

ЛАБОРАТОРИИ БИОХИМИЧЕСКИХ ОСНОВ РЕПРОДУКЦИИ КЛЕТОК 45 ЛЕТ

© В. И. Воробьев

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург; электронный адрес: vorobьев@mail.cytspb.rssi.ru

Настоящий выпуск журнала «Цитология» специально посвящен 45-летию лаборатории биохимических основ репродукции клеток Института цитологии РАН.

Авторы статей этого выпуска — наши коллеги, в разное время работавшие в лаборатории и внесшие свой посильный вклад в развитие направлений, которые там разрабатывались. Мы благодарны авторам, откликнувшимся на наш призыв и приславшим свои статьи. Объем полученных рукописей превысил возможности одного выпуска, и некоторые статьи будут опубликованы в следующем номере журнала.

Лаборатория была организована в 1963 г. Прошло 10 лет с момента открытия Джеймсом Уотсоном и Фрэнсисом Криком двухспиральной структуры ДНК. В последующие 10 лет бурно развивалась новая область науки, лежащая на стыке биологии, физики и химии, — молекулярная биология. Большие успехи были достигнуты при изучении структуры белков благодаря созданию новых методов их исследования. В 1958 г. Штейном и Муром был построен аминокислотный анализатор. Сэнгер предложил методический подход к изучению аминокислотных последовательностей белков и определил первичную структуру первого белка — рибонуклеазы. К 1963 г. была установлена аминокислотная последовательность еще трех белков. Методы кристаллографии белков и рентгеноструктурного анализа белковых кристаллов, разработанные в Кембридже Перутцем и Кендрию, позволили им установить пространственную структуру первых белков — миоглобина и гемоглобина.

Однако многие важные открытия были еще впереди. Исследования биохимических механизмов белкового синтеза только начинались, а представления о роли адаптерной и информационной РНК находились в стадии формирования. Только в 1961 г. появились первые экспериментальные исследования генетического кода.

Сложным и противоречивым на момент организации лаборатории было положение биологии в Советском Союзе. С одной стороны, намечался явный прогресс в преодолении того критического положения, в котором оказалась советская биология после августовской сессии ВАСХНИЛ 1948 г. Было принято решение об организации в составе Академии наук Института цитологии в Ленинграде и Института цитологии и генетики в новом научном центре в Новосибирске. Были основаны журналы «Биофизика» (1956) и «Цитология» (1957). В 1959 г. акад. В. А. Энгельгардт организовал Институт радиационной и физико-химической биологии, позднее преобра-

зованный в Институт молекулярной биологии. В 1963 г. в издательстве ЛГУ вышла книга М. Е. Лобашова «Генетика» — первое руководство по общей генетике за последние 25 лет, сыгравшее огромную роль в деле воспитания грамотных биологов.

С другой стороны, лысенковцы сохранили за собой сильные позиции и влияние в высоких партийных кругах. Свидетельством этому явились замена редколлегии «Ботанического журнала» в январе 1959 г. за критические статьи в отношении мичуринской биологии и отстранение В. А. Энгельгардта от должности академика-секретаря ОБН АН СССР. В январе 1960 г. Н. П. Дубинин был снят с должности директора вновь организованного Института цитологии и генетики в Новосибирске. В 1963 г. Ж. Медведев и В. С. Кирпичников подверглись травле за опубликование в журнале «Нева» статьи «Перспективы советской генетики».

Вот в таких условиях формировалась лаборатория биохимических основ репродукции клеток, которая была организована в 1963 г. согласно постановлению президиума АН СССР с целью развития в Институте молекулярно-биологических исследований процессов размножения и дифференцировки клеток. При этом указывалось, что организация лаборатории должна проходить в пределах штатов и ассигнований, утвержденных Институту цитологии на 1963 г. Выделение новых ставок под специалистов, отвечающих профилю новой лаборатории, не предусматривалось. Это означало, что формирование лаборатории, которая должна была быть по преимуществу лабораторией биохимического профиля, институт должен был проводить путем внутренних преобразований.

В новую лабораторию при моем участии и с их согласия переводятся сотрудники института из разных лабораторий: микробиолог мл. н. с. Н. А. Белозерская, биохимик ст. лаб. Г. П. Пинаев, гистолог ст. лаб. Е. И. Костылева, ст. инженер Г. М. Баренбойм, инженеры А. Н. Доманский и Л. С. Лысенко, лаборант А. Н. Голикова. Несколько позднее к ним присоединилась физик ст. лаб. Е. И. Рамм. Все были молоды. Средний возраст сотрудника лаборатории составлял 27 лет. Ни у кого не было достаточных знаний, ни тем более биохимического опыта. Но это никого не смущало. Все были полны энтузиазма и желания работать и твердо верили в успех. Было понятно, что всем нам придется учиться в процессе работы. Новая лаборатория была пуста — не было самого примитивного оборудования. Приборную базу лаборатории нужно было создавать заново.

Мне как руководителю вновь организованной лаборатории предстояло определить, по крайней мере на ближайшую перспективу, направление исследований лаборатории, исходя из собственного опыта и сообразуясь с реалиями ее кадрового состава и экспериментальными возможностями института.

В начале 1960-х годов молекулярная биология развивалась преимущественно как наука о биополимерах — белках и нуклеиновых кислотах, причем преобладало структурное, физико-химическое направление исследований. Такое направление было близко моим интересам и моему экспериментальному опыту.

Я прошел хорошую биохимическую школу в аспирантуре в лаборатории акад. В. А. Энгельгардта в Институте экспериментальной медицины АМН, а затем приобрел опыт работы с белками в лаборатории физики биополимеров у проф. С. Е. Бреслера в Институте высокомолекулярных соединений АН СССР. В этих лабораториях я занимался механохимией и реологией биополимеров.

В 1957 г. по приглашению А. В. Жирмунского я перешел в Институт цитологии в момент его основания, где мне удалось продолжить механохимические исследования в лаборатории физиологии клетки при благожелательном отношении ее руководителя проф. А. С. Трошина. Начиная с 1960 г. я включился также в работу лаборатории цитологии злокачественного роста проф. Ю. М. Оленова, который поручил мне неформальное руководство небольшой биохимической группой, в которую входили квалифицированные биохимики Д. Я. Подгаецкая и Н. Н. Аксенова, а также две аспирантки — И. А. Ходосова и Т. Н. Копылова-Свиридова. С ними мы начали заниматься искусственными нуклеопротеидными комплексами (Воробьев и др., 1962). В то время на нас сильное впечатление произвели исследования группы Нью, обнаружившие, что клетки млекопитающих могут претерпевать изменения под влиянием РНК (Niu et al., 1961). Использованный подход казался тогда перспективным в связи с обсуждением возможной роли эпигенетических изменений в злокачественном превращении. Мы провели широкие экспериментальные исследования биологической активности РНК и гистонов на клетках перевивных опухолей и получили неожиданные результаты, которые трудно было однозначно интерпретировать. Оказалось, что способность опухолей к автономному росту подавляется под влиянием РНК из гомологичных нормальных тканей (Aksanova et al., 1962, 1963, 1965). Нам удалось также показать в совместной работе с В. М. Бреслером, что нефракционированные препараты гистонов, выделенных из ядер нормальных тканей млекопитающих, способны тормозить рост перевивных опухолей. Эффект не зависел от органной или видовой специфичности гистонов и исчезал при их расщеплении протеазами (Vorob'ev, Bresler, 1963).

