoderms: Ontogenetic and Paleontological Data // *Paleontological Journal*. 2022. V. 56. № 8. P. 863–886.
5. *Иванова-Казас О.М.* Сравнительная эмбриология беспозвоночных животных. Иглокожие и полухордовые. М.: Наука, 1978.
6. *Udagawa S., Nagai A., Kikuchi M. et al.* 2022. The pentameric hydrocoel lobes organize adult pentamer structures in a sea cucumber, *Apostichopus japonicus* // *Developmental Biology*. 2022. № 492. P. 71–78. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2022.09.002>
7. *Rozhnov S.V.* Two Coils in the Morphology of Myelodactylids (Crinoidea, Disparida): the Morphogenetic Basis of Their Formation and Adaptation Potential // *Paleontological Journal*. 2021. V. 55. № 9. P. 63–82.
8. *Rozhnov S.V.* Crookedness of the stem and crown of pelmatozoan echinoderms as resulting from different kinds of heterochrony // *Echinoderm Res. / Carnevali, M.D.C. and Bonasoro, F., Eds. Rotterdam: A.A. Balkema, 1998. P. 385–390.*
9. *Rozhnov S.V.* Morphogenesis and evolution of crinoids and other pelmatozoan echinoderms in the Early Paleozoic // *Paleontological Journal*. 2002. V. 36. Suppl. 6. P. S525–S674.
10. *Rozhnov S.V.* The anteroposterior axis in echinoderms and displacement of the mouth in their phylogeny and ontogeny // *Biology Bulletin*. 2012. V. 39. № 2. P. 162–171.
11. *Rozhnov S.V.* Solutans (Echinoderms): Evolution Frozen between Torsion and Pentaradiality // *Paleontological Journal*. 2022. V. 56. № 11. P. 1306–1321.
12. *Engle S.* Ultrastructure and development of the body cavities in *Antedon bifida* (Pennant, 1777) (Comatulida, Crinoidea). Unpubl. PhD thesis, 2013. http://edocs.fu-ber-lin.de/diss/receive/FUDIS-S_thesis_000000040355
13. *Amemiya S., Taku H., Masaaki Y. et al.* Early stalked stages in ontogeny of the living isocrinid sealily *Metacrinus rotundus* // *Acta Zool. (Stockholm)*. 2016. V. 97. № 1. P. 102–116.
14. *Rozhnov S.V.* Ordovician Paracrinoids from the Baltic: Key Problems of Comparative Morphology of Pelmatozoan Echinoderms // *Paleontological Journal*. 2017. V. 51. № 6. P. 643–662.
15. *Paul C.R.C., Hotchkiss F.* Origin and significance of Lovén's Law in echinoderms // *Journal of Paleontology*. 2020. V. 94. № 6. P. 1–14.
16. *Sumrall C.D., Wray G.A.* Ontogeny in the fossil record: Diversification of body plans and the evolution of “aberrant” symmetry in Paleozoic echinoderms // *Paleobiology*. 2007. V. 33. № 1. P. 149–163.
17. *Tsuchimoto J.* Expression Patterns of Hox Genes in the Direct-Type Developing Sand Dollar *Peronella japonica*: Insights into the Evolution of Echinoderms // *Kanazawa University Graduate School of Natural Sciences Doctoral Dissertation*, 2012. <http://hdl.handle.net/2297/34907>
18. *Tsuchimoto J., Yamaguchi M.* Hox expression in the direct-type developing sand dollar *Peronella japonica* // *Devel. Dynamics*. 2014. V. 243. № 8. <https://doi.org/10.1002/dvdy.24135>
19. *Adachi S., Niimi I., Sakai Y. et al.* Anteroposterior molecular registries in ectoderm of the echinus rudiment // *Devel. Dynamics*. 2018. V. 247. P. 1297–1307.
20. *Isaeva V.V., Rozhnov S.V.* Evolutionary transformations of the metazoan body plan: Genomic-morphogenetic correlations // *Paleontological Journal*. 2021. V. 55. № 7. P. 97–110.
21. *Isaeva V.V., Kasyanov N.V.* Symmetry transformations in metazoan evolution and development // *Symmetry*. 2021. V. 13. № 160. <https://doi.org/10.3390/sym13020160>
22. *Minelli A.* EvoDevo and its significance for animal evolution and phylogeny // *Evolutionary Developmental Biology of Invertebrates*. 2015. V. 1 / Wanninger A., ed. Wien: Springer, 2015. P. 1–24.
23. *Byrne M., Martinez P., Morris V.* Evolution of a pentamer body plan was not linked to translocation of anterior Hox genes: the echinoderm HOX cluster revisited // *Evol. Devel.* 2016. P. 1–7. <https://doi.org/10.1111/ede.12172>
24. *Omori A., Kikuchi M., Kondo M.* Larval and adult body axes in echinoderms // *Reproductive and Developmental Strategies: The Continuity of Life / Kobayashi K., Kitano T., Iwao Y., and Kondo M., eds. Tokyo: Springer Japan KK, 2018. P. 760–789.*
25. *Cameron R.A., Rowen L., Nesbitt R. et al.* Unusual gene order and organization of the sea urchin Hox cluster // *J. Exp. Zool. B. Mol. Dev. Evol.* 2006. № 306B. P. 45–58.
26. *Peterson K.J., Arenas-Mena C., Davidson E.H.* The A/P axis in echinoderm ontogeny and evolution: evidence from fossils and molecules // *Evol. Dev.* 2000. № 2. P. 93–101.
27. *Mooi R., David B.* Radial symmetry, the anterior/posterior axis, and echinoderm Hox genes // *Annu. Rev. Ecol. Evol. S.* 2008. № 39. P. 43–62.
28. *David B., Mooi R.* How Hox genes can shed light on the place of echinoderms among the deuterostomes // *EvoDevo*. 2014. № 5: 22. P. 1–19. <https://doi.org/10.1186/2041-9139-5-22>
29. *Smith A.B., Zamora S.* Cambrian spiral-plated echinoderms from Gondwana reveal the earliest pentaradial body plan // *Proc. R. Soc. B*. 2013. № 280: 20131197. <https://doi.org/10.1098/rspb.2013.1197>
30. *Ubaghs G.* Stylophora // *Treatise on Invertebrate Paleontology: Part 5. Echinodermata / Moore R.C., ed. Lawrence: Geol. Soc. Am., Boulder. 1968. P. S495–S565.*
31. *Jefferies R.P.S.* The ancestry of the vertebrates. London: British Museum (Natural History), 1986.

32. *Lefebvre B., Guensburg T.E., Martin T.L.O. et al.* Exceptionally preserved soft parts in fossils from the Lower Ordovician of Morocco clarify stylophoran affinities within basal deuterostomes // *Geobios*. 2019. V. 52. № 1. P. 27–36.
33. *Rozhnov S.V., Parsley R.L.* A new cornute (Homalozoa: Echinodermata) from the uppermost Middle Cambrian (Stage 3, Furongian) from Northern Iran: Its systematics and functional morphology // *Paleontological Journal*. 2017. V. 51. № 5. P. 500–509.
34. *Малахов В.В.* Проблема основного плана строения в различных группах вторичноротых животных // *Журнал общей биологии*. 1977. Т. 38. № 4. С. 485–499.
35. *Slack J.M.W., Holland P.W.H., Graham C.F.* The zootype and phylotypic stage // *Monthly Nature*. V. 1. № 2. P. 21–23.
36. *Rahman I.A., Stewart S.E., Zamora S.* The youngest ctenocystoids from the Upper Ordovician of the United Kingdom and the evolution of the bilateral body plan in echinoderms // *Acta Palaeontologica Polonica*. 2015. V. 60. № 1. P. 39–48.
37. *Zamora S., Rahman I., Smith A.B.* Plated Cambrian bilaterians reveal the earliest stages of echinoderm evolution // *PLoS ONE*. 2012. № 7. e38296. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038296>
38. *Byrne M., Koop D., Strbenac D. et al.* Transcriptomic analysis of Nodal- and BMP-associated genes during development to the juvenile seastar in *Parvulastra exigua* (Asterinidae) // *Marine Genomics*. 2021. № 59, 100857. P. 2–6. <https://doi.org/10.1016/j.margen.2021.100857>

ЗАМКНУТЫЕ ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ: ОТ БИОСФЕРЫ К СИСТЕМАМ ЖИЗНЕОБЕСПЕЧЕНИЯ И ОБРАТНО

© 2023 г. С. И. Барцев^{а,*}, А. Г. Дегерменджи^{а,**}

^аИнститут биофизики СО РАН ФИЦ “Красноярский научный центр СО РАН”, Красноярск, Россия

*E-mail: bartsev@yandex.ru

**E-mail: nn1947@yandex.ru

Поступила в редакцию 21.07.2023 г.

После доработки 08.08.2023 г.

Принята к публикации 15.08.2023 г.

В статье приводится краткий обзор современных представлений о природе климатических изменений. Рассмотрены обостряющиеся проблемы биосферных исследований, которые касаются, в частности, дефицита данных и уникальности экосистем. Определено ключевое отличие биосферы от природных экосистем, обеспечивающее длительное, в пределе бесконечное, существование биосферы – сбалансированность круговорота биогенов или замкнутость потоков веществ. Охарактеризованы достоинства лабораторных замкнутых экологических систем (ЗЭС) как инструментов экспериментально-теоретического изучения биосферы. Обсуждается вклад наиболее известных ЗЭС (БИОС-3, микрокосмы Фолсома, Биосфера-2, микро-ЗЭС) в понимание биосферных процессов. Обсуждаются выявленные при математическом моделировании ЗЭС проблемы и парадоксы (парадокс Вернадского–Дарвина, ограничения моделей жёсткого метаболизма), имеющие отношение к известным экологическим парадоксам Мэя и Хатчинсона. Предлагается подход на основе гибкого метаболизма, позволяющий снизить остроту этих парадоксов. С позиции “биосфера как ЗЭС” обсуждаются меры, предлагаемые в рамках так называемой зелёной инициативы, в том числе сокращение углеродного следа домашних животных, переход на электромобили и возобновляемые источники энергии, связывание углерода деревьями. Подчёркивается серьёзность проблемы биосферно-климатических изменений, которая не может быть разрешена без учёта замкнутости веществ в биосфере.

Ключевые слова: замкнутость биосферы, модели биосферы, замкнутые экологические системы, проблемы экологии, парадоксы экологии.

DOI: 10.31857/S0869587323090049, EDN: BAEISS



БАРЦЕВ Сергей Игоревич – доктор физико-математических наук, заведующий лабораторией теоретической биофизики ИБ СО РАН ФИЦ КНЦ СО РАН. ДЕГЕРМЕНДЖИ Андрей Георгиевич – академик РАН, заведующий лабораторией биофизики экосистем, директор ИБ СО РАН ФИЦ КНЦ СО РАН.

За последний век технологическая мощь человечества достигла уровня, открывающего возможность оказывать глобальное влияние на биосферу в целом. Наибольшую тревогу вызывает глобальное потепление, затрагивающее систему “биосфера–климат” (СБК). В этой связи со стороны различных кругов увеличивается алармистское давление на население разных стран с использованием средств массовой информации, а население в ответ начинает ожидать от руководства своих стран конкретных мер борьбы с климатическими изменениями.

На этом фоне возникла так называемая зелёная инициатива, которая навязывает странам требование трансформировать производственную инфраструктуру, что сопряжено с серьёзными финансовыми затратами, влечёт за собой ослож-

нения в экономике. Как представляется, прежде чем следовать в предложенном руководстве ведущих стран Запада фарватере, необходимо тщательно проанализировать ситуацию с биосферно-климатическими изменениями. Трудности её понимания во многом обусловлены тем, что приходится иметь дело с конгломератом фактов разной степени достоверности и недостаточно проработанными предположениями о причинах наблюдаемых тенденций. Поэтому в первую очередь попытаемся провести ревизию имеющихся фактов.

Факты, с которыми почти никто не спорит

1. Поверхностная среднегодовая температура Земли повышается. Отмечено, что за последние 2000 лет только в XX и XXI вв. наблюдается беспрецедентное когерентное (охватывающее 98% регионов земного шара) повышение глобальной температуры [1].

2. Концентрация CO_2 в атмосфере растёт. Как прямые измерения концентрации CO_2 , проводимые различными климатическими обсерваториями (например, Мауна-Лоа на северном склоне у вершины вулкана на острове Гавайи), так и исследования гренландских и антарктических ледяных кернов показывают, что с начала XVIII в., то есть с начала промышленной революции, концентрация CO_2 монотонно увеличивалась и только в последние годы наметилось замедление её роста.

3. Причина повышения содержания CO_2 в атмосфере — антропогенная эмиссия. Эмиссия углерода в атмосферу приближается, по оценкам, к 10 Гт в год, что составляет чуть менее 20% годичной чистой первичной продукции фотосинтеза наземных растений. На то, что это углерод именно из ископаемых топлив, указывает зарегистрированное уменьшение содержания радиоактивного изотопа C^{14} , которого нет в ископаемых топливах. Чтобы убедиться в том, что вклад человечества в эмиссию углекислого газа даже превышает вклад вулканов, достаточно посмотреть на кривую атмосферной концентрации CO_2 , полученную по данным обсерватории Мауна-Лоа, и попытаться обнаружить в ней последствия извержения вулканов Эль-Чичон и Пинотубо.

Утверждения, с которыми не все согласны

1. Повышение температуры вызвано усилением действия парникового эффекта вследствие антропогенной эмиссии CO_2 и других парниковых газов. Однако попытки объяснить наблюдаемое потепление естественными циклами не получают подтверждения — сейчас должно наблюдаться начало похолодания [2, 3].

2. Происходящие сейчас в результате антропогенного воздействия изменения климата по своим масштабам несопоставимы с естественными, например, периодическими оледенениями Земли. Это не совсем так. На протяжении четырёх ледниковых периодов, имевших место за последние 400 тыс. лет, атмосферная концентрация CO_2 варьировалась с амплитудой ~ 120 ppm [3]. При этом амплитуда изменений глобальной температуры составляла $\sim 12^\circ\text{C}$. Таких изменений температуры мы пока не наблюдаем, а вот прирост концентрации углекислого газа за 300 лет промышленной революции составил ~ 140 ppm.

Последствия этих выбросов могут быть усугублены ненулевой вероятностью перехода через порог устойчивости СБК. Авторы данной статьи, по-видимому, одними из первых [4–6] указали, что вместо медленного роста глобальной температуры возможно развитие катастрофического необратимого процесса после перехода через так называемые даты необратимости. Позднее подобную возможность начали обсуждать другие авторы [7–9], стал употребляться термин “поворотные моменты” (tipping points), что указывает на рост актуальности исследований возможных режимов СБК.

С какими проблемами приходится иметь дело?
Сложность наблюдаемых сегодня процессов состоит в том, что для эффективных действий по предотвращению негативной динамики, а фактически для управления системой “биосфера–климат”, необходим адекватный прогноз ожидаемых глобальных изменений и прогноз реакции СБК на эти действия. Его можно построить только на основе адекватной математической модели, которая невозможна без понимания устройства системы “биосфера–климат” и механизмов, обеспечивающих её стабильность. Какие трудности стоят на пути этих исследований?

Некоторые проблемы, связанные с изучением биосферы, являясь общими с проблемами общеэкологическими. К фундаментальным проблемам экологии относятся две: дефицита данных и уникальности экологических систем. Первая из них обусловлена тем, что длительность научных наблюдений за экосистемой несоизмерима с длительностью существования её самой. При этом невозможно осуществлять всесторонний мониторинг природной экосистемы, то есть отслеживать изменения численности или биомассы всех составляющих её видов. Острота этой проблемы экологии может быть существенно ослаблена, если появится возможность сопоставлять и обобщать данные, полученные в результате наблюдения за процессами в разных экосистемах. Однако сопоставлению такого рода данных мешает вторая фундаментальная проблема экологии — уникальность экологических систем: каждая из них

единственна в своём роде, в природе нет одинаковых. Более того, экосистемы со временем изменяются и не воспроизводят собственное поведение даже при совпадении погодных условий. Тем самым требование воспроизводимости экспериментальных данных, лежащее в основе научного подхода, в отношении экологических систем в значительной степени не выполняется. Обе эти проблемы проявляются ещё более остро в отношении биосферы.

Выделим специфическую особенность биосферы, отличающую её от экосистем, используя при этом простую приближённую оценку. Атмосфера Земли содержит ~700 Гт углерода. Масса наземной биомассы в углеродных единицах ~500 ГтС. При этом ежегодная чистая первичная продукция фотосинтеза наземных растений (количество поглощённого углерода, перешедшего в биомассу) составляет ~60 ГтС. Если бы фотосинтез растений был единственным процессом, то они за ~10–15 лет довели бы концентрацию CO₂ в атмосфере до 10% существующего. Этот уровень соответствует компенсационной точке C₃-растений¹ (они составляют ~95% всех наземных растений), то есть прекращению их роста, а значит, гибели.

Скоростного крушения биосферы не происходит, потому что в природе присутствует направленный обратно в атмосферу поток углерода, образуемого в результате разложения почвенной органики, то есть остатков всех умерших организмов, а также дыхания животных. (К этому явлению мы вернёмся при обсуждении “зелёной инициативы”). Ещё раз подчеркнём ключевое отличие экосистемы от биосферы. Долговременное существование последней обеспечивается сбалансированностью потоков вещества в ней, она называется замыканием. По В.И. Вернадскому, именно замкнутость круговорота веществ обеспечивает длительное, а потенциально — бесконечное, существование земной биосферы.