Работа в этой лаборатории, близкое и повседневное общение с Ю. М. Оленовым и его сотрудниками, особенно с А. Л. Юдиным, Т. Н. Игнатовой и В. Я. Фелем, расширили круг моих интересов, способствовали моему биологическому и в особенности генетическому образованию и воспитанию. Я был особенно благодарен Ю. М. Оленову за то, что он предоставил мне полную свободу для работы в его лаборатории с белками и нукleinовыми кислотами. Я не преминул воспользоваться этой свободой, чтобы инициировать в лаборатории структурные исследования нукleinовых кислот. С этой целью я реализовал давно назревшее творческое содружество с

группой Э. В. Фрисман в лаборатории физики полимеров Научно-исследовательского института физики (НИФИ) ЛГУ, в которую входили тогда Л. В. Щагина и Н. К. Яновская. В совместной работе с ними уже к моменту организации лаборатории биохимических основ репродукции клеток (далее лаборатория БОРК) мы уже провели достаточно подробные исследования молекулярной структуры ДНК, в которых были определены важнейшие параметры молекулы ДНК в растворе (Фрисман и др., 1962, 1963а). Впервые были изучены особенности структуры высокомолекулярной РНК (Фрисман и др., 1963б).

Исходя из этого опыта, естественным образом из всего многообразия подходов к изучению биохимических механизмов, лежащих в основе процессов дифференцировки и размножения клеток, мною было выбрано направление, связанное с изучением механизмов, которые реализуются в клеточном ядре на уровне хроматина. Таким образом, изучение структуры и функции хроматина стало основным направлением исследований лаборатории.

На ближайшую перспективу было решено сосредоточить внимание на структурных исследованиях основных компонентов хроматина — ДНК и гистонов — и их комплексов. При этом предполагалось, что модельные исследования искусственных ДНК-гистоновых комплексов будут далее дополнены изучением хромосомных дезоксирибонуклеопротеидов (ДНП).

Для такой работы нужно было использовать разнообразные биохимические, физические и физико-химические методы, что предполагало привлечение к работе специалистов разного профиля и проведение совместных исследований с другими научными коллективами. Соответственно должна была также формироваться приборная база лаборатории. Из лаборатории Ю. М. Оленова легко было перенести наложенные там методы выделения нукleinовых кислот и белков. Кроме меня носителем этих методов была Л. С. Лысенко, которая начала со мной работать еще до организации лаборатории. Препартивная биохимическая работа составляла непременную и важную часть лабораторной работы, поскольку от качества полученных препаратов белков и ДНК, их чистоты и нативности в значительной степени зависели результаты экспериментальных исследований. Настоящими асами в этой трудоемкой повседневной работе были Л. С. Лысенко, А. И. Голикова и Н. И. Сергеева.

Среди пришедших в лабораторию молодых сотрудников выделялся Г. П. Пинаев, получивший хорошую биохимическую подготовку во время прохождения аспирантуры в лаборатории проф. И. И. Иванова. Он был старше других и успел приобрести солидный жизненный опыт. Я мог бы рассчитывать на его помощь, в которой особенно нуждался на первых порах, в начальный период организации лаборатории. Однако ему нужно было заканчивать работу над кандидатской диссертацией, посвященной сравнительно-биохимическому изучению мышечных белков, и было нецелесообразно его от этой работы отрывать. После защиты диссертации в 1965 г. Г. П. Пинаев активно включился в жизнь лаборатории и принял участие в развернувшейся к этому времени экспериментальной работе, связанной с изучением комплексов ДНК с гистонами (Frisman et al., 1968; Фрисман и др., 1969). В этой работе активно участвовал А. Д. Тартаковский сразу после прихода в лабораторию после окончания физического факультета ЛГУ.

В период организации лаборатории в нее пришли из лаборатории физиологии клетки ст. инженер Г. М. Барен-

бом и инженер А. Н. Доманский. Их интересы были связаны с люминесцентными методами анализа, и они выражали надежду, что в новой лаборатории они смогут свои интересы реализовать. Я не скрывал, что подобное развитие событий не входило в мои планы. В процессе обсуждения ситуации с Г. М. Баренбоймом, опытным и достаточно эрудированным инженером-физиком, мне была представлена интересная и реалистичная, как мне казалось, программа работ. Г. М. Баренбойму удалось убедить меня в серьезности выбранного им направления, и я решил, что развитие в лаборатории люминесцентных методов, чувствительных к локальным конформационным изменениям в белках и нуклеиновых кислотах, может быть в перспективе полезным для изучения ядерных белков, нуклеопротеидных комплексов и хроматина наряду с другими физическими методами. В результате я обещал Г. М. создать для реализации его планов обстановку наибольшего благоприятствования и достаточно высокую степень самостоятельности. Тем самым я способствовал созданию в еще только формирующейся лаборатории ядра независимой группы.

В дальнейшем в лаборатории БОРК в процессе ее многолетней эволюции, как в свободно развивающемся организме, постоянно возникали, а иногда и распадались отдельные исследовательские группы. Некоторые из них вышли на новые направления исследований, отличные от основного направления лаборатории, и постепенно приобрели определенную автономию. На основе этих сформировавшихся и выросших в лаборатории групп в разное время в Институте цитологии образовались новые лаборатории.