Вернёмся к проблемам исследования земной биосферы и СБК в целом. Важнейший вопрос — какую модель биосферы можно считать адекватной? Обратимся вначале к определению, которое ниже нам пригодится: “Если между двумя объектами может быть установлено сходство хотя бы в каком-либо одном определённом смысле, то между этими объектами существуют отношения оригинала и модели” [10].

¹ C₃-фотосинтез — один из трёх основных метаболических путей фиксации углерода, в котором первым продуктом является трёхуглеродное соединение — фосфоглицериновая кислота. C₄ — путь в котором образуется четырёхуглеродное соединение — шавелево-уксусная кислота. САМ — путь в котором разделение ассимиляции CO₂ и цикла Кальвина происходит во времени, а не в пространстве, как в случае C₄.

Для биофизики характерно построение концептуальных моделей, предназначенных не для точного воспроизведения свойств оригинала, а только его существенных свойств, значимых в контексте проводимого исследования. Полезность такого подхода иллюстрирует общеизвестный школьный пример — математический маятник.

В физике строится математическая модель идеального объекта: материальная точка (объект, имеющий массу, но не имеющий размера, — такого не бывает!) подвешена на невесомой, нерастяжимой, бесконечно тонкой нити с нулевым сопротивлением изгибу (такой не бывает!). При малом угле отклонения α от положения равновесия ($\sin\alpha \approx \alpha$) можно получить простое уравнение свободных колебаний этого маятника. Но, что самое интересное, полученное выражение для зависимости периода колебаний от длины подвеса и ускорения свободного падения: $T = 2\pi\sqrt{\frac{l}{g}}$ применимо к реальным физическим маятникам и позволяет рассчитывать их параметры.

Этот пример представляет собой эвристическое обоснование построения достаточно простых моделей биосферы и СБК в целом, главное, чтобы они воспроизводили существенные характеристики моделируемой системы.

Но даже обращение к простым математическим моделям принесёт мало пользы, если у нас отсутствует возможность провести процедуру валидации модели, чтобы она подтвердила свою способность предсказывать поведение реальной системы. А для этого необходимы достаточно длительные временные ряды наблюдений, чего, к сожалению, мы не имеем ни для экосистем, ни для биосферы в целом. Положение представляется безвыходным. Однако не всё так плохо. Помимо математических могут существовать и физические модели биосферы — искусственные замкнутые экологические системы, экспериментальный полигон для разработки моделей биосферных.

Замкнутые экологические системы как инструмент исследования земной биосферы. Искусственные замкнутые экологические системы (ЗЭС) выступают в роли уникального научного инструмента, позволяющего если не обеспечить, то существенно облегчить продвижение в исследовании вышеупомянутых проблем.

Во-первых, экспериментальные ЗЭС по определению обладают замкнутостью, то есть воспроизводят ключевое свойство биосферы, а значит, воспроизведение устойчивого круговорота в эксперименте и объяснение этой устойчивости в математической модели позволят продвинуться в понимании механизмов замкнутости потоков веществ и стабильности биосферы.

Во-вторых, ЗЭС достаточно просты и открыты к их подробному обследованию, что позволяет получить почти полный мониторинг состояния системы, чего невозможно добиться в случае природных экосистем. При этом ЗЭС достаточно сложны, чтобы отображать существенные свойства экосистем, в частности нелинейность взаимодействия и обратные связи, влияющие на их устойчивость.

В-третьих, возможность варьировать условия эксперимента и оказывать в ходе наблюдений тестовые возмущения уникальна сама по себе, в природных экосистемах это неосуществимо. Кроме того, открывается возможность повторять эксперименты, исходя из начальных условий, что на уровне природных экосистем недостижимо.

Конечно, в простой ЗЭС с малым количеством видов некоторые важные нетрофические взаимодействия (опыление, аллелопатия, физическое вытеснение – вытаптывание) будут упущены. Результаты, полученные в ходе экспериментов с простыми ЗЭС, задают необходимые, но не достаточные условия устойчивости системы, своего рода скелет устойчивости.

Теоретико-экспериментальное исследование ЗЭС может стать ключом к разрешению упоминавшихся выше проблем экологии. Следуя известному высказыванию выдающегося американского физика, одного из создателей квантовой электродинамики Р. Фейнмана “Чего не могу воссоздать, того не понимаю”², уровень нашего понимания процессов, происходящих в биосфере, можно оценивать на основе умения создавать ЗЭС с заданными свойствами. Имеющийся опыт конструирования и теоретического анализа лабораторных ЗЭС уже позволил понять некоторые особенности биосферы.

Экспериментальные ЗЭС и их вклад в понимание биосферных процессов. Согласно широко распространённому представлению, устойчивость биосферы обеспечивается очень сложной сетью трофических циклов, взаимодействии которых приводит в итоге к достижению замкнутости. То есть, в соответствии с этой гипотезой, обилие видов есть необходимое условие реализации механизмов замыкания биосферы. Для проверки справедливости этого представления есть только один путь – попытаться создать искусственную ЗЭС, для начала – маловидовую.

БИОС-3. Первой экспериментальной ЗЭС, которая продемонстрировала возможность длительного, на протяжении 6 месяцев собственного функционирования с высоким уровнем замыкания, была биорегенеративная система БИОС-3 [11], со-

зданная в 1972 г. Эта система объёмом 315 м³ позволила обеспечить в автономном режиме жизнь экипажа из 3 человек в течение полугода за счёт замыкания цикла по воде и газу почти на 100%, пище – более чем на 50%.

Можно ли на основе экспериментов с БИОС-3 отвергнуть гипотезу о том, что устойчивость замкнутого состояния биосферы обеспечивается разветвлённой трофической сетью? Один из главных результатов БИОС-3 можно сформулировать так: доказано, что при управлении потоками веществ в маловидовой ЗЭС возможно достижение стационарного состояния с достаточно высоким уровнем замыкания потоков веществ. Этот вывод не очень продвигает нас в проверке высказанной гипотезы, но зато имеет огромное значение для практического использования ЗЭС, в первую очередь в космонавтике.

Микрокосмы Фолсома. Эксперименты с микрокосмами – малыми ЗЭС, проведённые американским микробиологом К.Э. Фолсомом [12], имеют прямое отношение к оценке справедливости высказанной гипотезы. Микрокосмы представляли собой стеклянные сосуды объёмом от 1 до 5 л, заполненные морской водой и морскими организмами. Эксперименты показали, что эти мини-экосистемы могут существовать продолжительное время, что служит прямым указанием на то, что для возникновения замкнутого круговорота веществ совсем не требуется сильно разветвлённая трофическая сеть. Однако состав микрофлоры этих микрокосмов был весьма разнообразен.

Сегодня каждый желающий, прочитавший соответствующую статью в популярном журнале [13], может создать мини-ЗЭС. Но если любой любознательный человек может построить модель биосферы, то не означает ли это, что механизмы замкнутости биосферы поняты и можно создавать ЗЭС для космонавтов и управлять биосферой? Выполнен ли критерий Р. Фейнмана? К сожалению, нет. Во-первых, микрокосмы с богатым набором организмов не выживали со 100% надёжностью. Во-вторых, как правило, в системе устанавливалась атмосфера с отличным от земной составом. В-третьих, относительно успешное воспроизведение на практике фрагмента сложной системы не означает, что мы уже достигли понимания её устройства и можем предсказать последствия того или иного воздействия, а это необходимо для решения заявленной задачи – управления биосферными процессами. История создания гигантской ЗЭС “Биосфера-2” (США) в данном контексте очень поучительна.

Биосфера-2. Её создатели на протяжении двух лет пытались смоделировать жизнь поселенческой колонии, состоящей из людей и животных, на Марсе. Проектировщики, вдохновлённые опытами Фолсома, надеялись, что при объедине-

² Фраза “What I cannot create I do not understand” была написана Р. Фейнманом на его рабочей доске и оказалась последней в его жизни.

нии большого количества организмов произойдёт их соорганизация, при этом немаловажную роль они отводили микроорганизмам. Удивительно, но их не насторожило ими же самими упомянутое обстоятельство [14, р. 13, 14], что в мини-биосферах Фолсома устанавливалась атмосфера, сильно отличающаяся по составу от земной.

В ЗЭС площадью 1.27 га и объёмом 203760 м³ размещались пять ландшафтных систем (биомов): океан с коралловым рифом, саванна, тропический дождевой лес, пустыня и болото. Кроме того, она включала в себя сельскохозяйственный блок и дом для жилья. Помимо 8 испытателей систему заселили четырьмя тысячами видов разнообразных представителей флоры и фауны.

Вскоре после начала эксперимента началось падение концентрации кислорода в атмосфере, к которому затем добавилось повышение концентрации CO₂ [15]. Одна из причин быстрого падения концентрации кислорода была связана с использованием для декоративного скального массива молодого бетона, который при созревании поглощает кислород из атмосферы. Концентрация кислорода приблизилась к критически низкой, и пришлось добавлять кислород из баллонов.

Повышение концентрации углекислого газа было вызвано нарушением баланса почвенного дыхания и фотосинтеза растений. На Земле вариации потоков почвенного дыхания и фотосинтеза сглаживаются большой ёмкостью атмосферы, а в “Биосфере-2” слой почвы имел природную толщину, чего нельзя сказать про толщину атмосферы. От таких изменений атмосферы первыми вымерли опылители растений (колибри, пчёлы). Затем размножились вредители растений, нематоды, клещи и тараканы, которые стали пожирать посевы испытателей. В конечном счёте сильно похудевшие испытатели еле дотянули до запланированного срока окончания эксперимента.

К сожалению, технические и технологические ошибки, допущенные при проектировании “Биосферы-2”, не позволяют рассматривать этот эксперимент как проверку гипотезы о статистическом механизме обеспечения замкнутости и стабильности земной биосферы. Получается, что простое копирование фрагментов природных экосистем в замкнутой экологической системе жизнеобеспечения не гарантирует успеха. Недостаточно знать устройство отдельного биома (в воспроизведении биомов участвовали известные учёные), важно понимать принципы устройства биосферы в целом.

Микро-ЗЭС. В отличие от микрокосмов Фолсома и подобных аквасистем видовой состав микро-ЗЭС [16] контролировался полностью — некоторые из микро-ЗЭС содержали, например, одноклеточную водоросль (*Chlorella* 21901) и два вида редуцентов (*Pseudomonas sp.*, *Mycobacterium*

rubrum). Важно, что при определённых соотношениях биогенов (углерода, азота и фосфора — C:N:P) в микро-ЗЭС устанавливалось стационарное состояние и они могли существовать длительное время. Самый последний живой экземпляр микро-ЗЭС был случайно разрушен вследствие неконтролируемого падения спустя 30 лет(!) после запуска этих экспериментов.

Этот результат однозначно свидетельствует, что для замыкания потоков веществ совсем не нужны сложные трофические сети — организмы обладают достаточной метаболической гибкостью, чтобы замкнуть потоки веществ, причём с очень высокой точностью.

Особенности математического моделирования ЗЭС и возникающие проблемы и парадоксы. Теоретическое и математическое рассмотрение ЗЭС, их специфики по сравнению с обычными экосистемами позволяет выявить свойства биосферы, которые ранее не были очевидны на фоне её потрясающей сложности.

Парадокс Вернадского-Дарвина. Впервые на существование этого парадокса обратили внимание К. Барлоу и Т. Волк (США) [17], которые назвали его парадоксом Вернадского. Авторы формулируют его в форме вопроса: “Как же получается, что входы и выходы мириадом открытых систем образуют жизненную сеть таким образом, что материальная замкнутость, как граничное условие планеты, не разрушает организованные подсистемы”³.

Проиллюстрируем суть проблемы. Каждый вид организмов характеризуется своим составом биогенов — химических элементов, необходимых для нормальной жизнедеятельности организма. Например, в гидробиологии используют стехиометрическое соотношение C:N:P в организмах для описания разных организмов и их состояний.

Рассмотрим типичный процесс: один организм, допустим жертва, поглощается другим, хищником (рис. 1). При этом они имеют разные стехиометрические соотношения, то есть различный состав биогенов. Допустим, доля одного из биогенов (биоген А) у хищника в три раза больше, чем у жертвы. В этом случае для обеспечения нужного количества данного биогена в своей биомассе хищник должен съесть в три раза больше биомассы, при этом остальные биогены ему уже не нужны, они уходят в отходы — потенциальный тупик вещественного круговорота.

Масштабность проблемы становится понятнее, если представить схему движения биогенов по нескольким трофическим уровням, включающим несколько видов (см. рис. 1). Если принять

³ “How is it, then, that the inputs and outputs of a myriad open-system forms a life mesh in such a way that material closure as a boundary condition of the planet does not destroy the organized subsystems?” [17, p. 372].

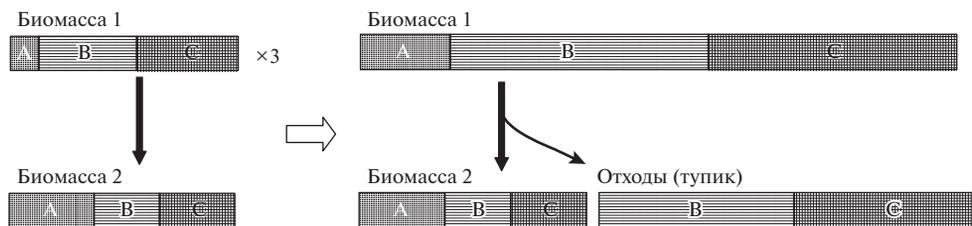


Рис. 1. Условная схема процесса образования органического тупика в экосистеме. Биомасса 1 и биомасса 2 – биомассы организмов, участвующих в трофическом взаимодействии (например, травоядное животное и хищник). А, В, С – биогены (например, фосфор, азот, углерод).

во внимание, что высокозамкнутое состояние биосферы, с которым она вступила в промышленную революцию, стало результатом её эволюционного и экологического развития, то этот парадокс можно сформулировать следующим образом: замкнутость биосферы не является адаптивным свойством особи (или популяции).

Действительно, в ходе естественного отбора выживает та особь, которая захватывает больше ресурсов и оставляет после себя более жизнеспособное потомство, то есть в ходе естественного отбора организмы побеждают с преимуществом, которое даёт выигрыш здесь и сейчас. Последствия нарушения замыкания биосферы будут проявляться гораздо позже, чем непосредственные результаты отбора. Поскольку замыкание биосферы происходило на фоне естественного отбора, то представляется логичным расширить название этого парадокса и назвать его *парадоксом Вернадского–Дарвина*.

Ограничения моделей жёсткого метаболизма. Как следует из парадокса Вернадского–Дарвина, при моделировании ЗЭС необходимо учитывать круговорот всех существенных биогенов и обеспечивать выполнение законов сохранения по всем биогенам. В то же время традиционные модели экосистем строятся по аналогии с моделями химической кинетики. В этих моделях каждый вид фактически играет роль автокатализатора, потребляющего строго определённые пропорции питательных веществ, аналогичные стехиометрическим коэффициентам химических реакций. Будем называть такие модели моделями жёсткого метаболизма.

Ранее было показано, что если организмы в ЗЭС потребляют субстраты или другие организмы (для консументов) в фиксированной пропорции, то есть с фиксированными стехиометрическими коэффициентами и при количестве разных биогенов свыше двух, то часто в этой системе не может реализоваться стационарное состояние, она сама не может существовать [18]. Причина в том, что когда мы учитываем замкнутость по нескольким биогенам, то число уравнений становится равным числу видов (популяций) плюс ко-

личество биогенов, а вот число переменных в уравнениях (стационарных скоростей роста популяций) остаётся равным числу видов в системе. По законам алгебры система линейных однородных уравнений имеет нетривиальное (ненулевое) решение только в том случае, если ранг матрицы коэффициентов системы меньше числа переменных. Можно проиллюстрировать это ограничение на простой модели ЗЭС [19]. Возможный подход к решению задачи корректного описания стехиометрии экосистем попытаемся сформулировать после рассмотрения дополнительных претензий к моделям жёсткого метаболизма.

Парадоксы Мэя и Хатчинсона. Одним из важнейших препятствий на пути использования моделей жёсткого метаболизма выступает противоположный ход зависимостей устойчивости экосистемы от числа входящих в неё видов в случае реальных экосистем и их классических математических моделей. Действительно, в традиционных моделях экосистем при увеличении количества взаимодействующих видов уменьшается область устойчивости в пространстве параметров модели [20]. Данные наблюдений показывают, что увеличение устойчивости экосистем с ростом числа видов встречается в природе гораздо чаще, чем её уменьшение [21]. Иными словами, существует противоречие между трендами изменения устойчивости реальных экосистем и их математических моделей, что указывает на неприменимость указанных подходов к моделированию экосистем. Кроме того, хорошо известный принцип конкурентного исключения гласит, что количество видов, стабильно сосуществующих на одном и том же трофическом уровне, не может превышать количество доступных им ресурсов [22]. Впоследствии принцип конкурентного исключения был расширен и было показано, что несколько видов могут сосуществовать на одном и том же питательном субстрате, если их количество не превышает количество плотностнозависимых контролирующих рост факторов в системе [23, 24].

В природе, однако, наблюдаются ситуации, когда проявляется так называемый парадокс планктона (парадокс Хатчинсона) [25]. Суть его

заключается в том, что существуют экосистемы, в которых количество видов превышает количество зарегистрированных плотностнозависимых контролирующих рост факторов в системе. Такая ситуация может наблюдаться как в водных, так и в наземных экосистемах [26]. Эти данные заставляют прийти к выводу, что для моделирования замкнутых экологических систем вообще и биосферы в частности требуются математические модели, которые если не разрешают окончательно, то, по крайней мере, снижают остроту перечисленных парадоксов и противоречий.

Модели с гибким метаболизмом. В свете перечисленного выше перспективной альтернативой моделям жидкого метаболизма выступают такие, в которых стехиометрические соотношения, а вернее, пропорции потребления субстратов или нутриентов, могут меняться — модели гибкого метаболизма. Видятся всего два варианта гибкого метаболизма: 1) организм, исходя из некоторого критерия, выбирает, какой субстрат преимущественно потреблять; 2) изменение пропорций органических веществ определённого типа (белки, жиры, углеводы), направляемых по анаболическому или катаболическому путям метаболизма.

Вычислительные эксперименты с моделями гибкого метаболизма показали [19, 27–29], что для таких моделей: 1) выполняются наблюдаемые в природе закономерности роста устойчивости с ростом количества видов; 2) характерно большее количество сосуществующих видов в результате появления дополнительных плотностнозависимых контролирующих рост факторов; 3) открывается возможность существования стационарного состояния в условиях полного замыкания и учёта нескольких биогеов.

Возникновение дополнительных плотностнозависимых контролирующих рост факторов при переходе к моделям гибкого метаболизма связано с появлением новых степеней свободы благодаря управлению метаболизмом и потреблением. Уровень межорганизменных взаимодействий дополняется внутриорганизменным управлением. При этом теоретический анализ ЗЭС позволяет определять необходимые (но недостаточные) условия существования системы.

Модели гибкого метаболизма представляются наиболее адекватным инструментом организации и объединения комплексных исследований биосферы с помощью лабораторных ЗЭС и решения упоминавшихся проблем экологии и биосферы.

Взгляд на “зелёную инициативу”, исходящий из представлений о биосфере как ЗЭС. Когда мы рассматриваем биосферу как ЗЭС, то с необходимостью приходим к пониманию, что любое рассогласование, любое пренебрежение теми или иными потоками веществ в биосфере рано или

поздно проявит себя. Такой взгляд на биосферу прекрасно согласуется с особенностями экологии как науки, которую характеризует:

- комплексный подход (необходимо максимально полно учитывать взаимосвязи организмов экосистемы, потоки и действие факторов внешней среды);
- обязательный учёт долговременных последствий.

Отсюда следует, что воздействие той или иной технологии или продукта должно оцениваться всесторонне и на длительном временном интервале. Ранее был предложен подход к интегральной оценке экологического вреда внедряемых технологий, напоминающий модель межотраслевого баланса В.В. Леонтьева [30, 31]. Мы проиллюстрируем эту идею на примере внедрения электромобилей, но сначала предпримем попытку ответа на очень важный вопрос об источниках углеродной эмиссии.

Об углеродном следе домашних животных. Рассмотрение биосферного цикла углерода, проведённое в разделе статьи, озаглавленном “С какими проблемами приходится иметь дело?”, позволяет прийти к очень важному выводу, который вообще не упоминается разработчиками “зелёной инициативы” (или EGS-стратегии): не все источники углерода вредны, не все оказывают негативное влияние на климат. Организмы, которые потребляют органику, синтезированную в процессе фотосинтеза, естественно, выделяют углекислый газ в процессе дыхания и в ходе по-смертного разложения — просто возвращают углерод в цикл, обеспечивая дальнейшее существование биосферы. Тем самым получается, что вопрос об углеродном следе домашних животных, который обсуждается в СМИ и сопровождается призывом сократить поголовье домашних животных и перейти на вегетарианство, вообще не имеет смысла. Углеродный след любых животных самих по себе — нулевой, а скорее — отрицательный.

В то же время Аналитическое кредитное рейтинговое агентство (АКРА) под “выбросами парниковых газов понимает их прямой выброс из источников, находящихся в собственности или под контролем оцениваемого лица” [32, с. 13]. Проблема в том, что АКРА учитывает любые выбросы из источников без учёта происхождения углерода. Отсюда следует, что идеологи и организаторы “зелёной инициативы” и АКРА как агент их воли не понимают роли замкнутости в обеспечении существования биосферы. Или понимают, но тогда возникает вопрос о том, какие цели они преследуют. Показательно, что АКРА [32, с. 9] из списка положительных модификаторов оценки предприятия на первое место ставит “наличие у оцениваемого лица облигаций устойчивого развития”! О чём это говорит?

Среди положительных модификаторов оценки предприятий [32, с. 10] в первой половине списка находится “выработка значительной доли энергии из возобновляемых источников”, регулярно упоминается переход на электромобили как важный шаг на пути к декарбонизации. Поэтому стоит уделить внимание этим вопросам.

Об электромобилях. Сами по себе они почти идеальны, их применение действительно улучшает состояние воздуха в больших городах. Однако попытаемся оценить вклад электромобилей в решение той проблемы, которая заявлена в “зелёной инициативе” – сокращение выбросов CO₂.

Электромобиль использует вторичный источник энергии – аккумулятор, который нуждается в периодической зарядке. Отметим, что более 60% процентов электроэнергии на Земле производят тепловые электростанции. Оценим КПД цикла “ТЭС–электромобиль”. Средний КПД ТЭС – 35%, электродвигателя постоянного тока мощностью менее 100 кВт (100 кВт ≈ 140 л.с.) – 82%, литиевого автомобильного аккумулятора – 97%. Перемножаем и получаем ~28%, а это средний показатель КПД бензинового двигателя. С точки зрения выбросов CO₂, электромобиль не даёт никакого выигрыша!

Добавим, что на территории России, особенно в Сибири, большую часть времени года необходим обогрев салона автомобиля, особенно в морозы, достигающие 35–40°C. Если обогрев салона обычного автомобиля не связан с дополнительными финансовыми затратами – поток тёплого воздуха просто направляется на теплообменник, то в случае электромобиля для обогрева салона приходится использовать энергию аккумулятора, ёмкость которого в морозы и так понижается. Это значит, что при зимней эксплуатации КПД электромобиля будет ещё меньше, а выбросов CO₂ будет больше, чем у обычного автомобиля. В таком случае целесообразно ли стимулировать жителей России к переходу на электромобили?

Но это ещё не всё. Если продолжить интегральное рассмотрение последствий внедрения электромобилей, придётся учитывать создание сети станций подзарядки аккумуляторов, для чего потребуется резко и существенно увеличить производство медных кабелей, а производство меди, включая добычу медной руды, очень энергозатратный процесс, связанный с выделением не только углекислого газа, но и ряда других экологически вредных веществ. Кроме того, производство (опять же включая добычу литиевой руды) и утилизация современных литиевых аккумуляторов тоже энергозатратный и экологически вредный процесс.

О возобновляемых источниках энергии. Производство кремния для солнечных батарей – экологически вредный процесс, но и сама их эксплуа-

тация не представляет собой экологический идеал. Для того чтобы можно было использовать солнечную батарею в быту (кстати, почему никто не говорит о применении этих батарей в промышленности, скажем, для выплавки алюминия, на которую идёт, например, 95% мощности Красноярской ГЭС?), необходим аккумулятор для снабжения дома энергией в вечернее и ночное время, когда она более нужна, чем в дневное. А для условий России нужен аккумулятор, который обеспечит жилище в течение долгого зимнего тёмного времени суток при пасмурном небе и заснеженной крыше, что, как очевидно, нереально. Так стоит ли с энтузиазмом внедрять солнечные батареи, когда речь идёт о России?

Интегральный анализ позволяет прийти к заключению, что предлагаемые виды “зелёной” электрогенерации не могут быть использованы как основные не только для промышленности, но и для населения. То есть проблема энергетики гораздо сложнее и требует более серьёзной проработки, чем это представлено в ESG-стратегии.

О связывании углерода деревьями. Существующие леса в основном находятся в климаксом или близком к нему состоянии, то есть обмен углерода с атмосферой у них почти сбалансирован, и они не в состоянии поглотить больше углекислого газа. Понимая это, специалисты пишут об интенсивных посадках [33], но, к сожалению, и здесь не всё так просто.

Посадки новых деревьев сами по себе не решают проблему связывания углерода, поскольку деревья – это временные резервуары углерода и после их отмирания весь углерод возвращается обратно в атмосферу. С одной стороны, посадки позволят замедлить темпы нарастания концентрации CO₂ в атмосфере, но, с другой – последующее массовое высвобождение углерода из отмерших деревьев может существенно усугубить ситуацию [34]. Кроме того, для организации массовых лесопосадок и последующей обработки больших объёмов древесины потребуются существенные затраты энергии, которая будет поступать от сжигания ископаемых топлив, то есть опять же сопровождаться эмиссией CO₂.

Точка зрения авторов статьи относительно глобальных изменений климата. Мы вовсе не утверждаем, что проблемы изменения климата и его последствий не существует. Наоборот, о том, что последствия сжигания ископаемых топлив могут иметь самые катастрофические последствия, мы писали, начиная с 2003 г. [4–6, 35].

Проблема климатических изменений очень серьёзна, весьма вероятно, что она даже более серьёзна, чем её представляют разработчики ESG-стратегии. Она требует всестороннего исследования для формирования адекватной стратегии преодоления угрозы этих изменений. Никакие

электромобили и солнечные батареи нас не спасут, требуется коренная перестройка технологий и экономики, сопряжённая с большими затратами на практические мероприятия. Перспективным решением было бы, по аналогии с ЗЭС, создание новой “круговоротной” экономики, не имеющей тупиков [36]. Но, к сожалению, руководством стран решения принимаются на основе ложных концепций, лишь маскирующихся под экологические.

Фундаментальная научная, образовательная и практическая задача заключается в разъяснении ситуации лицам, принимающим решения, и внедрении всестороннего экологического образования. В противном случае “зелёным” цветом будет расцветать экологическое мифотворчество (в СМИ постоянно упоминаются зелёное производство, зелёное строительство, зелёные ИТ-технологии, зелёная энергетика, зелёный водород и даже зелёное финансирование и зелёные ценные бумаги). Как бы нам не захлебнуться в этом “зелёном” водовороте.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда, грант № 23-44-00059. <https://rscf.ru/project/23-44-00059/>

ЛИТЕРАТУРА

1. *Neukom R., Steiger N., Gómez-Navarro J.J. et al.* No evidence for globally coherent warm and cold periods over the preindustrial Common Era // *Nature*. 2019. V. 571. P. 550–572.
2. *Marcott S.A. et al.* A Reconstruction of Regional and Global Temperature for the Past 11,300 Years // *Science*. 2013. V. 339. P. 1198–1201.
3. *Mulvaney et al.* Recent Antarctic Peninsula warming relative to Holocene climate and ice-shelf history // *Nature*. 2012. V. 489. P. 141–144.
4. *Барцев С.И., Дегерменджи А.Г., Ерохин Д.В.* Глобальные обобщённые модели биосферы // *Проблемы окружающей среды и природных ресурсов*. 2003. № 2. С. 11–29.
5. *Барцев С.И., Дегерменджи А.Г., Ерохин Д.В.* Глобальная минимальная модель многолетней динамики углерода в биосфере // *Доклады АН*. 2005. Т. 401 (2). С. 233–237.
6. *Bartsev S.I., Degermendzhi A.G., Erokhin D.V.* Principle of the worst scenario in the modelling past and future of biosphere dynamics // *Ecological Modelling*. 2008. V. 216 (2). P. 160–171.
7. *Lenton T.M., Held H., Kriegler E. et al.* Tipping Elements in the Earth’s Climate System // *PNAS*. 2008. V. 105 (6). P. 1786–1793.
8. *Steffen W. et al.* Trajectories of the Earth System in the Anthropocene // *PNAS*. 2018. V. 115 (33). P. 8252–8259.
9. *Wunderling N., Staal A., Sakschewski B. et al.* Recurrent droughts increase risk of cascading tipping events by outpacing adaptive capacities in the Amazon rainforest // *PNAS*. 2022. V. 119 (32). 11 p. e2120777119.
10. *Лернер А.Я.* Начала кибернетики. М.: Наука, 1967.
11. *Гутельзон И.И., Ковров Б.Г., Лисовский Г.М. и др.* Экспериментальные экологические системы, включающие человека // *Сб. Проблемы космической биологии*. Т. 28. М.: Наука, 1975. С. 292–311.
12. *Folsome C.E., Hanson J.A.* The emergence of materially closed system ecology // *Ecosystem Theory and Application* / Ed. by N. Polunin. N.Y.: John Wiley & Sons, 1986. P. 269–299.
13. *Brown M.J.* Make a Tabletop Biosphere // *Make*. 2008. V. 10. P. 111–117.
14. *Allen J.* Biosphere 2: The Human Experiment. Penguin books, A synergetic press, Inc., 1991.
15. *Nelson M., Dempster W., Alvarez-Romo N., MacCallum T.* Atmospheric dynamics and bioregenerative technologies in a soil-based ecological life support system: initial results from Biosphere 2 // *Adv. Space Res.* 1994. V. 14 (11). P. 417–426.
16. *Ковров Б.Г.* Искусственные микроэкосистемы с замкнутым круговоротом веществ как модель биосферы // *Биофизика клеточных популяций и надорганизменных систем*. Сб. научных трудов. Новосибирск: Наука, 1992. С. 62–70.
17. *Barlow C., Volk T.* Open systems living in a closed biosphere: a new paradox for the Gaia debate // *BioSystems*. 1990. V. 23 (4). P. 371–384.
18. *Bartsev S.I.* Stoichiometric constraints and complete closure of long-term life support systems // *Adv. Space Res.* 2004. V. 34. P. 1509–1516.
19. *Барцев С.И., Дегерменджи А.Г., Сарангова А.Б., Дегерменджи Н.Н.* Экологическая биофизика – горизонты развития // *Горизонты биофизики*. Т. 2. Под ред. А.Б. Рубина. М.–Ижевск: Институт компьютерных исследований, 2022. С. 209–257.
20. *May R.M.* Stability in multi-species community models // *Mathematical Biosciences*. 1971. V. 12. P. 59–79.
21. *Ives A.R., Carpenter S.R.* Stability and diversity of ecosystems // *Science*. 2007. V. 317. P. 58–62.
22. *Гаузе Г.Ф.* Математический подход к проблемам борьбы за существование // *Зоол. журн*. 1933. № 12. С. 170–177.
23. *Дегерменджи А.Г., Печуркин Н.С., Фуряева А.В.* Анализ взаимодействия двух микробных популяций по типу комменсализма в непрерывной культуре // *Экология*. 1978. № 2. С. 91–94.
24. *Дегерменджи А.Г., Печуркин Н.С., Тушкова Г.И., Фуряева А.В.* Механизм устойчивого сосуществования диплоидных и гаплоидных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* в проточной культуре // *Известия СО АН СССР. Серия “Биологические науки”*. 1979. № 5 (1). С. 62–68.
25. *Hutchinson G.E.* The paradox of the plankton // *The American naturalist*. 1961. V. 95 (882). P. 137–145.
26. *Levine J.M., HilleRisLambers J.* The importance of niches for the maintenance of species diversity // *Nature*. 2009. V. 461. P. 254–257.

27. Салтыков М.Ю., Барцев С.И., Ланкин Ю.П. Зависимость устойчивости моделей замкнутых экосистем от числа видов // Журнал СВУ. Серия “Биология”. 2011. № 4. С. 197–208.
28. Saltykov M. Yu., Bartsev S. I., Lankin Yu. P. Stability of Closed Ecology Life Support Systems (CELSS) models as dependent upon the properties of metabolism of the described species // *Advances in Space Research*. 2012. V. 49 (2). P. 223–229.
29. Bartsev S., Degermendzhi A. The Evolutionary Mechanism of Formation of Biosphere Closure // *Mathematics*. 2023 V. 11 (14) Article number 3218. <https://doi.org/10.3390/math11143218>
30. Bartsev S. I., Degermendzhi A. G., Okhonin V. A., Saltykov M. Y. An Integrated Approach to the Assessment of an Ecological Impact of Industrial Products and Processes // *Procedia Environmental Sciences*. 2012. V. 13. P. 837–846.
31. Bartsev S. I., Degermendzhi A. G., Sarangova A. B. Stability of the Biosphere and Sustainable Development: a Challenge to Biospherics // *Journal of Siberian Federal University. Biology*. 2017. V. 10 (2). P. 134–152.
32. АКРА. Принципы присвоения ESG-рейтингов нефинансовым компаниям. Тематическое приложение 1. 47 с.
33. О полигонах для разработки и испытаний технологии контроля углеродного баланса. Приказ Минобрнауки России № 74 от 5 февраля 2021 г. <https://base.garant.ru/400805179/?ysclid=lladhdu47w508707143> (дата обращения 14.08.2023).
34. Барцев С.И., Дегерменджи А.Г. и др. Влияние неопределённости оценки параметров минимальной биосферной модели на прогноз биосферной динамики // *Изв. Самарского ИЦ РАН*. 2009. № 11 (1–7). С. 1413–1418.
35. Bartsev S. I., Degermendzhi A. G., Belolipetsky P. V. Carbon Cycle Modeling and Principle of the Worst Scenario // Jordan F., Jorgensen S. E. (eds). *Models of the Ecological Hierarchy: From Molecules to the Ecosphere* // Elsevier B.V. 2012. P. 447–458.
36. Барцев С.И., Межевикин В.В., Охонин В.А. Принцип замкнутости и критерии оптимального природопользования и устойчивого развития // *Химия в интересах устойчивого развития*. 2001. № 9. С. 805–814.