Но вернемся назад. К группе Г. М. Баренбойма вскоре присоединился К. К. Туроверов, который формально не входил в штат лаборатории, а числился аспирантом Института биофизики АН СССР. Позднее появились аспиранты-биофизики, выпускники биологического и физического факультетов ЛГУ, — И. П. Новиков, Е. В. Гусев и А. Плученничак. Группа работала исключительно эффективно. В короткий срок на основе главным образом отечественных приборных блоков были созданы уникальные установки для определения основных параметров люминесценции. Исследования, проведенные на модельных белковых препаратах и клетках, показали высокое качество созданной аппаратуры. Как и предполагалось, разработанные методы были позднее использованы нами для изучения хромосомных нуклеопротеидов (Баренбойм и др., 1973). В 1965 г. Г. М. Баренбойм защитил диссертацию на соискание ученой степени кандидата физ.-мат. наук. Накопленный методический и исследовательский опыт был обобщен в подготовленной монографии Баренбойма, Доманского и Туроверова «Люминесценция биополимеров и клеток», которая вышла в свет в 1966 г. в издательстве «Наука». Появление книги было своевременным. Она привлекла внимание специалистов и уже в 1969 г. вышла на английском языке в издательстве Plenum Press (Barenboim et al., 1969). Группа продолжала развиваться. В 1970 г. в Агрофизическом институте защитил диссертацию К. К. Туроверов. Активно работали аспиранты. К моему глубокому сожалению, по не зависящим от нас печальным обстоятельствам в 1971 г. Г. М. Баренбойм лишился возможности работать в Институте. Мне не удалось его отстоять. Такое тогда было время. Вслед за ним ушел А. Н. Доманский, и группа фактически перестала существовать, поскольку К. К. Туроверов не находился в штате института, будучи прикомандированным сотруд-

ником Института биологии моря во Владивостоке. Тем не менее он продолжил экспериментальные исследования, в частности прикладного характера, и создал новую установку для определения параметров люминесценции. Под его руководством Е. В. Гусев завершил и успешно защитил кандидатскую диссертацию. Только в 1974 г. Туроверов был переведен в Институт цитологии. Выполняя обязанности ученого секретаря института, он в то же время развернул работу по анализу природы люминесценции белков, которая продвигалась с большими трудностями, так как не встречала должной поддержки и понимания в институте как не относящаяся будто бы к проблемам цитологии. В 1975 г. после окончания физического факультета ЛГУ по кафедре молекулярной биофизики в аспирантуру к К. К. Туроверову поступила И. М. Кузнецова. Они привлекли к работе стажеров и аспирантов и вместе развернули активные исследования внутримолекулярной подвижности в белковых молекулах, используя люминесценцию как инструмент. В 2001 г. К. К. Туроверов получил степень доктора физико-математических наук. В 2006 г. докторскую диссертацию защитила И. М. Кузнецова. Успешное развитие этого направления привело к естественному преобразованию в 2005 г. исследовательской группы К. К. Туроверова в лабораторию структурной динамики, стабильности и фолдинга белков.

Еще до образования лаборатории БОРК в 1962 г. из Института высокомолекулярных соединений ко мне в аспирантуру поступила Л. В. Кухарева для работы по механохимии. Поэтому в начальный период деятельности лаборатории мы продолжали заниматься исследованиями механохимических процессов. Эти работы проводились главным образом в развитие обнаруженного мною в 1960 г. эффекта прямого превращения механической энергии деформации биополимеров в химическую энергию. Последующие исследования показали, что механические силы, деформирующие белковые молекулы, могут оказывать непосредственное влияние на их ферментативную активность (Воробьев, Кухарева, 1965). Постепенно я сокращал свое участие в этих исследованиях. Моя научная активность в области механохимии и мышечного сокращения завершилась написанием обзора «Сократимость» для «Руководства по цитологии» (Воробьев, 1966) и обзора по энергетике и механохимии мышечного сокращения для «Руководства по физиологии» (Воробьев, 1969).

Л. В. Кухарева успешно проводила также изучение физико-химических свойств, механохимии и реологии коллагена. Исследование коллагена Л. В. Кухарева успешно продолжает до настоящего времени.

Лаборатория БОРК постепенно пополнялась новыми сотрудниками, главным образом за счет стажеров и аспирантов. Первым аспирантом была И. М. Константинова. В 1965 г. из ЛГУ пришли стажеры С. Б. Светличкова, Е. Н. Толстая, И. В. Волкова и Н. А. Меркулова.

Оснащение лаборатории необходимым оборудованием проходило с большими трудностями, но иногда наши усилия оказывались успешными. Таким успехом было приобретение очень дорогостоящей аналитической ультрацентрифуги Spinco фирмы Beckman, которая была необходима для структурных исследований белков и нуклеопротеидных комплексов. Для работы на ультрацентрифуге я пригласил из Института высокомолекулярных соединений АН СССР Т. Н. Осипову — высококвалифицированного специалиста по седиментационному анализу.

В 1964 г. в лабораторию перешел из Института высокомолекулярных соединений АН СССР А. В. Козлов. Перед ним была поставлена задача выделить бактериальную хромосому с целью изучения механизмов конденсации ДНК в бактериальной клетке. Для получения интактного хромосомного комплекса необходимо было вскрыть бактериальные клетки с максимально возможной осторожностью. А. В. Козлов сконструировал специально для этой цели гидравлический пресс. С его помощью удалось получить бактериальный лизат, содержащий бактериальную хромосому в виде комплекса полимерной ДНК с белками. В этой работе принимала участие С. Б. Светликова, а несколько позже также стажер Д. Волков. Дальнейшие исследования показали, что в выделенном комплексе белкиочно связаны с ДНК. Сравнительные исследования, проведенные на разных типах бактерий, обнаружили сходство в наборе белков,очно связанных с ДНК в бактериальной хромосоме у разных микроорганизмов. К сожалению, начатые иммунохимические исследования природы этих белков были прерваны в связи с переходом А. В. Козлова на работу в ЛГУ. Полученные в работе экспериментальные данные впоследствии были использованы С. Б. Светликовой в ее кандидатской диссертации.

В 1965 г. в лабораторию пришел С. Н. Борхсениус после завершения аспирантуры в Институте биохимии АН СССР, где он получил солидную биохимическую подготовку и опыт работы с бактериальными культурами и бактериофагом. Он сразу приступил к работе с хромосомными комплексами вместе с Л. В. Туроверовой и И. Д. Ильиной (Борхсениус и др., 1969). Исследования проводились совместно с группой Э. В. Фрисман в НИФИ ЛГУ. Параллельно нуклеопротеидные комплексы изучались Т. Н. Осиповой на аналитической ультрацентрифуге (Osipova et al., 1974).

В то же время Е. И. Рамм провела детальное исследование вторичной структуры гистонов и механизма их ассоциации в упорядоченные комплексы — димеры, тетramerы и октамеры. При этом было показано, что образование альфа-спиральных участков в молекуле гистонов является необходимым условием их ассоциации. Впервые было установлено присутствие в полипептидных цепях гистонов конформации левой спирали (Рамм и др., 1970, 1971; Ramm et al., 1972; Заленский и др., 1978).

Можно с удовлетворением отметить, что в работах Е. И. Рамм для оценки конформационного состояния гистонов и ДНК в составе нуклеопротеидного комплекса был впервые использован метод кругового дихроизма (Рамм и др., 1971; Ramm et al., 1972).

Позднее при участии Е. В. Чихиржиной было проведено сравнительное исследование конформационных особенностей линкерных гистонов H1 из хроматина спермиев ряда морских беспозвоночных. Различия в проведении этих гистонов определяют существование по крайней мере двух механизмов образования суперкомпактной структуры хроматина спермиев (Рамм и др., 1995; Чихиржина и др., 1998).

При изучении гидродинамических и оптических свойств диспергированного хроматина — дезоксирибонуклеопротеида (ДНП-частиц) и искусственных ДНК-гистоновых комплексов — было показано, что образование специфической структуры хроматина определяется взаимодействием гистонов с ДНК, вызывающим суперспирализацию и компактизацию ДНК (Frisman et al., 1974). Эти данные, а также проведенное В. И. Александровым в Институте белка АН СССР исследование малоуглового рентге-

новского рассеяния хроматина (Alexanyan et al., 1975) позволили предложить модель структуры ДНП и впервые обосновать представление о дискретной структуре хроматиновой фибриллы, которое получило убедительное подтверждение после открытия нуклеосомной организации хроматина.

В дальнейшем внимание С. Н. Борхсениуса и его группы в составе Н. А. Белозерской и Н. А. Меркуловой привлекла возможность работать с новым объектом — инфузорией *Tetrahymena pyriformis*, поскольку стерильная культура *Tetrahymena* поддерживалась И. С. Ирлиной в соседней лаборатории цитологии одноклеточных организмов. Совместно с этой лабораторией и при участии И. С. Ирлиной было проведено изучение структуры генома и механизма репликации ДНК в полиплоидных ядрах инфузории *T. pyriformis*. В ходе экспериментов был решен спорный вопрос о репликации ДНК в макронуклеусе — было установлено, что вся ДНК в макронуклеусе *Tetrahymena* реплицируется полуконсервативно один раз в каждом клеточном цикле. Полученные данные позволили сформулировать оригинальную теорию внутриклеточной дифференциации у инфузорий (Borchesenius et al., 1975). В то же время было показано, что в особых физиологических условиях возможна также неоднократная репликация части генома у инфузории *Tetrahymena* (Борхсениус и др., 1977).

В 1975 г. С. Н. Борхсениус переходит в организующийся отдел клеточных культур, но продолжает вести экспериментальную работу в лаборатории БОРК вплоть до защиты в 1981 г. докторской диссертации на тему «Структура и репликация генома одноклеточного организма *Tetrahymena pyriformis*». С. Н. Борхсениуса, как и раньше, продолжает привлекать работа на простых экспериментальных моделях. От инфузории он легко переходит к микоплазме как наиболее просто организованному прокариотическому организму, способному к самостоятельному воспроизведению. В отделе клеточных культур он организует группу по изучению микоплазм. Работа проходит успешно. В 1989 г. выходит в свет монография по микоплазме (Борхсениус, Чернова, 1989). В том же году группа С. Н. Борхсениуса по изучению микоплазм была преобразована в лабораторию структурной организации генома.

В период выбора для лаборатории БОРК основного направления наряду со структурными исследованиями хроматина и его компонентов проводились поиски экспериментальных подходов к изучению регуляции генетической функции ядер на уровне хроматина. Вскоре были найдены два таких перспективных направления исследования.

Одно из них было связано с анализом механизмов субстратной и гормональной индукции синтеза ферментов в нормальной печени и при ее регенерации. Работы в этом направлении были начаты моей аспиранткой И. М. Константиновой в 1964 г. Было обнаружено, что индукция синтеза ряда ферментов печени глюкокортикоидными гормонами сопровождается изменением состава популяции синтезирующихся РНК в клетках печени крыс. Часть вновь синтезирующихся РНК распадается в ядре, а другая часть переносится в цитоплазму к местам белкового синтеза. Таким образом, было убедительно показано, что регуляция синтеза ферментов глюкокортикоидными гормонами включает в себя контроль на генном уровне (Воробьев, Константинова, 1970; Konstantinova, Vorobyev, 1972).

Исследования, посвященные транскрипционной активности и особенностям структуры хроматина в клетках, активированных глюкокортикоидными гормонами, были продолжены при участии В. А. Куличковой (Konstantinova et al., 1974), а затем также И. В. Волковой, О. А. Петуховой и Л. В. Туроверовой (Константинова и др., 1978, 1980). В ходе этих исследований было установлено, что гормональная активация связана с появлением в клеточных ядрах ассоциированных с хроматином малых ядерных РНК, предположительно осуществляющих регуляторные функции (Konstantinova et al., 1984, 1990). В 1990 г. И. М. Константинова защитила докторскую диссертацию на тему «Особенности экспрессии генома при регуляции глюкокортикоидными гормонами».

В последующие годы исследования группы И. М. Константиновой постепенно стали отходить от основного направления исследований лаборатории БОРК и сосредоточились главным образом на анализе механизмов посттранскрипционных этапов экспрессии генов и участия в этих процессах протеасом, малых РНК и малых некодирующих РНК. Поэтому в 1994 г. группа И. М. Константиновой с общего согласия была преобразована в самостоятельную лабораторию регуляции экспрессии генов.

Наша работа во втором перспективном направлении была инициирована моей встречей с А. А. Нейфахом, известным московским биологом-эмбриологом из Института морфологии животных АН СССР (ИМЖ), с которым мы находились в дружеских отношениях. А. А. Нейфах обратил мое внимание на морских ежей как на очень удобный объект эмбриологического исследования и добавил, что с морскими ежами можно работать на базе Мурманского морского биологического института (ММБИ) Кольского филиала АН СССР в Дальних Зеленцах на побережье Баренцева моря. Туда весной и летом съезжаются биологи из разных институтов Москвы и Ленинграда для работы с морскими животными. Администрация ММБИ обеспечивает нормальные бытовые условия и предоставляет рабочие места, если заблаговременно выслать соответствующую заявку. Как раз весной 1963 г. А. А. Нейфах собирался в экспедицию в Дальние Зеленцы. Я решил присоединиться к нему, с тем чтобы научиться работать с развивающимися зародышами морского ежа. Я связался с директором ММБИ Ю. Галкиным и, заручившись его разрешением, вылетел в Мурманск в конце мая. По пути в Дальние Зеленцы из Мурманска на пароходе мы встретились с проф. И. Б. Збарским, руководителем биохимической лаборатории в ИМЖ, а в Дальних Зеленцах на пирсе нас уже ожидал А. А. Нейфах, который быстро познакомил нас с обстановкой и помог устроиться. Мы обсудили с А. А. Нейфахом планы экспедиционных исследований. Я рассказал о нашей работе, в которой мы обнаружили способность гистонов тормозить рост перевивных опухолей, и предложил в процессе моего обучения работе с морскими ежами провести совместные исследования влияния гистонов на раннее развитие зародышей морского ежа. Мы провели эту работу за один сезон и получили результаты, свидетельствующие о том, что гистоны ведут себя подобно «ядерным факторам» — агентам, специфически блокирующими морфогенетическую функцию ядер (Воробьев, Нейфах, 1964). С тех пор каждую весну в начале июня, чтобы захватить репродукционный период морских ежей, мы выезжали в экспедицию в Дальние Зеленцы для работы с морскими ежами, а также с другими морскими беспозвоночными — морски-

ми звездами, голотуриями, моллюсками. Я старался вывезти в Дальние Зеленцы возможно большее число сотрудников, аспирантов, стажеров, чтобы они могли почувствовать очарование северной природы, приобщиться к работе с живым материалом и ощутить волшебство жизни, наблюдая за дроблением яйцеклетки морского ежа.