CLOSED ECOLOGICAL SYSTEMS: FROM THE BIOSPHERE TO LIFE SUPPORT SYSTEMS AND BACK

S.I. Bartsev^{1,#} and A.G. Degermendzhi^{1,##}

¹*Institute of Biophysics, Siberian Branch of the RAS, Federal Research Center “Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the RAS”, Krasnoyarsk, Russia*

[#]*E-mail: bartsev@yandex.ru*

^{##}*E-mail: nn1947@yandex.ru*

The paper provides a brief overview of the available facts and ideas about the nature of climate change. The problems of ecological research, which are becoming more acute in relation to biosphere research, are considered: this is the problem of data deficit and the problem of the uniqueness of ecosystems. The key difference between the biosphere and natural ecosystems is highlighted, which ensures the long-term, in the ultimate perspective infinite, existence of the biosphere – the existence of a balance of biogen cycles or the closure of the flows of substances. The advantages of laboratory closed ecological systems (CES) as tools for experimental and theoretical study of the biosphere are considered. The contribution of the most well-known CES (BIOS-3, Folsom microcosms, Biosphere-2, micro-CES) to the understanding of biospheric processes is discussed. The problems and paradoxes identified in the mathematical modeling of CESs (Vernadsky-Darwin paradox, limitations of models of rigid metabolism), which are closely related to the well-known ecological paradoxes of May and Hutchinson, are discussed. A flexible metabolism approach is proposed to reduce the severity of these paradoxes. The measures proposed within the framework of so-called “green initiative” are discussed from the position of “biosphere as a CES”. Among these measures are reducing the carbon footprint of pets, migration to electric vehicles and renewable energy sources and carbon sequestration by trees. The seriousness of biosphere-climatic changes problem is emphasized, which cannot be resolved without accounting the closure of substance flows in the biosphere.

Keywords: closure of the biosphere, models of the biosphere, closed ecological systems, problems of ecology, paradoxes of ecology.

ПЛЮРИПОТЕНТНОСТЬ И ПЕРСПЕКТИВЫ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

© 2023 г. Е. Д. Ерофеева^{b,*}, В. К. Абдыев^{a,**}, А. В. Еремеев^{a,c,***},
Е. А. Воротеляк^{a,b,****}, А. В. Васильев^{a,b,*****}

^aИнститут биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

^bБиологический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

^cФедеральный научно-клинический центр физико-химической медицины им. Ю.М. Лопухина ФМБА России, Москва, Россия

*E-mail: erofeeva.zhenya@gmail.com

**E-mail: mailtovepa@gmail.com

***E-mail: art-eremeev@yandex.ru

****E-mail: vorotelyak@yandex.ru

*****E-mail: 113162@bk.ru

Поступила в редакцию 14.08.2023 г.

После доработки 20.08.2023 г.

Принята к публикации 25.08.2023 г.

Биология плюрипотентности – это современная область биологической науки, и одновременно инструмент для моделирования морфогенеза человека *in vitro*. Плюрипотентность – это свойство клеток самообновляться и дифференцироваться во все типы клеток взрослого организма, которое образуется в раннем эмбриогенезе у млекопитающих. Плюрипотентные стволовые клетки (ПСК) имеют в принципе безграничный потенциал в регенеративной и трансляционной медицине, открывая возможности лечения множества заболеваний, в том числе наследственных. В обзоре описаны характерные черты ПСК, моделирование раннего морфогенеза человека *in vitro* в бластоцисто-подобных структурах и гастролоидах, моделирование органогенеза в органоидах. Рассмотрены примеры применения ПСК в регенеративной медицине и его риски. ПСК – это один из ключевых объектов современной клеточной биологии. Однако клиническое использование ПСК еще находится на стадии разработок и требует дальнейшего исследования для безопасного и эффективного применения.

Ключевые слова: плюрипотентные стволовые клетки, ИПСК, ЭСК, наивные ПСК, праймированные ПСК, репрограммирование, регенеративная медицина.

DOI: 10.31857/S0869587323090062, **EDN:** IOTAJY

Плюрипотентные стволовые клетки (ПСК) обладают такими уникальными характеристика-

ЕРОФЕЕВА Евгения Дмитриевна – студент кафедры эмбриологии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова. АБДЫЕВ Вепа Керимбердыевич – кандидат биологических наук, научный сотрудник ИБР РАН. ЕРЕМЕЕВ Артём Валерьевич – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией ФНКЦ ФХМ ФМБА, старший научный сотрудник ИБР РАН. ВОРОТЕЛЯК Екатерина Андреевна – член-корреспондент РАН, заведующая лабораторией ИБР РАН, профессор кафедры клеточной биологии и гистологии биофака МГУ им. М.В. Ломоносова. ВАСИЛЬЕВ Андрей Валентинович – член-корреспондент РАН, директор ИБР РАН, заведующий кафедрой эмбриологии биофака МГУ им. М.В. Ломоносова.

ми, как способность к неограниченному делению и дифференцировке в любой тип соматических клеток [1]. Эти свойства делают их перспективным инструментом для клеточной терапии заболеваний человека, иммунотерапии опухолей, создания трансплантатов для заместительной терапии [2]. Плюрипотентное состояние клетки обуславливается совместным действием внутренних и внешних сигнальных факторов, которые способствуют формированию транскрипционного и эпигенетического профиля, характерного для ПСК [1]. Впервые из внутренней клеточной массы (ВКМ) бластоцист были получены эмбриональные стволовые клетки (ЭСК), которые обладают свойствами плюрипотентности [3]. Одна-

ко применение ЭСК в заместительной клеточной терапии ограничено. ЭСК для терапии получают путём выделения клеток из человеческих эмбрионов, и это вызывает серьёзные морально-этические проблемы [4]. К тому же при попытке трансплантации ЭСК реципиенту может возникнуть их отторжение из-за иммунной несовместимости. Было показано, что использование ЭСК часто сопровождается их трансформацией в организме реципиента [5].

Благодаря открытию С. Яманаки в 2006 г. стало возможным репрограммирование соматических клеток в плюрипотентные путём эктопической экспрессии нескольких генов: *Oct4*, *Sox2*, *Klf4*, *c-Myc* [6]. Плюрипотентные клетки, полученные из соматических, были названы индуцированными плюрипотентными стволовыми клетками (ИПСК). ИПСК, полученные этим способом, по своим характеристикам похожи на ЭСК: обладают способностью к непрерывному делению, могут дифференцироваться в производные трёх зародышевых листков, формируют тератомы при подкожной инъекции мышам, способны к формированию химер [6]. В 2012 г. данное открытие было отмечено Нобелевской премией по физиологии и медицине.

Появление метода получения ИПСК позволило разработать протоколы дифференцировки в различные типы соматических клеток, а значит, исследовать механизмы развития и формирования специализированных клеток, тканей и органов.

Потенциально ИПСК можно использовать для лечения заболеваний, связанных с большой потерей клеточных популяций (таких, как болезнь Паркинсона, диабет, поражения сетчатки глаза и т.д.) [7]. Однако существует ряд ограничений и нерешённых проблем, связанных с получением и использованием ПСК для исследования и лечения ряда заболеваний.

ХАРАКТЕРИСТИКА МЕХАНИЗМОВ ПЛЮРИПОТЕНТНОСТИ

Плюрипотентные стволовые клетки (ПСК) образуются в преимплантационном эмбрионе и обладают способностью дифференцироваться во все типы клеток взрослого организма. С созреванием и развитием эмбрионов мыши и человека различаются такие состояния плюрипотентности [8–17], как наивное, розеточное, формативное и праймированное [15]. Эмбриональные стволовые клетки (ЭСК) мыши выделяются из клеток внутренней клеточной массы (ВКМ) бластоцисты, находясь в наивном состоянии *in vitro* [3, 18, 19]. Наивное состояние плюрипотентности — это состояние ПСК с большей пластичностью к каноническим (все типы соматических клеток организма) и неканоническим (клетки амниона) диф-

ференцировкам. Хотя ЭСК человека получают из клеток ВКМ преимплантационной бластоцисты [20], их не удаётся поддерживать в культуре в аналогичном состоянии ЭСК мыши. ЭСК человека культивируются и поддерживаются в праймированном состоянии. Праймированное состояние плюрипотентности — это состояние с меньшей пластичностью к каноническим дифференцировкам. Причина различного состояния ЭСК *in vitro* заключается в условиях культивирования. Для сохранения плюрипотентного потенциала и самообновления в культуре наивной ЭСК мыши требуется наличие фактора LIF (лейкемия-ингибирующий фактор), который действует посредством активации сигнального каскада STAT3 [8, 21]. Фосфорилированный транскрипционный фактор STAT3 активирует экспрессию генов *Oct4*, *Sox2*, *Nanog*, *Klf4* и *Sall4*, которые ответственны за поддержание плюрипотентности и самообновления ЭСК мыши *in vitro*, тогда как ростовые факторы FGF2 [9] и TGF β [10] определяют праймированное состояние ЭСК человека *in vitro* [11]. Сегодня успешно разработаны протоколы и условия культивирования праймированных ПСК человека, например использование сред NHSM, RSeT, 5iLAF и t2iLG δ Y, для репрограммирования в наивное состояние [12].

Розеткоподобные плюрипотентные стволовые клетки (РПСК) образуются в результате утраты наивного состояния плюрипотентности и демонстрируют совместную экспрессию маркеров *Klf4* и *Esrrb* наивных ПСК и факторов *Oct6*, *Otx2* праймированных ПСК у мыши [14]. Это состояние достигается за счёт ингибирования Wnt-сигнального пути и FGF-пути [15], то есть, с одной стороны, ингибируется поддержание наивной плюрипотентности, а с другой — тормозится дальнейшее созревание ПСК в праймированное состояние.

Формативные ПСК обладают потенциалом дифференцироваться в первичные половые клетки (ППК) под действием BMP4 [22–25] и в клетки эктодермы, мезодермы и энтодермы [25]. Формативное состояние плюрипотентности ПСК *in vitro* стабилизируется ростовыми факторами Fgf2 и Activin A [15]. Было показано, что из клеток, обладающих свойствами формативных ПСК, в результате направленной дифференцировки формируются ППК-подобные клетки [23, 26].

Репrogramмирование праймированных ПСК человека в наивное состояние позволяет ответить на фундаментальные вопросы биологии плюрипотентности и эпигенетической регуляции в раннем развитии человека. Изучение плюрипотентности — современная область биологической науки и одновременно инструмент для моделирования морфогенеза человека *in vitro*. Применение ПСК в регенеративной и трансляционной меди-

цине открывает возможности лечения многих заболеваний, в том числе наследственных.

ФОРМИРОВАНИЕ ЭМБРИОПОДОБНЫХ СТРУКТУР *DE NOVO*, БЛАСТОИДЫ-ГАСТРУЛОИДЫ И СИНТЕТИЧЕСКАЯ ЭМБРИОЛОГИЯ

ПСК способны к агрегации в 3D-системах *in vitro* в эмбриоподобные структуры (эмбрионидные тельца). Для эмбрионидных телец характерно отсутствие осевой организации. Из эмбрионидных телец были получены глазной бокал [27], кортикальные нейроны [28], клетки энтодермальных [29] и мезодермальных линий [30]. Недавние исследования показали, что из ПСК можно получать эмбриоподобные структуры, которые воссоздают ранний эмбриогенез [31]. Были предложены преимплантационные эмбриоподобные модели, которые позволяют моделировать взаимодействия между зародышевыми и внезародышевыми клетками [32]. Бластицисты состоят из клеток трофоэктодермы, которые становятся плацентой, и клеток ВКМ, из которых дальше развивается сам эмбрион. Путём комбинирования ЭСК и стволовых клеток трофобласта были созданы бластоиды – бластоцистоподобные структуры [33]. В результате взаимодействия между наивными ПСК и стволовыми клетками трофобласта развивается 3D-структура с полостью, аналогичной бластоцели. Клетки бластоида демонстрируют схожий профиль экспрессии и эпигенетический паттерн с клетками ВКМ и трофоэктодермы бластоцисты [33]. Бластоиды продемонстрировали способность имплантироваться на искусственный эндометрий [33].

Эмбрион человека на стадии гаструлы недоступен для изучения, в то время как ПСК позволяют моделировать и изучать механизмы гаструляционного движения эмбриона человека *in vitro*. Так, из ЭСК человека получили гаструлоиды, имитирующие постимплантационную стадию развития, клетки которых способны к дифференцировке в три зародышевых листка [34]. При добавлении агониста Wnt-пути культуры ЭСК формировали компактные сферические агрегаты, которые впоследствии утрачивали симметрию и экспрессировали маркеры энтодермы, мезодермы и эктодермы [34]. Комбинирование внеклеточного матрикса с гаструлоидами привело к формированию в них сомитов [35].

Бластоиды и гаструлоиды, полученные из ПСК, дают возможность изучения редких заболеваний человека и аномалий развития. Используя технологии репрограммирования соматических клеток в ИПСК, можно создать пациент-специфичные бластоиды и гаструлоиды, которые моделируют генетические заболевания. С использованием клеточных инженерных конструкций удаётся

тестировать перспективные лекарства, изучать раннее эмбриональное развитие. Оптимизированные условия культивирования позволяют изучать причины потери беременности [36] методом имитирования имплантации эмбриона человека и/или бластоидов. Более того, из ИПСК получают органоиды, которые активно используются для моделирования наследственных, приобретённых, а также инфекционных заболеваний.

Органоиды – самоорганизованные клеточные агрегаты, содержащие разные типы клеток, моделирующие органы и ткани человека. В результате направленной дифференцировки ПСК человека была *de novo* сгенерирована 3D-модель ткани желудка, которая образует слизистую оболочку [37]. Эта 3D-модель была названа органоидом желудка человека, её использовали для моделирования инфекции *Helicobacter pylori* [37]. Было показано, что в результате инфекции *H.pylori* токсичный фактор CagA, кодируемый *H.pylori*, взаимодействует с с-Met-рецептором эпителиальных клеток органоида, вызывая пролиферацию эпителия органоида и патофизиологический ответ [37]. Активация с-Met-рецептора гепатоцитов связана с ростом опухолевых клеток [38]. Были созданы органоиды, имитирующие тимус [39], внутреннее ухо [40], кожу [41]. Органоиды, генетически модифицированные с помощью системы CRISPR/Cas9, являются перспективным инструментом для исследования наследственных заболеваний [42].

Из ПСК человека были получены органоиды мозга за счёт ингибирования TGF β -пути и индукции фактором FGF2 [43]. Эти органоиды используются для моделирования болезни Альцгеймера, микроцефалии, вызванной вирусом Зика, для моделирования раннего развития мозга [44]. Например, было показано, что оверэкспрессия белка ZIKV-NS2A в органоидах переднего мозга приводит к нарушению пролиферации нейронов радиальной глии [45]. Однако использование органоидов мозга связано с существенными сложностями, обусловленными их невоспроизводимым специфическим клеточным составом и такими характеристиками зрелой нервной ткани, как электрофизиологическая активность, способность образовывать нейронные сети с электрической активностью [46, 47]. Другая важная проблема – гибель клеток в результате длительного культивирования из-за затруднённой диффузии кислорода и питательных веществ [47, 48]. Улучшению созревания органоидов способствует введение эндотелиальных клеток или сосудистых структур, васкуляризация или длительное культивирование [49, 50].

Боковой амиотрофический склероз [51], при котором происходит дегенерация моторных нейронов в коре головного мозга и в спинном мозге [52], приводит к параличам и последующей атро-

фии мышц [52]. Из ЭСК человека были получены мотонейроны, которые культивировались совместно с трансгенными глиальными клетками с мутацией бокового амиотрофического склероза [53]. Так было обнаружено токсичное воздействие астроцитов с мутацией бокового амиотрофического склероза на мотонейроны [53].

В настоящее время существует множество протоколов дифференцировки ИПСК в различные типы клеток. Путём направленной дифференцировки были получены дофаминэргические нейроны [54], различные типы клеток сетчатки глаза [55], а в результате спонтанной дифференцировки ИПСК – клетки пигментного эпителия сетчатки [56]. Из ИПСК также удалось получить кардиомиоциты, по своим характеристикам сходные с кардиомиоцитами сердца. Было показано, что при трансплантации ИПСК происходит восстановление мышечной и эндотелиальной сердечных тканей, повреждённых вследствие инфаркта миокарда [57]. Разрабатываются протоколы по получению из ИПСК первичных половых клеток (ППК), что в перспективе позволит найти новые способы лечения бесплодия [58]. Из ИПСК также были получены макрофаги, проявляющие выраженную противомикробную активность [59].

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПСК В ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ

Одним из препятствий практического применения ПСК является их потенциал к формированию опухолей после трансплантации [2]. При подкожном введении ПСК иммунодефицитным мышам ПСК образуют тератомы – доброкачественные опухоли, содержащие клетки трёх зародышевых листков. Это свойство – одна из главных характеристик состояния плюрипотентности [60]. При этом онкогенность ПСК и их производных после трансплантации можно разделить на две отдельные категории: формирование доброкачественных тератом и формирование злокачественных тератокарцином, содержащих клетки трёх зародышевых листков и плюрипотентные эмбриональные карциномные клетки [61]. Способность ПСК вызывать развитие опухолей исследовалась на многих животных моделях – мышах [62, 63] и приматах [64]. Трансплантированные в мозг обезьян дофаминэргические нейроны, полученные из ЭСК человека, формировали опухоли [64].

Сигнальные пути и экспрессия генов, которые поддерживают плюрипотентность и вызывают онкогенез, тесно связаны [65]. В раковых клетках могут быть задействованы механизмы и координированно функционирующие гены, характерные для ПСК и способствующие высокому темпу

пролиферации, самообновлению. К этим генам относятся *Nanog*, *Oct4*, *Sox2*, *c-Myc* [66]. К тому же отсутствие р53-опосредованной регуляции клеточного цикла, устойчивость к апоптозу, отсутствие Rb-чекпойнтов являются пересекающимися механизмами поддержания ПСК и раковых клеток [61]. Была описана корреляция между генной экспрессией клеток агрессивных раковых опухолей и экспрессией транскрипционных факторов плюрипотентности, в особенности связанных с транскрипционным фактором *c-Myc* [66]. При этом для ПСК характерны механизм контроля деления и бесконечная пролиферация только в условиях поддержания плюрипотентности [13]. При изменении этих условий ПСК теряют данные свойства и переходят к дифференцировке [13]. Исследования показали, что дифференцированные клетки могут реактивировать или поддерживать активность генов плюрипотентности [66].