Начиная с 1966 г. непременным участником наших экспедиций был Арунас Гинейтис — мой целевой аспирант из Института биохимии АН ЛитССР в Вильнюсе. В последующие годы с ним вместе работала уже целая группа молодых коллег из Вильнюса — моих будущих стажеров и аспирантов. Активное участие в нашей совместной работе с литовскими коллегами принимала стажер И. А. Виноградова, которая пришла в лабораторию БОРК студенткой и выполнила у нас дипломную работу.

Были продолжены исследования биологического влияния гистонов на ранние стадии развития, синтез РНК и белков в развивающихся зародышах морского ежа. Участниками этой работы были Е. И. Костылева и стажер Т. А. Смирнова (Воробьев и др., 1968; Vorob'ev, 1969; Gineitidis et al., 1969).

В ядрах развивающихся морских ежей и вынона мы впервые обнаружили присутствие ранних и поздних вариантов гистонов и показали, что в ходе раннего эмбриогенеза происходит закономерная смена ранних вариантов гистонов на поздние (Gineitidis et al., 1969). Активное участие в исследованиях на морских ежах принимали мои целевые аспиранты из Института биологии моря ДВНЦ В. Г. Вольфсон и Г. Н. Косюк. В работе В. Г. Вольфсона было показано, что одновременно со сменой вариантов гистонов при переходе от бластулы к гаструле в зародышах морского ежа наблюдаются изменения состава популяции вновь синтезирующихся РНК (Vorob'ev, Volfson, 1971). На этих же стадиях развития имеет место избирательный транспорт из ядра в цитоплазму молекул РНК, транскрибуемых с повторяющихся последовательностей ДНК (предположительно гистоновых РНК) (Vorob'ev, Volfson, 1973).

В работе Г. Н. Косюк при изучении кинетики реакции реассоциации ДНК морских ежей был найден новый подход к анализу структуры генома эукариот (Vorob'ev, Kosyuk, 1974). Позднее сходный подход был использован в нашей работе с Вольфсоном и Брыковым при исследовании структуры генома многих организмов, главным образом морских беспозвоночных животных. На основании этих данных нами была предложена новая гипотеза эволюционного происхождения существующих типов организации нуклеотидных последовательностей в геномах эукариот (Brykov et al., 1979).

Важным источником пополнения лаборатории были целевые аспиранты и прикомандированные сотрудники из Дальневосточного филиала СО АН СССР во Владивостоке. В период организации Института биологии моря во Владивостоке его директор-организатор А. В. Жирмунский получил практически неограниченные возможности для приглашения молодых выпускников в качестве стажеров и аспирантов для подготовки потенциальных сотрудников Института биологии моря. При этом он считал целесообразным, чтобы подготовка молодых специалистов проходила в различных лабораториях в Ленинграде, в частности в Институте цитологии, тем более что Институт биологии моря еще не имел помещения во Владивостоке. Мы договорились с А. В. Жирмунским о том, что на базе моей лаборатории будут подготовлены молодые специалисты для двух исследовательских групп. Предпо-

лагалось, что одна из этих групп будет заниматься исследованиями в области молекулярной биологии развития на морской фауне. В этом направлении стали работать целевые аспиранты В. Г. Вольфсон, Г. Н. Косюк, а позднее В. А. Брыков. Наши возможности для работы на морских объектах существенно расширились, поскольку можно было выезжать в экспедиции для работы и сбора материала не только весной в Дальние Зеленцы, но и на биологические станции на побережье Японского моря в течение всего летнего периода. Возможности работы на биостанциях были нами использованы в полной мере. Мы продолжили исследования хроматина морского ежа и других морских беспозвоночных, начатые ранее в Дальних Зеленцах, которые выявили характерные особенности нуклеосомной организации суперкомпактного хроматина спермиев морского ежа, морской звезды и двустворчатого моллюска (Zalenskaya et al., 1981, 1985; Osipova et al., 1982; Misselwitz et al., 1986).

Несколько позже в целевую аспирантуру поступили выпускники кафедры молекулярной биофизики физического факультета ЛГУ А. О. Заленский и В. И. Алексанян. Первое время они оба занимались гистонами, анализом зависимости между первичной и вторичной структурами гистонов и изучением самоассоциации молекул гистонов в растворах (Воробьев и др., 1972). Позднее В. И. Алексанян сосредоточился на исследовании структуры растворимого хроматина методом малоуглового рентгеновского рассеяния. Им были получены интересные результаты, которые послужили основой его кандидатской диссертации (Alexanyan et al., 1975).

А. О. Заленский обратился к исследованию особенностей структуры и белкового состава хроматина спермиев морских ежей и других морских беспозвоночных. После окончания аспирантуры А. О. Заленский становится сотрудником Института биологии моря ДВНЦ. Он выезжает во Владивосток и вскоре организует группу биологии развития морских организмов, которая базируется на биостанции «Витязь». В состав группы входят мои бывшие целевые аспиранты, успешно защитившие свои кандидатские диссертации, В. Г. Вольфсон, Г. Н. Косюк и В. А. Брыков. К ним вскоре присоединилась Н. А. Одинцова. Летом для работы на биостанции выезжает И. А. Заленская и другие сотрудники лаборатории. В зимнее время основная работа проводилась на базе нашей лаборатории в Ленинграде. В 1975 г. О. А. Заленский защищает кандидатскую диссертацию.

При изучении белкового состава хроматина спермиев некоторых видов иглокожих и моллюсков (изучено 27 видов) были обнаружены необычные субфракции гистонов, включая разнообразные варианты гистона H1 и H2B. Были также найдены и выделены новые, ранее не известные спермий-специфические белки различного типа. Исследование суперкомпактного хроматина спермиев показало, что характерные для них спермий-специфические белки, как и гистон H1, связаны с линкерной ДНК (Zalenskaya et al., 1981, 1985). Работа лаборатории в этой области в содружестве с Институтом биологии моря ДВНЦ затормозилась с началом перестройки в связи с прекращением финансирования и вовсе прекратилась в связи с отъездом Заленских в Америку в 1991 г.

Подготовку молодых специалистов для группы мышечной биохимии Института биологии моря ДВНЦ охотно взял на себя Г. П. Пинаев, что позволило ему вернуться к работе с мышечными белками. В лаборатории появилась большая группа стажеров: Соня Хайтлина, Коля

Шелудько, Боря Маргулис, Володя Матвеев, Олег Глебов и Ольга Подгорная. Стажеры быстро освоили методы белковой химии и приступили к работе с сократительными белками. Однако для исследования сократительных систем морских организмов необходимо было создать лабораторную базу на только что открывшейся биостанции Института биологии моря «Восток» на Японском море. Г. П. Пинаев проявил недюжинные организаторские способности, которые позволили ему в короткий срок построить помещение для лаборатории на станции «Восток» и оснастить лабораторию приспособлениями для работы с мышечными белками.

В то же время группа Г. П. Пинаева в лаборатории БОРК продолжала работу с искусственными нуклеопротеидными комплексами, в ходе которой были получены интересные результаты (Frisman et al., 1968; Фрисман и др., 1969). В начале 1970-х годов появилась возможность перейти от исследований ДНК-гистоновых комплексов и растворимых хромосомных нуклеопротеидов к исследованию выделенных из клеток политечных и метафазных хромосом. Особенно примечательны были работы с участием Н. А. Николаенко, в которых впервые были подробно исследованы липидные компоненты, ассоциированные с хромосомами. Для разделения метафазных хромосом Г. П. Пинаевым был впервые применен метод противоточного распределения в двухфазной полимерной системе. Эти исследования, которые проводились на растущих в культуре клетках, продвигались довольно успешно в значительной степени благодаря сотрудничеству с д-ром П. О. Альбертсоном (кафедра биохимии Университета г. Умео, Швеция).

Работа с клеточными культурами в лаборатории БОРК была сопряжена с большими трудностями, поскольку в Институте цитологии, как и вообще в стране, тогда не было необходимых условий для проведения широкомасштабных исследований с использованием клеточных культур. Мы в этом убедились после одной из поездок Г. П. Пинаева в Швецию, когда привезенные оттуда линии клеточных культур, удобные для синхронизации и выделения хромосом, погибли в институте. Необходимо было создать в лаборатории нормальные условия для работы с клеточными культурами. Однако Г. П. Пинаев решил пойти дальше и выступил с инициативой об организации при Институте цитологии Центра клеточных культур. Идея об организации Центра клеточных культур была поддержана администрацией института и встречена с пониманием у руководства Отделения биологических наук. В конечном счете в 1975 г. в качестве первого шага в этом направлении было принято решение об организации в Институте цитологии отдела клеточных культур. Группа Г. П. Пинаева в полном составе перешла из нашей лаборатории в отдел клеточных культур.

У меня не было ни малейших сомнений в том, что создание отдела клеточных культур — это трудная задача, которая по плечу Г. П. Пинаеву, проявившему незаурядные организаторские способности при строительстве лаборатории на биостанции «Восток». Действительно, под руководством Г. П. Пинаева отдел клеточных культур Института цитологии за сравнительно короткий срок превратился в важнейший центр страны по культурам клеток животных и по клеточной биотехнологии.

В 1974 г. по приглашению проф. Р. И. Салганика я приехал в Академгородок в Новосибирске для оппонирования кандидатской диссертации В. А. Поспелова. Выпускник кафедры генетики Ленинградского университета

В. А. Поспелов прошел хорошую школу в лаборатории проф. Р. И. Салганика в Институте цитологии и генетики СО АН СССР. Он занимался близкими нам вопросами и производил благоприятное впечатление. В 1975 г. по моему приглашению и по рекомендации проф. Р. И. Салганика В. А. Поспелов вернулся в Ленинград и начал работать в нашей лаборатории. После защиты кандидатской диссертации к нему присоединилась С. Б. Светличкова.

Исследования, проведенные В. А. Поспеловым и С. Б. Светличковой методом ферментативного зондирования с использованием различных нуклеаз, позволили получить новые данные, касающиеся субъединичной структуры хроматина. Было установлено, что нуклеосомы в хроматиновой нити находятся в тесном контакте, причем их плотная упаковка обеспечивается взаимодействием гистоновых комплексов соседних нуклеосом между собой и с межнуклеосомной ДНК (Pospelov et al., 1977a, 1977b). При изучении нуклеосом-нуклеосомных взаимодействий получены результаты, указывающие на участие межнуклеосомной (линкерной) ДНК в установлении тесного контакта между нуклеосомами, обеспечивающего образование хроматиновой нити диаметром около 100 нм (Pospelov et al., 1979a, 1979b). Данные физико-химических исследований показали, что дальнейшая компактизация нуклеосомной цепи в суперспиральную структуру происходит за счет кооперативного взаимодействия нескольких нуклеосом при участии гистона H1 (Osipova et al., 1980; Damaschun et al., 1980). Исследование хроматина эритроцитов птиц и ряда морских беспозвоночных показало, что основной повторяющейся единицей такого суперкомпактного хроматина является динуклеосома (Khachatrian et al., 1981).

В 1985 г. В. А. Поспелов защитил докторскую диссертацию на тему «Структурное состояние нуклеосомной фибриллы в функционировании хроматина». С этого времени научные интересы В. А. Поспелова все больше оказываются связанными с проблемой трансформации клеток млекопитающих, с механизмами автономной пролиферации и дифференцировки эмбриональных клеток. В 1989 г. группа В. А. Поспелова была преобразована в лабораторию молекулярных основ дифференцировки клеток.

В лаборатории БОРК продолжает развиваться научное направление, связанное с исследованием организации хроматина и регуляции экспрессии генов в клетках эукариот.

Седиментационные исследования хроматина, проведенные Т. Н. Осиповой и Е. В. Карповой в растворах различной ионной силы, позволили установить, что компактизация нуклеосомной цепи в хроматиновую фибриллу диаметром около 30 нм происходит за счет кооперативного взаимодействия нескольких (не менее шести) нуклеосом. На основе полученных данных предложена модель структуры хроматиновой фибриллы, согласно которой зигзагообразная нуклеосомная цепочка в процессе компактизации укладывается в двухстартовую суперспираль, диаметр которой зависит от длины линкерной ДНК (Karpova et al., 1990, 1999).

Многолетние исследования В. М. Седовой были посвящены анализу субъединичной структуры множественных форм эукариотических РНК-полимераз. Существенное развитие в последнее время получили исследования роли модификаций РНК-полимеразы III в регуляции транскрипции стабильных РНК (Меркулова, Седова, 2006).

Значительные успехи достигнуты в работе А. Н. Томилина при исследовании роли транскрипционного фактора Oct4, поддерживающего преемственность линии генеративных клеток. Получены приоритетные данные, демонстрирующие дифференциальную экспрессию гена Oct4 в процессе сперматогенеза и участие белка Oct4 в регуляции мейотических делений. Впервые обнаружены и охарактеризованы белковые коактиваторы транскрипционного фактора Oct4 (Томилин и др., 1996, 1997; Tomilin et al., 1998).