Безопасные методы репрограммирования соматических клеток в ИПСК могут помочь преодолеть проблему их трансформации в раковые клетки. К таким методам относится использование векторов, которые могут быть вырезаны из генома ИПСК. Это, например, доксициклин-индуцируемые лентивирусные конструкции [67]. Для того чтобы обойти реактивацию потенциально онкогенных факторов репрограммирования, используют вирусы и плазмиды, которые не встраиваются в геном и не вызывают его модификаций, а также прямую доставку мРНК и белков плюрипотентности [68, 69].

Способность ПСК и их производных формировать опухоли – это одно из главных препятствий их клинического применения. Образованию опухоли способствует иммунный ответ организма на дифференцированные и недифференцированные ПСК. С одной стороны, сильная иммунная реакция снижает вероятность формирования опухоли, но и приводит к отторжению всего трансплантата. С другой стороны, сниженная иммуногенность, напротив, способствует приживлению имплантата, но повышает вероятность возникновения опухоли.

Существуют аутогенные и аллогенные трансплантаты ПСК, различающиеся по иммуногенным свойствам. Очевидное решение проблемы несовместимости – создание аутогенных трансплантатов ПСК, которые не вызывают сильного иммунного ответа и считаются иммунотолерантными [70]. Было показано, что трансплантация мышам тканей кожи и костного мозга, полученных из ИПСК, проходит успешно без признаков отвержения [71]. Сниженная иммуногенность трансплантатов ПСК более предпочтительна, так как это не требует жёсткой иммуносупрессии, характерной для аллогенной трансплантации. Однако метод создания индивидуальных аутоген-

ных ПСК является дорогостоящим и требует длительного времени, поэтому в клинической практике он не применяется повсеместно [72]. Недавние исследования показали, что производные ИПСК могут активировать цитотоксический ответ аутогенных лимфоцитов и тем самым вызывать воспаление [73] и что производные ИПСК подвержены цитотоксическому воздействию натуральных киллеров вне зависимости от статуса HLA-1 [73]. Это может быть связано с нарушением баланса активирующих и ингибирующих лигандов натуральных киллеров на поверхности производных ИПСК [73].

При аллогенной трансплантации тканей генетически неидентичных организмов возникает иммунная реакция, вызванная несовместимостью групп крови, молекул главного комплекса гистосовместимости, минорных антигенов гистосовместимости. Однако аллогенная трансплантация подробно охарактеризованных линий ПСК является более осуществимым способом клеточной терапии, чем аутогенная трансплантация. Разработаны методы снижения иммуногенности ПСК, при которых подавляют либо удаляют гены, связанные с комплексом HLA, и используют иммуносупрессоры [74, 75]. Высокий практический потенциал решения проблемы гистосовместимости имеет создание банков линий ИПСК и их производных, гомозиготных по генам HLA [76].

Несмотря на описанные трудности, проводятся клинические исследования по трансплантации производных ИПСК пациентам. Так, четырём пациентам с повреждениями спинного мозга в области С3/4-Th10 сегментов были трансплантированы нейральные стволовые клетки-предшественники, дифференцированные из ИПСК [77]. Проводятся клинические исследования по тестированию кардиомиоцитов [78], пигментного эпителия сетчатки, которые получают из ПСК [79].

МОДЕЛИРОВАНИЕ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ И ТЕСТИРОВАНИЕ ЛЕКАРСТВ

Критический аспект в определении патофизиологии болезни и поиске лекарства – наличие физиологически релевантной модели заболевания. Часто переход испытаний лекарств на модельных животных к клиническим испытаниям на людях терпит неудачу вследствие физиологических различий видов. Клеточное моделирование заболеваний ограничено из-за недостатка труднодоступных клеток, таких как нейроны, кардиомиоциты, бета-клетки поджелудочной железы и др. Моделирование заболеваний с использованием ИПСК обладает такими преимуществами, как неограниченное количество клеток различных фенотипов, получение клеток от любого человека, генетическое редактирование.

Тестирование лекарств с использованием ИПСК имеет ряд преимуществ по сравнению с другими методами тестирования, в частности, с использованием животных моделей, так как с помощью ИПСК можно моделировать заболевания, включающие нарушения работы сразу нескольких генов, при этом исследование проводится на клетках или тканях человека. На основе этого метода было проведено несколько успешных проверок лекарств на их токсичность и эффективность.

ИПСК, репрограммированные из клеток пациентов с недостаточностью альфа-1-антитрипсина (A1AT), дифференцировали в гепатоциты. Дефицит A1AT вызывается мутацией в гене *A1AT* и приводит к нарушениям работы печени. При использовании производных ИПСК были обнаружены вещества, уменьшающие накопление мутантного A1AT в клетках. Так, карбамазепин оказался эффективен и способствовал лечению фиброза печени мышей с дефицитом A1AT [80].

Некоторые лекарства, не прошедшие достаточного тестирования, оказываются кардиотоксичными. В настоящее время общепринятые тесты на кардиотоксичность детектируют компоненты лекарства, блокирующие калиевые каналы (hERG-тест). Известно, что hERG-тест является неточным показателем кардиотоксичности и регулярно приводит к ложноположительным и ложноотрицательным результатам [81]. Токсичность лекарств проверяют на иммортализованных клетках, которые накапливают мутации и становятся нечувствительны к воздействию лекарств [82]. Кардиомиоциты животных отличаются от кардиомиоцитов человека по электрофизиологическим характеристикам, поэтому использование животных моделей также ограничено. Тестирование новых препаратов может происходить с использованием тканей, полученных от человека. Однако изоляция ткани и протокол её подготовки – трудоёмкие процессы. Поэтому создание кардиомиоцитов из ЭСК и ИПСК человека – потенциальный метод генерации более точного теста на кардиотоксичность. Обнаружено, что чувствительность к ингибиторам калиевого тока проаритмогенных препаратов более достоверна в кардиомиоцитах, полученных из ЭСК/ИПСК человека, чем в коммерческих hERG-клеточных линиях (hERG-HEK293) [82].

ПОЛУЧЕНИЕ ПАЦИЕНТ-СПЕЦИФИЧНЫХ ИПСК. ГЕНЕТИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ

Генетически модифицированные пациент-специфичные ИПСК имеют высокий потенциал к лечению широкого спектра заболеваний. Системы редактирования генома, такие как нуклеазы с цинковыми пальцами (ZFN), TALEN (transcription activator like effector nucleases), CRISPR/CAS9,

позволяют исправлять мутации, приводящие к заболеваниям [83]. Для генотерапии также используются искусственные хромосомы. Alphoid^{tetO}-искусственная хромосома человека применяется для векторной доставки генов в ИПСК, в клетки пациентов с нарушениями работы определённых генов. Проводятся исследования по разработке протокола доставки Alphoid^{tetO}-искусственной хромосомы в ИПСК, однако пока это остаётся трудной задачей [84].

Удалось получить фибробласты “гуманизированной” мыши с мутацией β -цепи гемоглобина ($h\beta^S$) человека, моделирующей развитие серповидно-клеточной анемии [84]. Выделенные фибробласты были репрограммированы в ИПСК ретровирусной конструкцией, кодирующей Oct4, Sox2, Klf4 и c-Myc [85]. Далее в полученных ИПСК мыши с мутацией $h\beta^S$ была исправлена мутация с помощью гомологичной рекомбинации с диким типом гемоглобина цепи β^A человека [85]. Направленной дифференцировкой модифицированных ИПСК в эмбрионидных тельцах получали гематопоэтические клетки-предшественники, которые трансплантировали в мышь, в результате чего произошло улучшение фенотипа мутантных мышей [85].

В другом исследовании были получены дермальные фибробласты и кератиноциты человека, страдающего анемией Фанкони [86]. В эти соматические клетки с помощью лентивирусной трансдукции был введён нормальный аллель мутантного гена *FANCA*, вызвавшего анемию. Затем клетки репрограммировали в ИПСК путём ретровирусной трансдукции генов, кодирующих транскрипционные факторы OCT4, SOX2, KLF4, с или без C-MYC. Из ИПСК, которые несли здоровый аллель гена *FANCA*, удалось получить клетки гематопоэтического ряда, которые также несли здоровый аллель гена. Однако авторы этого исследования подчёркивают необходимость дальнейшего изучения онкогенности ИПСК перед их трансплантацией в организм человека [86].

* * *

Таким образом, не вызывает сомнений, что ПСК (ЭСК и ИПСК) — это многообещающая модель, которая применяется в биомедицине, фармакологии, клеточной терапии, а также в исследованиях раннего эмбриогенеза. Несмотря на нерешённость некоторых вопросов безопасности (онкогенность, иммуногенность) и на технологические проблемы, терапия на основе ПСК человека начинает использоваться для лечения различных заболеваний и, это не менее важно, благодаря клеточным моделям на основе ПСК наблюдается прогресс в области изучения многих заболеваний. Тем не менее терапевтические под-

ходы с использованием ПСК всё ещё находятся в зачаточном состоянии и требуют дальнейшего исследования для безопасного и эффективного их применения.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках государственного задания ИБР РАН № 088-2021-0016, а также поддержана Министерством науки и высшего образования РФ, соглашение № 075-15-2021-1063 от 28.09.2021.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит описания исследований, выполненных с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Smith A.G.* Embryo-Derived Stem Cells: Of Mice and Men // Annual Review of Cell and Developmental Biology. 2001. V. 17. № 1. P. 435–462.
2. *Lee A.S., Tang C., Rao M.S. et al.* Tumorigenicity as a clinical hurdle for pluripotent stem cell therapies // Nat. Med. 2013. V. 19. № 8. P. 998–1004.
3. *Evans M.J., Kaufman M.H.* Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos // Nature. 1981. V. 292. № 5819. P. 154–156.
4. *Zacharias D.G., Nelson T.J., Mueller P.S., Hook C.C.* The Science and Ethics of Induced Pluripotency: What Will Become of Embryonic Stem Cells? // Mayo Clinic Proceedings. 2011. V. 86. № 7. P. 634–640.
5. *Hochedlinger K., Jaenisch R.* Nuclear reprogramming and pluripotency // Nature. 2006. V. 441. № 7097. P. 1061–1067.
6. *Takahashi K., Yamanaka S.* Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors // Cell. 2006. V. 126. № 4. P. 663–676.
7. *Rowe R.G., Daley G.Q.* Induced pluripotent stem cells in disease modelling and drug discovery // Nat. Rev. Genet. 2019. V. 20. № 7. P. 377–388.
8. *Ying Q.-L., Wray J., Nichols J. et al.* The ground state of embryonic stem cell self-renewal // Nature. 2008. V. 453. May. P. 519–23.
9. *Levenstein M.E., Ludwig T.E., Xu R.-H. et al.* Basic Fibroblast Growth Factor Support of Human Embryonic Stem Cell Self-Renewal // Stem Cells. 2006. V. 24. № 3. P. 568–574.
10. *Vallier L., Mendjan S., Brown S. et al.* Activin/Nodal signalling maintains pluripotency by controlling Nanog expression // Development. 2009. V. 136. № 8. P. 1339–1349.
11. *Ávila-González D., Portillo W., García-López G. et al.* Unraveling the Spatiotemporal Human Pluripotency in Embryonic Development // Frontiers in Cell and Developmental Biology. 2021. V. 9. P. 1539.
12. *Liu L., Michowski W., Inuzuka H. et al.* G1 cyclins link proliferation, pluripotency and differentiation of em-

- bryonic stem cells // *Nat. Cell Biol.* 2017a. V. 19. № 3. P. 177–188.
13. Liu X., Nefzger C.M., Rossello F.J. et al. Comprehensive characterization of distinct states of human naive pluripotency generated by reprogramming // *Nature Publishing Group.* 2017b. № September.
 14. Neagu A., van Genderen E., Escudero I. et al. In vitro capture and characterization of embryonic rosette-stage pluripotency between naive and primed states // *Nature Cell Biology.* 2020. V. 22 № 5. P. 534–545. <https://doi.org/10.1038/s41556-020-0508-x>
 15. Gordeev M.N., Bakhmet E.I., Tomilin A.N. Pluripotency Dynamics during Embryogenesis and in Cell Culture // *Russian Journal of Developmental Biology.* 2021. V. 52. № 6. P. 379–389.
 16. Sim Y.-J., Kim M.-S., Nayfeh A. et al. 2i Maintains a Naive Ground State in ESCs through Two Distinct Epigenetic Mechanisms // *Stem Cell Reports.* 2017. V. 8. № 5. P. 1312–1328.
 17. Novo C.L. A Tale of Two States: Pluripotency Regulation of Telomeres // *Frontiers in Cell and Developmental Biology.* 2021. V. 9.
 18. Nichols J., Smith A. Naive and Primed Pluripotent States // *Cell Stem Cell.* 2009. V. 4. № 6. P. 487–492.
 19. Lagarkova M.A., Ereemeev A.V., Svetlakov A.V. et al. Human embryonic stem cell lines isolation, cultivation, and characterization // *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Animal.* 2010. V. 46. № 3–4. P. 284–293.
 20. Rossant J., Tam P.P.L. New insights into early human development: lessons for stem cell derivation and differentiation // *Cell Stem Cell.* 2017. V. 20. № 1. P. 18–28.
 21. Dahéron L., Opitz S.L., Zaehres H. et al. LIF/STAT3 Signaling Fails to Maintain Self-Renewal of Human Embryonic Stem Cells // *Stem Cells.* 2004. V. 22. № 5. P. 770–778.
 22. Kinoshita M., Smith A. Pluripotency Deconstructed // *Development Growth and Differentiation.* 2018. V. 60. № 1. P. 44–52.
 23. Kinoshita M., Barber M., Mansfield W. et al. Capture of Mouse and Human Stem Cells with Features of Formative Pluripotency // *Cell Stem Cell.* 2021. V. 28. № 3. P. 453–471.e8.
 24. Hoogland S.H.A., Marks H. Developments in pluripotency: a new formative state // *Cell Research.* 2021. V. 31. № 5. P. 493–494.
 25. Yeh C.Y., Huang W.H., Chen H.C., Meir Y.J.J. Capturing Pluripotency and Beyond // *Cells.* 2021. V. 10. № 12. P. 3558.
 26. Abdyyev V.K., Sant D.W., Kiseleva E.V. et al. In vitro derived female hPGCLCs are unable to complete meiosis in embryoid bodies // *Experimental Cell Research.* 2020. V. 397. № 2. P. 112358.
 27. Nakano T., Ando S., Takata N. et al. Self-Formation of Optic Cups and Storable Stratified Neural Retina from Human ESCs // *Cell Stem Cell.* 2012. V. 10. № 6. P. 771–785.
 28. Nestor M.W., Paull D., Jacob S. et al. Differentiation of serum-free embryoid bodies from human induced pluripotent stem cells into networks // *Stem Cell Research.* 2013. V. 10. № 3. P. 454–463.
 29. Yabe S.G., Nishida J., Fukuda S. et al. Definitive endoderm differentiation is promoted in suspension cultured human iPS-derived spheroids more than in adherent cells // *Int. J. Dev. Biol.* 2019. V. 63. № 6–7. P. 271–280.
 30. Darabi R., Gehlbach K., Bachoo R.M. et al. Functional skeletal muscle regeneration from differentiating embryonic stem cells // *Nat Med.* 2008. V. 14. № 2. P. 134–143.
 31. Shahbazi M.N., Zernicka-Goetz M. Deconstructing and reconstructing the mouse and human early embryo // *Nat. Cell Biol.* 2018. V. 20. № 8. P. 878–887.
 32. Harrison S.E., Sozen B., Christodoulou N. et al. Assembly of embryonic and extraembryonic stem cells to mimic embryogenesis in vitro // *Science.* 2017. V. 356. № 6334. P. eaal1810.
 33. Rivron N.C., Frias-Aldeguer J., Vrij E.J. et al. Blastocyst-like structures generated solely from stem cells // *Nature.* 2018. V. 557. № 7703. P. 106–111.
 34. Moris N., Anlas K., Brink S.C. van den et al. An in vitro model of early anteroposterior organization during human development // *Nature.* 2020. V. 582. № 7812. P. 410–415.
 35. Brink S.C. van den, Alemany A., Batenburg V. van et al. Single-cell and spatial transcriptomics reveal somitogenesis in gastruloids // *Nature.* 2020. V. 582. № 7812. P. 405–409.
 36. Berlo D. van, Nguyen V.V.T., Gkouzioti V. et al. Stem cells, organoids, and organ-on-a-chip models for personalized in vitro drug testing // *Current Opinion in Toxicology.* 2021. V. 28. P. 7–14.
 37. McCracken K.W., Catá E.M., Crawford C.M. et al. Modelling human development and disease in pluripotent stem-cell-derived gastric organoids // *Nature.* 2014. V. 516. № 7531. P. 400–404.
 38. Churin Y., Al-Ghoul L., Kepp O. et al. Helicobacter pylori CagA protein targets the c-Met receptor and enhances the motogenic response // *J Cell Biol.* 2003. V. 161. № 2. P. 249–255.
 39. Provin N., Giraud M. Differentiation of Pluripotent Stem Cells Into Thymic Epithelial Cells and Generation of Thymic Organoids: Applications for Therapeutic Strategies Against APECED // *Frontiers in Immunology.* 2022. V. 13. P.930963
 40. Koehler K.R., Hashino E. 3D mouse embryonic stem cell culture for generating inner ear organoids // *Nat. Protoc.* 2014. V. 9. № 6. P. 1229–1244.
 41. Miyake T., Shimada M. 3D Organoid Culture Using Skin Keratinocytes Derived from Human Induced Pluripotent Stem Cells // *Induced Pluripotent Stem (iPS) Cells: Methods and Protocols Methods in Molecular Biology / A. Nagy, K. Turksen (ed.). New York: Springer US, 2022. P. 285–295.*
 42. Sahu S., Sharan S.K. Translating Embryogenesis to Generate Organoids: Novel Approaches to Personalized Medicine // *iScience.* 2020. V. 23. № 9. P. 101485.
 43. Muguruma K., Nishiyama A., Kawakami H. et al. Self-Organization of Polarized Cerebellar Tissue in 3D Culture of Human Pluripotent Stem Cells // *Cell Reports.* 2015. V. 10. № 4. P. 537–550.

44. Amin N.D., Pasca S.P. Building Models of Brain Disorders with Three-Dimensional Organoids // *Neuron*. 2018. V. 100. № 2. P. 389–405.
45. Yoon K.-J., Song G., Qian X. et al. Zika-Virus-Encoded NS2A Disrupts Mammalian Cortical Neurogenesis by Degrading Adherens Junction Proteins // *Cell Stem Cell*. 2017. V. 21. № 3. P. 349–358.e6.
46. Quadrato G., Nguyen T., Macosko E.Z. et al. Cell diversity and network dynamics in photosensitive human brain organoids // *Nature*. 2017. V. 545. № 7652. P. 48–53.
47. Ereemeev A.V., Lebedeva O.S., Bogomiakova M.E. et al. Cerebral Organoids – Challenges to Establish a Brain Prototype // *Cells*. 2021. V. 10. № 7. P. 1790.
48. Berger E., Magliaro C., Paczia N. et al. Millifluidic culture improves human midbrain organoid vitality and differentiation // *Lab. on a Chip*. 2018. V. 18. № 20. P. 3172–3183.
49. Mansour A.A., Gonçalves J.T., Bloyd C.W. et al. An in vivo model of functional and vascularized human brain organoids // *Nat. Biotechnol.* 2018. V. 36. № 5. P. 432–441.
50. Еремеев А.В., Воловикова Е.А., Шувалова Л.Д., Давиденко А.В., Хомякова Е.А., Богомякова М.Е., Лебедева О.С., Зубкова О.А., Лагарькова М.А. “Голь на выдумки хитра”, или дешёвый, надёжный и воспроизводимый способ получения органоидов // *Биохимия*. 2019. V. 84. P. 448–456.
51. Kiernan M.C., Vucic S., Cheah B.C. et al. Amyotrophic lateral sclerosis // *The Lancet*. 2011. V. 377. № 9769. P. 942–955.
52. Martin L.J., Price A.C., Kaiser A. et al. Mechanisms for neuronal degeneration in amyotrophic lateral sclerosis and in models of motor neuron death (Review) // *International Journal of Molecular Medicine*. 2000. V. 5. № 1. P. 3–16.
53. Di Giorgio F.P., Boulting G.L., Bobrowicz S., Eggan K.C. Human Embryonic Stem Cell-Derived Motor Neurons Are Sensitive to the Toxic Effect of Glial Cells Carrying an ALS-Causing Mutation // *Cell Stem Cell*. 2008. V. 3. № 6. P. 637–648.
54. Karumbayaram S., Novitsch B.G., Patterson M. et al. Directed Differentiation of Human-Induced Pluripotent Stem Cells Generates Active Motor Neurons // *Stem Cells*. 2009. V. 27. № 4. P. 806–811.
55. Carr A.-J., Vugler A.A., Hikita S.T. et al. Protective Effects of Human iPSC-Derived Retinal Pigment Epithelium Cell Transplantation in the Retinal Dystrophic Rat // *PLOS ONE*. 2009. V. 4. № 12. P. e8152.
56. Buchholz D.E., Hikita S.T., Rowland T.J. et al. Derivation of Functional Retinal Pigmented Epithelium from Induced Pluripotent Stem Cells // *Stem Cells*. 2009. V. 27. № 10. P. 2427–2434.
57. Nelson T.J., Martinez-Fernandez A., Yamada S. et al. Repair of Acute Myocardial Infarction by Human Stemness Factors Induced Pluripotent Stem Cells // *Circulation*. 2009. V. 120. № 5. P. 408–416.
58. Абдыев В.К., Дашинимаев Э.Б., Неклюдова И.В. и др. Современные технологии получения первичных половых клеток человека in vitro // *Биохимия*. 2019. V. 84. № 3. P. 330–342.
59. Lyadova I., Gerasimova T., Nenasheva T. Macrophages Derived From Human Induced Pluripotent Stem Cells: The Diversity of Protocols, Future Prospects, and Outstanding Questions // *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2021. № 9.
60. Thomson J.A., Itskovitz-Eldor J., Shapiro S.S. et al. Embryonic Stem Cell Lines Derived from Human Blastocysts // *Science*. 1998. V. 282. № 5391. P. 1145–1147.
61. Ben-David U., Benvenisty N. The tumorigenicity of human embryonic and induced pluripotent stem cells // *Nat. Rev. Cancer*. 2011. V. 11. № 4. P. 268–277.
62. Martin G.R. Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1981. V. 78. № 12. P. 7634–7638.
63. Shih C.-C., Forman S.J., Chu P., Slovak M. Human embryonic stem cells are prone to generate primitive, undifferentiated tumors in engrafted human fetal tissues in severe combined immunodeficient mice // *Stem Cells Dev*. 2007. V. 16. № 6. P. 893–902.
64. Doi D., Morizane A., Kikuchi T. et al. Prolonged maturation culture favors a reduction in the tumorigenicity and the dopaminergic function of human ESC-derived neural cells in a primate model of Parkinson’s disease // *Stem Cells*. 2012. V. 30. № 5. P. 935–945.
65. Schoenhals M., Kassambara A., De Vos J. Embryonic stem cell markers expression in cancers // *Biochemical and biophysical research communications*. 2009. V. 383. № 2.
66. Ben-Porath I., Thomson M.W., Carey V.J. et al. An embryonic stem cell-like gene expression signature in poorly differentiated aggressive human tumors // *Nat. Genet*. 2008. V. 40. № 5. P. 499–507.
67. Soldner F., Hockemeyer D., Beard C. et al. Parkinson’s disease patient-derived induced pluripotent stem cells free of viral reprogramming factors // *Cell*. 2009. V. 136. № 5. P. 964–977.
68. Warren L., Manos P.D., Ahfeldt T. et al. Highly efficient reprogramming to pluripotency and directed differentiation of human cells with synthetic modified mRNA // *Cell Stem Cell*. 2010. V. 7. № 5. P. 618–630.
69. Ban H., Nishishita N., Fusaki N. et al. Efficient generation of transgene-free human induced pluripotent stem cells (iPSCs) by temperature-sensitive Sendai virus vectors // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 2011. V. 108. № 34. P. 14234–14239.
70. Pearl J.I., Kean L.S., Davis M.M., Wu J.C. Pluripotent Stem Cells: Immune to the Immune System? // *Science Translational Medicine*. 2012. V. 4. № 164. P. 164ps25-164ps25.
71. Guha P., Morgan J.W., Mostoslavsky G. et al. Lack of immune response to differentiated cells derived from syngeneic induced pluripotent stem cells // *Cell Stem Cell*. 2013. V. 12. № 4. P. 407–412.
72. Hanna J.H., Saha K., Jaenisch R. Pluripotency and cellular reprogramming: facts, hypotheses, unresolved issues // *Cell*. 2010. V. 143. № 4. P. 508–525.
73. Bogomiakova M.E., Sekretova E.K., Anufrieva K.S. et al. iPSC-derived cells lack immune tolerance to autologous NK-cells due to imbalance in ligands for activating and inhibitory NK-cell receptors // *Stem Cell Res. Ther*. 2023. V. 14. № 1. P. 77.

74. Zheng D., Wang X., Xu R.-H. Concise Review: One Stone for Multiple Birds: Generating Universally Compatible Human Embryonic Stem Cells // *Stem Cells*. 2016. V. 34. № 9. P. 2269–2275.
75. Bogomiakova M.E., Ereemeev A.V., Lagarkova M.A. At Home among Strangers: Is It Possible to Create Hypoimmunogenic Pluripotent Stem Cell Lines? // *Mol. Biol.* 2019. V. 53. № 5. P. 638–652.
76. Taylor C.J., Peacock S., Chaudhry A.N. et al. Generating an iPSC bank for HLA-matched tissue transplantation based on known donor and recipient HLA types // *Cell Stem Cell*. 2012. V. 11. № 2. P. 147–152.
77. Curtis E., Martin J.R., Gabel B. et al. A First-in-Human, Phase I Study of Neural Stem Cell Transplantation for Chronic Spinal Cord Injury // *Cell Stem Cell*. 2018. V. 22. № 6. P. 941–950.e6.
78. HeartWorks, Inc. Safety and Feasibility of Autologous Induced Pluripotent Stem Cells of Cardiac Lineage in Subjects With Congenital Heart Disease: clinicaltrials.gov, 2023. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT05647213>
79. Beijing Tongren Hospital. Safety and Efficacy of Autologous Transplantation of Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Retinal Pigment Epithelium in the Treatment of Macular Degeneration: clinicaltrials.gov, 2022. <https://hpscreg.eu/browse/trial/119>
80. Choi S.M., Kim Y., Shim J.S. et al. Efficient drug screening and gene correction for treating liver disease using patient-specific stem cells // *Hepatology*. 2013. V. 57. № 6. P. 2458–2468.
81. Lu H.R., Vlamincx E., Hermans A.N. et al. Predicting drug-induced changes in QT interval and arrhythmias: QT-shortening drugs point to gaps in the ICHS7B Guidelines // *Br. J. Pharmacol.* 2008. V. 154. № 7. P. 1427–1438.
82. Liang P., Lan F., Lee A.S. et al. Drug Screening Using a Library of Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes Reveals Disease-Specific Patterns of Cardiotoxicity // *Circulation*. 2013. V. 127. № 16. P. 1677–1691.
83. Tucker B.A., Mullins R.F., Stone E.M. Stem cells for investigation and treatment of inherited retinal disease // *Human Molecular Genetics*. 2014. V. 23. № R1. P. R9–R16.
84. Sinenko S.A., Skvortsova E.V., Liskovykh M.A. et al. Transfer of Synthetic Human Chromosome into Human Induced Pluripotent Stem Cells for Biomedical Applications // *Cells*. 2018. V. 7. № 12. P. 261.
85. Hanna J., Wernig M., Markoulaki S. et al. Treatment of Sickle Cell Anemia Mouse Model with iPS Cells Generated from Autologous Skin // *Science*. 2007. V. 318. № 5858. P. 1920–1923.
86. Raya Á., Rodríguez-Pizà I., Guenechea G. et al. Disease-corrected haematopoietic progenitors from Fanconi anaemia induced pluripotent stem cells // *Nature*. 2009. V. 460. № 7251. P. 53–59.

PLURIPOTENCY AND PERSPECTIVES OF CELL TECHNOLOGIES

E. D. Erofeeva^{1,#}, V. K. Abdyev^{1,##}, A. V. Yeremeyev^{1,3,###}, E. A. Vorotelyak^{1,2,####}, and A. V. Vasiliev^{1,2,#####}

¹N.K. Koltzov Institute of Developmental Biology Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

²Biological Faculty of Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

³Y.M. Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physico-Chemical Medicine, FMBA of Russia, Moscow, Russia

#E-mail: erofeeva.zhenya@gmail.com

##E-mail: mailtovepa@gmail.com

###E-mail: art-eremeev@yandex.ru

####E-mail: vorotelyak@yandex.ru

#####E-mail: 113162@bk.ru

Biology of pluripotency is a modern field of biological science, and at the same time a tool for modeling human morphogenesis *in vitro*. Pluripotency is the property of cells to self-renew and differentiate into all types of cells of an adult organism, which appears in early embryogenesis in mammals. Pluripotent stem cells (PSCs) have limitless potential in regenerative and translational medicine, which open up perspectives for solving multiple diseases, including hereditary ones. This review describes the characteristics and uniqueness of PSCs, modeling of early human morphogenesis *in vitro* in blastocyst-like structures and gastruloids, modeling of organogenesis in organoids. Next, we considered the use of PSCs in regenerative medicine with their risks of capability to oncogenicity and immunogenicity in implication of a cell replacement therapy. However, therapeutic approaches using PSCs are still in their infancy and need to be deeply scrutinized.

Keywords: pluripotent stem cells, iPSCs, ESCs, naive PSCs, primed PSCs, reprogramming, regenerative medicine.

АЛЬТЕРНАТИВНАЯ ЭНЕРГЕТИКА И ИСКУССТВЕННЫЙ ФОТОСИНТЕЗ

© 2023 г. С. И. Аллахвердиев^{а,*}

^аИнститут физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия

*E-mail: suleyman.allakhverdiev@gmail.com

Поступила в редакцию 03.04.2023 г.

После доработки 10.05.2023 г.

Принята к публикации 17.07.2023 г.

Ограниченность запасов ископаемого топлива и отрицательное влияние продуктов его сгорания на экологию — две актуальные проблемы современности. В качестве возможного их решения рассматривается освоение альтернативных источников энергии, среди которых наиболее доступна энергия Солнца. Приобретение навыков эффективного и экологичного её использования путём создания искусственных фотосинтезирующих систем, имитирующих процессы природного фотосинтеза, а также применение искусственного фотосинтеза для производства биотоплива могут способствовать выходу из сложившейся ситуации.

Ключевые слова: альтернативные виды энергии, биоводород, биофотолит, искусственный фотосинтез, солнечные ячейки.

DOI: 10.31857/S0869587323090037, EDN: IONBRM

В настоящее время традиционные виды топлива служат основным источником энергии. Однако ограниченность их запасов на планете, отрицательное воздействие продуктов сгорания топлива на окружающую среду, влекущее за собой негативные климатические изменения, а также рост мировых потребностей в энергии диктуют необходимость использования альтернативных её источников, причём экологически чистых и возобновляемых, поиска путей их производства в промышленных масштабах. Принято считать, что любой вид энергии, производимый из возобновляемых источников и не оказывающий отрицательного влияния на окружающую среду, может стать кандидатом на роль основного вида энергии для человечества в будущем [1, 2].



АЛЛАХВЕРДИЕВ Сулейман Ифхан-оглы — член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией управляемого фотобиосинтеза ИФР РАН.

Сегодня на долю традиционных источников приходится более 80% всей получаемой в мире энергии, на долю альтернативных — около 13% и 6% — на ядерное топливо [3]. В качестве экологически безопасных альтернативных источников энергии (АИЭ) рассматриваются гидроэнергия, энергия ветра, геотермальная, солнечная, а также энергия, получаемая в результате переработки биомассы в молекулярный водород, и энергия биотоплива.

Гидроэнергетика — наиболее изученный и широко используемый источник возобновляемой энергии. По данным на 2019 г. общая установленная мощность гидроэнергетических установок была выше, чем других возобновляемых источников [4]. Несмотря на отсутствие вредного воздействия на атмосферу, гидроэнергетика отрицательно влияет на экологию водных биоресурсов [5].

Другим АИЭ служит энергия ветра, по количеству вырабатываемой электроэнергии ветряные турбины уступают лишь гидротурбинам [4]. Среди недостатков, связанных с получением этого вида энергии, выделяют шум от работы ветротурбин, гибель птиц при столкновении с лопастями, светотеневой эффект, а также низкочастотные звуковые волны, оказывающие отрицательное воздействие на психику человека [6–8].

Геотермальная энергия характеризуется чрезвычайно низкими выбросами парниковых газов,

однако её получение возможно и рационально лишь в местах, где на поверхности или близко к ней имеются большие геотермальные источники. Необходимость глубокого бурения земной коры в случае их залегания на больших глубинах ставит под сомнение экономическую целесообразность и отсутствие негативного воздействия на окружающую среду этого способа получения энергии [9].

По количеству энергии, поставляемой на нашу планету в единицу времени, лидирует Солнце. Природный фотосинтез – естественный процесс преобразования солнечной энергии в другие виды энергии. Энергия квантов света в основном преобразуется в энергию электрического тока или в энергию химических связей различных соединений, которые в дальнейшем можно применять в качестве топлива [10]. Наиболее известный метод получения энергии от Солнца – фотоэлектрический. Есть и другой, с помощью концентраторов (зеркал или линз), но он используется в несоизмеримо меньших промышленных масштабах [11]. Первый из этих методов предполагает преобразование энергии солнечного излучения в электрическую с помощью фотопреобразователей на основе полупроводников, фотоэлементов на основе органических полимеров, а также тонкоплёночных фотоэлементов. В настоящее время интенсивно разрабатываются солнечные ячейки на основе органических хромофоров (биологических пигментов и пигмент-белковых комплексов). В числе недостатков фотоэлементов – их высокая стоимость и необходимость утилизации вредных компонентов солнечных ячеек [12].

К альтернативным источникам энергии относятся и молекулярный водород – энергоноситель с высокой удельной теплотой сгорания и нулевым углеродным следом [13]. Идея его использования в этой роли весьма привлекательна, поскольку газообразный водород является универсальным, эффективным и устойчивым источником энергии. Наиболее предпочтительная технология получения водорода – фоторазложение воды на молекулярный водород и кислород, базирующееся на неисчерпаемых ресурсах не только самой воды, но и солнечной энергии [14].

Данная статья посвящена рассмотрению современного состояния исследований и перспектив в сферах искусственного фотосинтеза и водородной энергетики, а также обоснованию необходимости научных исследований в целях дальнейшего развития этих отраслей.