Важные результаты получены Е. В. Чихиржиной при изучении доменной организации другого регуляторного белка — негистонового хромосомного белка HMGB 1, функция которого до сих пор остается неизвестной. Показано, что связывание HMGB1 с ДНК приводит к нарушениям локальной структуры двойной спирали ДНК — значительному ее изгибу и частичному раскручиванию. Впервые были получены данные, демонстрирующие важную роль отрицательно заряженного С-концевого домена белка HMGB1 в регуляции ДНК-белковых взаимодействий в хроматине (Polyanichko et al., 2002, 2004).

С целью анализа функции белка HMGB1 проводится картирование этого белка в активных и неактивных участках хроматина путем иммунопреципитации обогащенных HMGB1 фрагментов хроматина с помощью высокоспецифичных антител к белку HMGB1 (Sapochnikova et al., 2005).

В лаборатории до сих пор активно трудятся ветераны — Е. И. Костылева, Л. В. Кухарева и Н. И. Сергеева. В то же время по-прежнему в лаборатории приходят студенты для выполнения бакалаврских и магистерских работ. Некоторые из них становятся аспирантами. За последние годы в лабораторию после прохождения аспирантуры и успешной защиты кандидатских диссертаций зачислены А. М. Поляничко и А. Н. Скворцов, которые принимают активное участие в экспериментальной работе и способствуют использованию новых методов исследования ДНК-белковых комплексов.

Разработаны уникальные подходы к исследованию ДНК-белковых комплексов с помощью взаимодополняющих методов кругового дихроизма и абсорбционной спектроскопии в УФ- и ИК-спектральных диапазонах и атомной силовой микроскопии (АСМ). Их использование позволило выделить в малой борозде, а также в сахарофосфатном остеове ДНК химические группы, которые вступают во взаимодействие с ДНК-узнавающими доменами белка HMGB1, и охарактеризовать надмолекулярную организацию образующихся комплексов (Polyanichko et al., 2006).

Отмечая 45-летие лаборатории биохимических основ репродукции клеток, мы рассмотрели некоторые этапы ее становления и подвели некоторые итоги деятельности лаборатории, организованной в 1963 г. с целью развития молекулярно-биологических исследований в Институте цитологии. Тогда ожидалось, что работа лаборатории будет стимулировать развитие новых молекулярно-биологических направлений в институте. Эти ожидания в полной мере оправдались. Из лаборатории в разное время выделились группы, которые послужили ядром для создания новых подразделений института. Через лабораторию БОРК прошло более 80 стажеров, аспирантов, молодых сотрудников, которые активно работают в разных лабораториях страны и за рубежом, часто занимая там ключевые позиции. Выходцы из лаборатории

рии, продолжающие работать в Институте цитологии (их сейчас более 30), в значительной степени сформировали лицо института. Среди них 8 человек возглавляют отдельные исследовательские группы института. Из лаборатории БОРК вышли 6 руководителей лабораторий института, определяющих основные направления исследований по молекулярной биологии клетки, клеточной биотехнологии и биологии клетки в культуре. Именно поэтому юбилей лаборатории БОРК явился знаменательным событием в жизни Института цитологии. Мы отметили его организацию конференцией, посвященной актуальным вопросам структурной и клеточной биологии. Конференция продолжалась три дня, причем представленные на ней доклады принадлежали коллегам, в разное время работавшим в лаборатории.

Мы благодарны всем участникам этой конференции, как и всем тем, кто прислал свои статьи для опубликования в настоящем юбилейном выпуске журнала «Цитология».