СОЛНЕЧНАЯ ЭНЕРГЕТИКА

Солнечная энергия – наиболее перспективный альтернативный источник энергии, что обосновано её неисчерпаемостью. Она может быть преобразована в другие виды энергии за счёт

природного фотосинтеза. За биоконверсию солнечного излучения в энергию химических связей отвечают фотосинтезирующие организмы. Эффективность этого процесса близка к 100% [15].

Фотосинтетический аппарат (ФА) – высокоэффективный механизм и перспективный объект для моделирования процессов превращения энергии (рис. 1). Составные части фотосинтетического аппарата пригодны для использования в составе солнечных ячеек, к примеру реакционные центры могут рассматриваться как кандидаты на роль фотосенсибилизатора из-за их способности к эффективному фотоиндуцированному разделению заряда. Разработка и совершенствование солнечных ячеек на основе компонентов фотосинтетического аппарата может стать альтернативой фотоэлементам на основе полупроводников. В настоящее время именно искусственные фотосистемы, имитирующие природный фотосинтез в гибридных системах производства молекулярного водорода, наиболее привлекательны для исследователей всего мира.

В лабораторных условиях для создания солнечных ячеек на основе компонентов ФА применяют различные фотосинтетические структуры – от реакционных центров фотосистем до целых бактериальных клеток или препаратов тилакоидных мембран. Эффективность таких искусственных систем в настоящее время достигает 16–17%, но в ближайшем будущем этот показатель можно будет повысить в несколько раз.

Наши работы имеют целью исследование природных механизмов фотосинтеза [10, 14], основываясь на которых можно было бы создавать и совершенствовать перспективные устройства для искусственного фотосинтеза с последующим внедрением их в промышленность. Для улучшения качества функционирования солнечных ячеек мы используем разного рода искусственные соединения, способные заменить естественные компоненты ФА кислород-выделяющий комплекс, пластохиноны [16]. Успехи в развитии систем искусственного фотосинтеза стали возможны благодаря многолетнему изучению механизмов естественного фотосинтеза.

В настоящее время решается ряд проблем, тормозящих создание высокоэффективной солнечной ячейки на основе компонентов фотосинтетического аппарата. Так, для иммобилизации компонентов ФА используются гибридные электроды двух типов: на основе диоксида титана без линкера (короткого двухцепочечного сегмента ДНК, образованного олигонуклеотидами), а также золотой электрод с линкером [12]. Золотой электрод состоит из белков, закрепляемых с помощью молекул-линкеров, связывающихся с одной стороны с металлическим электродом, а с другой – с аминокислотами белка. Гибридный

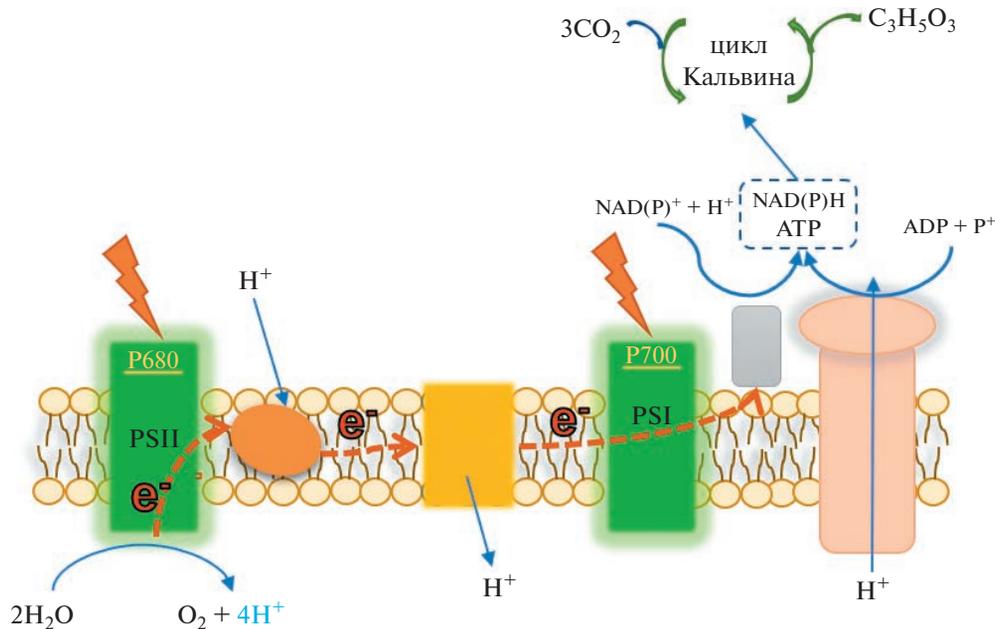


Рис. 1. Фотосинтетическая цепь переноса электронов
 Источник: модифицировано по [14]

электрод представлен слоем мезоскопического полупроводника (диоксид титана, имеющий поры и кристаллы различных размеров), нанесённого на поверхность прозрачного электрода; фиксация белковых комплексов в порах диоксида титана происходит без линкера [17].

В состав солнечной ячейки с мезоскопическим слоем полупроводника на основе фотосенсибилизатора-красителя входят следующие элементы: слой диоксида титана, сенсибилизатор-краситель, электролит, а также токопроводящие электроды. При использовании вышеперечисленных компонентов нам удалось разработать и исследовать солнечную ячейку с иммобилизованными на поверхности мезоскопического слоя фотосинтетическими тилакоидными мембранами [17].

Помимо этого, успешно разработан золотой электрод с иммобилизованными препаратами фотосистемы 2 (ФС2) (её строение будет представлено в следующем разделе статьи). С целью повышения эффективности переноса электронов от ФС2 к золотому электроду нами впервые были синтезированы платиновые частицы, связанные с 7 молекулами TEGSH и 1 молекулой TMR-бензохинона. Синтез платиновых частиц производился из гексахлорплатиновой кислоты, связанной с 2-[2-(2-метоксиэтоксид)этоксид]этантриол TEGSH. Полученные наночастицы платины были инкубированы с 1-[15-(3,5,6-триметил-1,4-бензохинон-2-ил)] пентадецил дисульфидом (TMR(CH₂)₁₅S)₂. Для увеличения эффективности производства фототока в комплексах ФС2 нативный переносчик электронов пластохинон Q_B

был заменён на платинизированный пластохиновый аналог. В результате выявлено, что солнечная ячейка с модифицированной ФС2 (Pt/ФС2 гибридными комплексами) генерирует фототок с большей интенсивностью, чем контрольный образец [18].

Также в лаборатории управляемого фотобиосинтеза ИФР РАН проведена масштабная работа по проектированию, созданию и апробации новой установки, позволяющей менять условия функционирования ячеек: температуру, интенсивность и качество света и др. Эта работа проделана с целью обширного исследования различных параметров и оценки эффективности функционирования солнечных ячеек с компонентами фотосинтетического аппарата в условиях, максимально приближенных к условиям промышленного применения. Согласно полученным данным, повышение интенсивности света (от 40 мкмоль квантов м² с⁻¹) приводит к увеличению силы фототока в присутствии тилакоидов (фотосенсибилизатор), насыщение достигается при 600 мкмоль квантов м² с⁻¹. Фотосистема 2 и входящий в её состав кислород-выделяющий комплекс высокочувствительны к воздействию стрессовых факторов. Экспериментально показано, что для дальнейшего практического применения ФС2 в искусственных системах её можно стабилизировать и/или модифицировать посредством различных специальных агентов, это позволит увеличить эффективность и стабильность работы комплекса в составе ячейки [16].



Рис. 2. Источники получения водорода
 Источник: модифицировано по [19]

ИСКУССТВЕННЫЙ ФОТОСИНТЕЗ И ВОДОРОДНАЯ ЭНЕРГЕТИКА

Главным недостатком некоторых АИЭ (гидроэнергия, энергия ветра, солнечная энергия) оказывается прерывистый характер поставки энергии, связанный с непостоянством погодных условий. В этой связи актуален поиск способов хранения полученной таким образом энергии. Многолетние исследования в данной области позволили сделать вывод, что в настоящее время лучшим способом запасаения энергии может быть её хранение в виде молекулярного водорода.

Водород – наиболее распространённый элемент во Вселенной и самый лёгкий из всех газов. Температура его плавления составляет -259.14°C . На Земле H_2 встречается в связанной форме [19, 20]. Поскольку водород входит в состав молекулы воды, он содержится на планете в избытке и является возобновляемым ресурсом, а тот факт, что единственным продуктом сгорания этого газа оказывается вода, делает его экологически чистым видом топлива. При сжигании водорода выделяется большое количество энергии (120.7 ГДж/т), которая может быть преобразована в электричество [19, 20].

В настоящее время 96% мирового производства водорода зависит от ископаемых ресурсов. Молекулярный водород получают в основном либо путём паровой конверсии метана и крекинга нефти, либо путём газификации угля. Оба способа связаны с серьёзным загрязнением окружающей среды. А значит, приобретает актуальность увеличение доли производства биоводорода экологически чистыми способами. Устойчивые источники его получения привлекают всё большее внимание в качестве альтернативы ископаемым видам топлива. Такую альтернативу представляют собой технология расщепления воды (на её долю приходится всего 3% мирового производ-

ства H_2) и технология получения водорода из биомассы (1% мирового производства H_2) (рис. 2) [21]. Следует отметить, что получение молекулярного водорода с помощью электролиза, то есть разложения воды с использованием электрического тока, дорогостоящий процесс.

Разложение воды на высокоэнергетические электроны, протоны и кислород под действием солнечного излучения характерно для фототрофных организмов. Этот процесс называется фотоллизом воды и обеспечивается фотосистемой 2 – уникальным ферментным комплексом, способным окислять воду до кислорода (O_2), ионов водорода (протонов H^+) и электронов [22]. Структура фотосистемы 2 представлено на рисунке 3.

Для получения водорода, как путём естественного, так и искусственного фотосинтеза нужны высокоэнергетические электроны и протоны (более подробно см. [23, 24]). Одна из важнейших задач, стоящих перед исследователями, заключается в успешном сопряжении реакций фотогенерации протонов и электронов от воды и восстановления протонов до молекулярного водорода (H_2) в системе искусственного фотосинтеза. Создание такой системы, имитирующей природный фотосинтез, позволило бы запустить уникальный цикл выработки экологически чистого топлива в неограниченных количествах. Разработка системы искусственного фотосинтеза должна осуществляться поэтапно (первый этап – создание устройств, моделирующих отдельные реакции фотосинтеза; следующий – сборка полной системы) [1, 10, 25, 26].

Для восстановления протонов до молекулы водорода необходим фермент и источник электронов, в качестве которого может выступать экзогенный восстановитель, ферредоксин или реакционный центр ФС2, сопряжённый с гидрогеназой. В наших работах предыдущих лет [27, 28]

Выявлено, что для искусственного фотосинтеза наиболее перспективны катализаторы, содержащие в своей основе марганец [43]. Применение в качестве катализаторов наноразмерных оксидов металла, встроенных определённым образом в специальный полипептидный каркас, дало наилучшие результаты в процессе электрохимического окисления воды [38–40, 49]. Детальные исследования подобных структур могут обеспечить переход на новый уровень в разработке искусственных систем разложения воды [50].

Перспективно создание неорганических катализаторов с использованием комплексов триоксидов кобальта с полиоксометаллатными лигандами [33]. Другое важное направление – разработка искусственных фотосинтезирующих систем, в качестве примера которых можно привести наноразмерные синтетические каталитические комплексы, сопряжённые с искусственным фотосенсибилизатором (например, на основе бипиридил рутения $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{3+}$) [51]. Уже найдены органические соединения, а также металлоорганические комплексы, отдающие электрон в возбуждённом состоянии искусственному акцептору электронов (например, ион трис(бипиридин) рутения (II), функционирующий в процессе искусственного фотосинтеза, как “природный” реакционный центр фотосистемы) [52].

Методически и технологически от вышеперечисленных способов производства топлива отличается подход, ассоциируемый с получением биоводорода из возобновляемого природного сырья (биомассы). Особое внимание в рамках этого направления уделяют такому виду сырья, как биомасса фототрофных микроорганизмов – микроводорослей и цианобактерий [53–55]. Такой путь получения водорода многообещающ и позволяет решить проблему переработки отходов путём их микробной конверсии.

Производить молекулярный водород способны микроорганизмы следующих групп: цианобактерии, зелёные микроводоросли, анаэробные ферментативные бактерии, анаэробные фотосинтезирующие бактерии. Биологический путь генерации водорода подразделяется на: производство H_2 с использованием фотосинтеза и ферментации бактерий; ферментативное производство H_2 из органических соединений; фоторазложение органических соединений фотосинтезирующими бактериями; биофотолиз воды с использованием микроводорослей и цианобактерий [56].

Среди трудностей, с которыми сталкиваются исследователи при получении водорода биологическим путём, можно выделить низкую эффективность и продуктивность процесса, а также чувствительность ферментов, катализирующих выделение водорода, к содержанию кислорода в окружающей среде [57]. Решение этих проблем

становится возможным за счёт применения метаболических, генетических и технических подходов.

К метаболическим подходам, направленным на улучшение производительности процесса выделения водорода, относятся: регуляция внешних факторов (интенсивность освещения, температура культивирования, газовый состав среды) [58], применение ингибиторов фотосинтетической активности (DCMU, KCN, CCCP и др.) [59], создание стрессовых условий [58, 60].

Генетические подходы включают в себя поиск способов переключения потока электронов на гидрогеназу, разработку O_2 -толерантной гидрогеназы для устойчивого производства био H_2 , разработку мутантов с укороченными антенными комплексами, а также создание искусственных микроРНК [61].

К техническим подходам относятся: масштабирование культивирования микроорганизмов в биореакторах особого типа, снижающих затраты на производство, а также в иммобилизации клеток на различных носителях [58].

Выделение молекулярного водорода цианобактериями и зелёными водорослями происходит в ходе фотосинтетических реакций, источником энергии в этом процессе является солнечный свет, а источником электронов и протонов – вода. Образование водорода при биофотолизе воды (прямым/непрямым) осуществляется с участием ферментов (гидрогеназа, нитрогеназа). При фотосинтетическом переносе электронов восстановленный ферредоксин передаёт электроны для восстановления кофермента никотинамидадениндинуклеотидфосфата и синтеза аденозинтрифосфата, а в процессе фотобиологического производства водорода электроны от ферредоксина передаются на ферменты, вовлечённые в водородный метаболизм [62]. Восстановление протонов до молекулярного водорода с участием гидрогеназ происходит за счёт восстановительных эквивалентов, образующихся при световой стадии фотосинтеза, нитрогеназы же используют восстановительные эквиваленты, образованные в процессе окисления органических соединений, синтезированных во время темновой стадии фотосинтеза [63].

Немаловажны поиск и исследование потенциальных штаммов микроводорослей и цианобактерий – перспективных продуцентов биоводорода. В результате наших работ выделен ряд штаммов цианобактерий, характеризующихся способностью к эффективной генерации биоводорода в темноте и на свету.

При исследовании водород-продуцирующей способности штаммов *Desertifilum* sp. IPPAS B-1220, *Synechococcus* sp. 112, *Phormidium corium* B-26 было показано, что клетки нитчатой негетероцистной

цианобактерии дикого типа *Desertifilum* sp. IPPAS B-1220 способны эффективно производить молекулярный водород до 0.229 $\mu\text{моль H}_2/\text{мг Хл/ч}$ при инкубации на свету в течение 166 ч. Добавление к культуре DSMU в концентрации 10 мМ позволило повысить это значение в 1.5 раза [59].

Впервые в работе [64] исследовано 13 штаммов цианобактерий, среди которых выявлен перспективный дикий штамм *Synechocystis* sp. S-1, являющийся одним из наиболее активных продуцентов водорода по сравнению с данными, имеющимися в литературе. *Synechocystis* sp. S-1 производил H_2 со скоростью 2.35 $\mu\text{моль H}_2/\text{мг Хл/ч}$ в условиях искусственного освещения. Для штамма цианобактерии дикого типа *Anabaena variabilis* A-1 была характерна более высокая продуктивность (нитрогеназная активность) и способность продуцировать водород в темноте со скоростью 8.67 $\mu\text{моль H}_2/\text{мг Хл/ч}$. Метаболическая модуляция позволила значительно увеличить производство водорода: наибольшая скорость продукции фотоводорода наблюдалась в клетках, инкубированных с 25 ммоль буферным агентом HEPES и 50 ммоль бикарбоната натрия (NaHCO_3) [64].

В результате скрининга водород-продуцирующей способности штаммов цианобактерий *Sodalinema gerasimenkoeae* IPPAS B-353, *Dolichospermum* sp. IPPAS B-1213 и *Cyanobacterium* sp. IPPAS B-1200 выявлен высокопродуктивный штамм (*Dolichospermum* sp. IPPAS B-1213), продемонстрировавший наилучшие показатели фотопродукции водорода. Максимальная скорость выделения H_2 – 4.24 $\mu\text{моль H}_2/\text{мг Хл/ч}$ была обнаружена у данного штамма при обработке 20 мкМ DSMU [65].

В дальнейших исследованиях необходимо уделять особое внимание поиску путей и механизмов повышения эффективности выделения H_2 фототрофной биомассой, подходам, направленным на увеличение производительности процесса и подбору перспективных продуцентов.

* * *

На основании вышеизложенного можно сделать вывод, что проблема истощения ископаемого топлива и загрязнения окружающей среды стала мощным стимулом для создания устойчивых возобновляемых источников энергии. Важным шагом на этом пути стало открытие процесса окисления воды в ходе фотосинтеза. Фотосинтез с энергетической точки зрения рассматривается как процесс преобразования солнечной энергии в топливо, а биопроизводство молекулярного водорода при использовании солнечной энергии признаётся альтернативной и многообещающей технологией, которая позволит заменить химические и электрохимические технологии. Получе-

ние биоводорода с помощью фототрофных микроорганизмов может в будущем сыграть ключевую роль в сокращении выбросов парниковых газов в атмосферу. Однако уже известные пути генерации молекулярного водорода требуют повышения эффективности и удешевления его производства, что достижимо благодаря последним технологическим разработкам в области метаболической и генной инженерии.

В заключение следует отметить, что от успеха таких направлений исследований, как эффективное использование солнечной энергии и воды, создание перспективных систем искусственного фотосинтеза и разработка продуктивного катализатора для получения экологически чистого молекулярного водорода в немалой степени зависит будущее мировой энергетики.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Результаты получены в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (122050400128-1) и при поддержке Российского научного фонда (грант № 19-14-00118, грант № 22-44-08001).

БЛАГОДАРНОСТИ

Выражаю благодарность моим коллегам и сотрудникам: доктору биологических наук В.Д. Креславскому, доктору физико-математических наук В.З. Пашенко, кандидату биологических наук С.К. Жармухамедову, аспирантам А.М. Бозиевой и Е.В. Заднепровской за обсуждение и помощь в подготовке рукописи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Nath K., Najafpour M.M., Voloshin R.A. et al. Photobiological hydrogen production and artificial photosynthesis for clean energy: from bio to nanotechnologies // *Photosynthesis Research*. 2015. V. 126 (2–3). P. 237–247.
2. Antal T.K., Matorin D.N., Kukarskikh G.P. et al. Pathways of hydrogen photoproduction by immobilized *Chlamydomonas reinhardtii* cells deprived of sulfur // *International Journal of Hydrogen Energy*. 2014. V. 39. P. 18194–18203.
3. Purchase R.L., De Groot H.J.M. Biosolar cells: Global artificial photosynthesis needs responsive matrices with quantum coherent kinetic control for high yield // *Interface Focus*. 2015. V. 5. P. 20150014.
4. Rahman A., Farrok O., Haque Md.M. Environmental impact of renewable energy source based electrical power plants: Solar, wind, hydroelectric, biomass, geothermal, tidal, ocean, and osmotic // *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2022. V. 161. P. 112279.
5. 13 Nov Hydropower explained: hydropower and the environment. US Energy Information Administration, 2019. <https://www.eia.gov/energyexplained/hydropower/>

- hydropower-and-the-environment.php (дата обращения 10 февраля 2020).
6. *Nazir M.S., Mahdi A.J., Bilal M. et al.* Environmental impact and pollution-related challenges of renewable wind energy paradigm – a review // *Science of the Total Environment*. 2019. V. 683. P. 436–444.
 7. *Nazir M.S., Ali N., Bilal M., Iqbal H.M.* Potential environmental impacts of wind energy development: a global perspective // *Current Opinion in Environmental Science and Health*. 2020. V. 13. P. 85–90.
 8. *May R., Nygård T., Falkdalen U. et al.* Paint it black: efficacy of increased wind turbine rotor blade visibility to reduce avian fatalities // *Ecology and Evolution*. 2020. V. 10. P. 8927–8935.
 9. *Bravi M., Basosi R.* Environmental impact of electricity from selected geothermal power plants in Italy // *Journal of Cleaner Production*. 2014. V. 66. P. 301–308.
 10. *Allakhverdiev S.I., Kreslavski V.D., Thavasi V. et al.* Hydrogen photoproduction by use of photosynthetic organisms and biomimetic systems // *Photochemical and Photobiological Sciences*. 2009. V. 8. P. 148–156
 11. *Tawalbeh M., Al-Othman A., Kafiah F. et al.* Environmental impacts of solar photovoltaic systems: a critical review of recent progress and future outlook // *Science of the Total Environment*. 2021. V. 759. Article number 143528.
 12. *Musazade E., Voloshin R., Brady N. et al.* Biohybrid solar cells: Fundamentals, progress, and challenges // *Journal of Photochemistry and Photobiology. C: Photochemistry Reviews*. 2018. V. 35. P. 134–156.
 13. *Hallenbeck P.C., Lazaro C.Z., Sagir E.* Photosynthesis and hydrogen from photosynthetic microorganisms. *Microalgal Hydrogen Production: Achievements and Perspectives* / Seibert M. and Torzillo G., eds. European Society for Photobiology, 2018. Chapter 1. P. 3–30.
 14. *Allakhverdiev S.I., Kreslavski V.D., Thavasi V. et al.* Photosynthetic energy conversion: hydrogen photoproduction by natural and biomimetic systems / Mukherjee A., ed. *Biomimetics, learning from nature*. Croatia: In-Tech, Vukovar, 2010. P. 49–76.
 15. *Ben-Shem A., Frolow F., Nelson N.* Evolution of photosystem I – From symmetry through pseudosymmetry to asymmetry // *FEBS Letters*. 2004. V. 564 (3) P. 274–280.
 16. *Voloshin R.A., Brady N.G., Zharmukhamedov S.K. et al.* Influence of osmolytes on the stability of thylakoid based dye sensitized solar cells // *International Journal of Energy Research*. Wiley Online Library. 2019. V. 43 (14). P. 8878–8889.
 17. *Voloshin R.A., Bedbenov V.S., Gabrielyan D.A. et al.* Optimization and characterization of TiO₂-based solar cell design using diverse plant pigments // *International Journal of Hydrogen Energy*. 2017. V. 42 (12). P. 8576–8585.
 18. *Miyachi M., Ikehira S., Nishiori D. et al.* Photocurrent Generation of Reconstituted Photosystem II on a Self-Assembled Gold Film // *Langmuir*. 2017. V. 33 (6). P. 1351–1358.
 19. *Adam P., Heunemann F., Bussche Ch. et al.* Hydrogen infrastructure – the pillar of energy transitions the practical conversion of long-distance gas networks to hydrogen operation // *Whitepaper*. 2020. V. 32. P. 1–25.
 20. *Радченко Р.В., Мокрушин А.С., Тольна В.В.* Водород в энергетике. Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2014.
 21. *da Silva Veras T., Mozer T.S., da Silva César A.* Hydrogen: trends, production and characterization of the main process worldwide // *International Journal of Hydrogen Energy*. 2017. V. 42 (4). P. 2018–2033.
 22. *Govindjee, Kern J.F., Messinger J., Whitmarsh J.* Photosystem II // *Encyclopedia of Life Sciences (ELS)*. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd., 2010. P. 1–15.
 23. *Аллахвердиев С.И.* Горизонты искусственного фотосинтеза // *Горизонты биофизики. Т. 2 / Под ред. А.Б. Рубина. М.–Ижевск: Институт компьютерных исследований, 2022. С. 9–47.*
 24. *Аллахвердиев С.И.* Солнце в зелёной ячейке. Глобальная энергия. 2021. <https://globalenergyprize.org/ru/2021/10/19/solnce-v-zelenoj-yachejke/> (дата обращения: 21.07.2023).
 25. *Allakhverdiev S.I., Thavasi V., Kreslavski V.D. et al.* Photosynthetic hydrogen production // *Journal of Photochemistry and Photobiology: C*. 2010. V. 11. P. 87–99.
 26. *Najafpour M.M., Renger G., Hołyńska M. et al.* Manganese Compounds as Water-Oxidizing Catalysts: From the Natural Water-Oxidizing Complex to Nanosized Manganese Oxide Structures // *Chemical Reviews*. 2016. V. 116 (5). P. 2886–2889.
 27. *Климов В.В., Аллахвердиев С.И., Деметер Ш., Красновский А.А.* Фотовосстановление феофитина в фотосистеме 2 хлоропластов в зависимости от окислительно-восстановительного потенциала среды // *Докл. АН СССР*. 1979. Т. 49. С. 227–230.
 28. *Климов В.В., Аллахвердиев С.И., Красновский А.А.* Сигнал ЭПР при фотовосстановлении феофитина в реакционных центрах фотосистемы 2 хлоропластов // *Докл. АН СССР*. 1979. Т. 249. С. 485–488.
 29. *Allakhverdiev S.I., Klimov V.V.* Photoreduction of NADP(+) in photosystem II of higher plants: requirement for manganese // *Zeitschrift für Naturforschung: C*. 1992. V. 47 (1–2). P. 57–62.
 30. *Mal'tsev S.V., Allakhverdiev S.I., Klimov V.V., Krasnovsky A.A.* Hydrogen evolution by subchloroplast preparations of photosystem II from pea and spinach // *FEBS Letters*. 1988. V. 240 (1–2). P. 1–5.
 31. *Klimov V.V., Allakhverdiev S.I., Shuvalov V.A., Krasnovsky A.A.* Effect of extraction and readdition of manganese on light reactions of photosystem II preparations // *FEBS Letters*. 1982. V. 148 (2). P. 307–312.
 32. *Аллахвердиев С.И., Клеваник А.В., Климов В.В. и др.* Определение числа атомов марганца, функционирующих в донорной части фотосистемы 2 // *Биофизика*. 1983. Т. 28. № 1. С. 5–8.
 33. *Feizi H., Bagheri R., Song Z. et al.* Cobalt/Cobalt Oxide Surface for Water Oxidation // *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. 2019. V. 7 (6). P. 6093–6105.
 34. *Kalantarifar S., Allakhverdiev S.I., Najafpour M.M.* Water oxidation by a nickel complex: new challenges and an alternative mechanism // *International Journal of Hydrogen Energy*. 2020. V. 45 (58). P. 33563–33573.
 35. *Khosravi M., Feizi H., Haghghi B. et al.* Photoelectrochemistry of manganese oxide/mixed phase titanium oxide heterojunction // *New Journal of Chemistry*. 2020. V. 44 (8). P. 3514–3523.

36. *Madadkhani S., Allakhverdiev S.I., Najafpour M.M.* An iridium-based nanocomposite prepared from an iridium complex with a hydrocarbon-based ligand // *New Journal of Chemistry*. 2020. V. 44 (36). P. 15636–15645.
37. *Mehrabani S., Bikas R., Zand Z. et al.* Water splitting by a pentanuclear iron complex // *International Journal of Hydrogen Energy*. 2020. V. 45 (35). P. 17434–17443.
38. *Najafpour M.M., Ghobadi M.Z., Sarvi B. et al.* Polypeptide and Mn-Ca oxide: Toward a biomimetic catalyst for water-splitting systems // *International Journal of Hydrogen Energy*. 2016. V. 41 (12). P. 5504–5512.
39. *Najafpour M.M., Madadkhani S., Akbarian S. et al.* A new strategy to make an artificial enzyme: Photosystem II around nanosized manganese oxide // *Catalysis Science & Technology*. 2017. V. 7. P. 4451–4461.
40. *Najafpour M.M., Madadkhani S., Akbarian S. et al.* Links Between peptide and Mn oxide: Nano-sized manganese oxide embedded in a peptide matrix // *New Journal of Chemistry*. 2018. V. 42 (12). P. 10067–10077.
41. *Najafpour M.M., Mehrabani S., Bagheri R. et al.* An aluminum/cobalt/iron/nickel alloy as a precatalyst for water oxidation // *International Journal of Hydrogen Energy*. 2018. V. 43 (4). P. 2083–2090.
42. *Safdari T., Akbari N., Valizadeh A. et al.* Iron-nickel oxide: a promising strategy for water-oxidation // *New Journal of Chemistry*. 2020. V. 44 (4). P. 1517–1523.
43. *Najafpour M.M., Zaharieva I., Zand Z. et al.* Water-oxidizing complex in Photosystem II: Its structure and relation to manganese-oxide based catalysts // *Coordination Chemistry Reviews*. 2020. V. 409. Article number 213183.
44. *Allakhverdiev S.I., Karacan M.S., Somer G. et al.* Binuclear manganese (III) complexes as electron donors in D1/D2/cytochrome b559 preparations isolated from spinach photosystem II membrane fragments // *Z. Naturforsch. C*. 1994. V. 49 (9–10). P. 587–592.
45. *Allakhverdiev S.I., Karacan M.S., Somer G. et al.* Reconstitution of the water-oxidizing complex in manganese-depleted photosystem II complexes by using synthetic binuclear manganese complexes // *Biochemistry*. 1994b. V. 33 (40). P. 12210–12214.
46. *Nagata T., Nagasawa T., Zharmukhamedov S. et al.* Reconstitution of the water-oxidizing complex in manganese-depleted photosystem II preparations using synthetic binuclear Mn(II) and Mn(IV) complexes: production of hydrogen peroxide // *Photosynthesis Research*. 2007. V. 93. P. 133–138.
47. *Nagata T., Zharmukhamedov S.K., Khorobrykh A.A. et al.* Reconstitution of the water-oxidizing complex in manganese-depleted photosystem II preparations using synthetic Mn-complexes: a fluorine-19 NMR study of the reconstitution process // *Photosynthesis Research*. 2008. V. 98. P. 277–284.
48. *Vitukhnovskaya L.A., Zharmukhamedov S.K., Najafpour M.M. et al.* Electrogenic reactions in Mn-depleted photosystem II core particles in the presence of synthetic binuclear Mn complexes // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2018. V. 503 (1). P. 222–227.
49. *Mousazade Y., Najafpour M.M., Bagheri R. et al.* A manganese(II) phthalocyanine under water-oxidation reaction: new findings // *Dalton Transactions*. 2019. V. 48 (32). P. 12147–12158.
50. *Chou L.Y., Liu R., He W. et al.* Direct oxygen and hydrogen production by water splitting using a robust bio-inspired manganese oxo-oligomer complex/tungsten oxide catalytic system // *International Journal of Hydrogen Energy*. 2012. V. 37. P. 8889–8896.
51. *Najafpour M.M., Salimi S., Madadkhani S. et al.* Nanostructured manganese oxide on silica aerogel: a new catalyst toward water oxidation // *Photosynthesis Research*. 2016. V. 130 (1–3). P. 225–235.
52. *Maitra U., Lingampalli S.R., Rao C.N.R.* Artificial photosynthesis and the splitting of water to generate hydrogen // *Current Science*. 2014. V. 106. P. 518–527.
53. *Bolatkhan K., Kossalbayev B.D., Zayadan B.K. et al.* Hydrogen production from phototrophic microorganisms: Reality and perspectives // *International Journal of Hydrogen Energy*. 2019. V. 44 (12). P. 5799–5811.
54. *Бозиева А.М., Заднепровская Е.В., Аллахвердиев С.И.* Получение биоводорода: последние достижения и современное состояние // *Глобальная энергия*. 2022. Т. 28 (4). С. 59–78.
55. *Sadvakasova A.K., Akmukhanova N.R., Bolatkhan K. et al.* Search for new strains of microalgae-producers of lipids from natural sources for biodiesel production // *International Journal of Hydrogen Energy*. 2019. V. 44 (12). P. 5844–5853.
56. *Das D., Veziroglu T.N.* Hydrogen production by biological processes: a survey of literature // *International Journal of Hydrogen Energy*. 2001. V. 26 (1). P. 13–28.
57. *Nagarajan D., Lee D.J., Kondo A., Chang J.S.* Recent insights into biohydrogen production by microalgae – from biophotolysis to dark fermentation // *Bioresource Technology*. 2017. V. 227. P. 373–387.
58. *Antal T.K., Matorin D.N., Kukarskikh G.P. et al.* Pathways of hydrogen photoproduction by immobilized *Chlamydomonas reinhardtii* cells deprived of sulfur // *International Journal of Hydrogen Energy*. 2014. V. 39. P. 18194–18203.
59. *Kossalbayev B.D., Tomo T., Zayadan B.K. et al.* Determination of the potential of cyanobacterial strains for hydrogen production // *International Journal of Hydrogen Energy*. 2020. V. 45. P. 2627–2639.
60. *Taikhao S., Junyapoon S., Incharoensakdi A., Phunpruch S.* Factors affecting biohydrogen production by unicellular halotolerant cyanobacterium *Aphanothece halophytica* // *Journal of Applied Phycology*. 2013. 25. P. 575–585.
61. *Li H., Zhang L., Shu L. et al.* Sustainable photosynthetic H₂-production mediated by artificial miRNA silencing of OEE2 gene in green alga *Chlamydomonas reinhardtii* // *International Journal of Hydrogen Energy*. 2015. V. 40 P. 5609–5616.
62. *Eroglu E., Melis A.* Microalgal hydrogen production research // *International Journal of Hydrogen Energy*. 2016. V. 41. P. 12772–12798.
63. *Bandyopadhyay A., Stöckel J., Min H. et al.* High rates of photobiological H₂ production by a cyanobacterium under aerobic conditions // *Nature Communications*. 2010. V. 1. Article number 139.

64. *Kossalbayev B.D., Kakimova A.B., Bolatkhan K. et al.* Biohydrogen production by novel cyanobacterial strains isolated from rice paddies in Kazakhstan // International Journal of Hydrogen Energy. 2022. V. 47. P. 16440–16453.
65. *Bozjeva A.M., Khasimov M.Kh., Voloshin R.A. et al.* New cyanobacterial strains for biohydrogen production // International Journal of Hydrogen Energy. 2023. V. 48 (21). P. 7569–7581.

ALTERNATIVE ENERGY AND ARTIFICIAL PHOTOSYNTHESIS

S. I. Allakhverdiev^{1,#}

¹*K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

[#]*E-mail: suleyman.allakhverdiev@gmail.com*

Limited reserves of fossil fuels and the negative impact of their combustion products on the environment are two pressing problems of our time. The development of alternative energy sources, among which solar energy is the most accessible, is considered as a possible solution. Acquisition of skills of its effective and environmentally friendly use by creating artificial photosynthetic systems imitating the processes of natural photosynthesis, as well as the use of artificial photosynthesis for the production of biofuels can contribute to a way out of the current situation.

Keywords: alternative forms of energy, biohydrogen, biophotolysis, artificial photosynthesis, solar cells.