Список литературы

- Баренбойм Г. М., Доманский А. Н., Плученничак А., Борхсениус С. Н., Воробьев В. И. 1973. О молекулярном механизме защиты ДНК при ультрафиолетовом облучении дезоксирибонуклеопротеидов. Молекул. биол. 7 (4) : 522—532.
- Баренбойм Г. М., Доманский А. Н., Туроверов К. К. 1966. Люминесценция биополимеров и клеток. М.; Л.: Наука.
- Борхсениус С. Н., Белозерская Н. А., Меркулова Н. А., Воробьев В. И. 1977. Возможность неоднократной репликации части ядерной ДНК инфузории *Tetrahymena* в течение одного S-периода. Молекуляр. биол. 11 (1) : 171—189.
- Борхсениус С. Н., Туроверова Л. В., Винокурова Т. И., Ильина И. Д., Воробьев В. И. 1969. Растворимость и диссоциация хромосомных нуклеопротеидных комплексов. Молекуляр. биол. 3 (4) : 507—517.
- Воробьев В. И., Гинейтис А. А., Костылева Е. И., Смирнова Т. А. 1968. Действие гистонов на ранние стадии эмбрионального развития морского ежа. Цитология. 10 (4) : 487—493.
- Воробьев В. И., Константинова И. М. 1970. О природе РНК, синтезирующейся в клетках печени крыс при действии кортизона. Цитология. 12 (12) : 1530—1540.
- Воробьев В. И., Копылова-Свиридова Т. Н., Ходосова И. А., Френкель С. Я. 1962. К вопросу об условиях образования искусственных нуклеопротеидов. ДАН СССР. 145 (6) : 1400—1403.
- Воробьев В. И., Нейфах А. А. 1964. Действие гистонов на развитие зародышей морского ежа. Цитология. 6 (4) : 496—498.
- Заленский А. О., Рамм Е. И., Осипова Т. Н. 1978. Исследование самоассоциации гистонов H4 и H2A гидродинамическими и оптическими методами. Биоорганич. химия. 4 : 817—824.
- Константинова И. М., Воробьев В. И., Туроверова Л. В. 1978. Исследование транскрипции и состава хроматина, изолированного из клеток печени крыс после введения кортизона. Молекуляр. биол. 12 (4) : 879—885.
- Константинова И. М., Куличкова В. А., Петухова О. А., Воробьев В. И. 1980. Двусpirальные структуры в поли(A)-содержащих РНК клеток печени крыс. Влияние кортизона. Молекуляр. биол. 14 : 1354—1360.
- Меркулова Н. А., Седова В. М. 2006. Динамичность фосфорилирования субъединиц холофермента РНК-полимеразы III клеток эпидермоидной карциномы человека A431, культивированных в различных условиях. Цитология. 48 (9) : 711—716.
- Рамм Е. И., Болотина И. А., Бирштейн Т. М., Волькенштейн М. В., Воробьев В. И. 1970. Исследование структуры гистонов. Молекуляр. биол. 4 (1) : 118—123.
- Рамм Е. И., Болотина И. А., Бирштейн Т. М., Волькенштейн М. И., Воробьев В. И. 1971. Исследование структуры гистонов и ДНК в свободном состоянии и в дезоксирибонуклеопротеидах методом кругового дихроизма. Молекуляр. биол. 5 (1) : 595—605.
- Рамм Е. И., Чихиржина Е. В., Костылева Е. И., Воробьев В. И. 1995. Конформационные особенности линкерных белков суперкомпактных хроматинов спермиев морских беспозвоночных. Биохимия. 60 : 150—158.
- Сапожникова Н. А., Рамм Е. И., Иванов Г. С., Воробьев В. И. 1988. Сравнительное исследование олигонуклеосом из нормальных и раковых клеток. 1. Структурные параметры. Молекуляр. биол. 22 : 1345—1352.
- Сапожникова Н. А., Рамм Е. И., Иванов Г. С., Воробьев В. И. 1988. Сравнительное исследование олигонуклеосом из нормальных и раковых клеток. 2. Реконструкция, компактизация и ассоциация с изменением ионной силы. Молекуляр. биол. 22 : 1353—1358.
- Томилин А. Н., Костылева Е. И., Сералини Ж. Э., Дроздовский М. А., Воробьев В. И. 1996. Иммунохимическое исследование экспрессии транскрипционного фактора Oct3/4 в сперматогенезе мыши. Цитология. 38 (12) : 1274—1279.
- Томилин А. Н., Костылева Е. И., Чихиржина Е. В., Сералини Ж.-Э., Дроздовский М. А., Воробьев В. И. 1997. Белки из эмбриональных и половых клеток мыши, взаимодействующие *in vitro* с Oct 3/4. Докл. РАН. 343 : 267—269.
- Фрисман Э. В., Воробьев В. И., Щагина Л. В., Яновская Н. К. 1962. Динамическое двойное лучепреломление в растворах дезоксирибонуклеиновой кислоты. I. Оптическая анизотропия молекулы ДНК в нативном и агрегированном денатурированном состояниях. Высокомолекуляр. соедин. 4 (5) : 762—768.
- Фрисман Э. В., Воробьев В. И., Яновская Н. К., Щагина Л. В. 1963а. Изучение молекулярной структуры рибонуклеиновой кислоты методом динамического двойного лучепреломления. Биохимия. 28 (1) : 137—144.
- Фрисман Э. В., Сибилева М. А., Пинаев Г. П., Воробьев В. И., Водницка Б., Пиоторовский Ю., Нгуен Тхи Дэ, Голикова А. И., Сергеева Н. И. 1969. Изучение влияния концентрации гистонов на оптическое поведение его комплексов с ДНК. Молекуляр. биол. 3 (2) : 182—189.
- Фрисман Э. В., Щагина Л. В., Воробьев В. И., Яновская Н. К. 1963б. Динамическое двойное лучепреломление в растворах дезоксирибонуклеиновой кислоты. II. Влияние тепловой денатурации и ионной силы раствора на структуру макромолекулы ДНК. Высокомолекуляр. соедин. 5 (4) : 622—627.
- Чихиржина Е. В., Костылева Е. И., Рамм Е. И., Воробьев В. И. 1998. Исследование компактизации хроматина с использованием модельной системы ДНК-белковых комплексов. Цитология. 40 : 883—888.
- Щагина Л. В., Рихтер Д., Фрисман Э. В., Воробьев В. И. 1969. Влияние ионной силы раствора на термодинамическую жесткость молекул нативной ДНК. Молекуляр. биол. 3 (2) : 221—227.
- Aksenova N. N., Bresler V. M., Vorobyev V. I., Olenov Yu. M. 1962. Influence of ribonucleic acids from liver on implantation and growth of transplantable tumours. Nature. 196 : 443—444.
- Aksenova N. N., Bresler V. M., Vorob'ev V. I., Olenov Yu. M. 1963. Growth inhibition of transplantable tumours by RNA from normal homologous tissues. Folia Histochem. Cytochem. 1 : 179—180.
- Aksenova N. N., Vakhtin Ju. B., Vorob'ev V. I., Olenov Yu. M. 1965. Effect of ribonuclease on anti-tumour activity of ribonucleic acid from normal tissues. Nature. 207 : 40—42.
- Alexanyan V. I., Fedorov B. A., Vorob'ev V. I. 1975. Studies on deoxyribonucleoprotein structure. Small-angle X-ray scattering in solutions of various ionic strengths. Biopolymers. 14 : 1133—1142.
- Barenboim G. M., Domanskii A. N., Turoverov K. K. 1969. Luminescence of biopolymers and cells. New York; London: Plenum Press.
- Borchsenius S. N., Belozerskaya N. A., Merkulova N. A., Irilina I. S., Vorob'ev V. I. 1975. DNA replication in macronuclei of *Tetrahymena pyriformis*. Exp. Cell Res. 93 : 253—260.
- Brykov V. A., Volfson V. G., Vorob'ev V. I. 1979. Genome structure and divergence of nucleotide sequences in Echinodermata. Chromosoma. 74 : 105—124.

- Damaschun H., Damaschun G., Pospelov V. A., Vorobyev V. I. 1980. X-ray small-angle scattering study of mononucleosomes and of the close packing of nucleosomes in polynucleosomes. Mol. Biol. Reports. 6 : 185—191.
- Frisman E. V., Pinaev G. P., Sibileva M. A., Vorob'ev V. I. 1968. Optische und Hydrodynamische Eigenschaften der Moleküle Kiinstlicher Nucleoproteine, Bestehend aus DNS und Histon. Studia Biophysica. 8 : 213—218.
- Frisman E. V., Shchagina L. V., Richter D., Vorobyev V. I. 1968. Einwirkung der Ionenstarke auf die Dimensionen und die Thermodynamischen Starre Nativer DNS-Moleküle. Studia Biophysica. 8 : 219—226.
- Frisman E. V., Sibileva M. A., Dyakova E. E., Turoverova L. V., Vorob'ev V. I. 1974. Studies of deoxyribonucleoproteins progressively depleted of proteins in solutions of various ionic strengths. Biopolymers. 13 : 863—877.
- Gineitis A. A., Vinogradova I. A., Vorobyev V. I. 1969. Histones in early embryogenesis. Exp. Cell Res. 57 : 1—7.
- Karpova E. V., Osipova T. N., Vorob'ev V. I. 1990. Higher order chromatin structure of transcriptionally active and inactive cells. In: Nuclear structure and function. J. R. Harris, I. B. Zbarsky (Eds). New York: Plenum Press. 297—300.
- Karpova E. V., Tchirkova I. V., Vorob'ev V. I., Richard-Foy E. 1999. A method for efficient extraction of bovine papilloma virus-based minichromosomes that preserves native chromatin structure. DNA and Cell. Biol. 18 : 895—901.
- Khachatrian A. T., Pospelov V. A., Svetlikova S. B., Vorobyev V. I. 1981. Nucleodisome — new repeat unit of chromatin revealed in nuclei of pigeon erythrocytes by DNase I digestion. FEBS Lett. 128 : 90—92.
- Konstantinova I. M., Kulitchkova V. A., Petukhova O. A., Turoverova L. V., Volkova I. V., Vorob'ev V. I. 1990. Small nuclear RNP tightly bound to chromatin is possibly involved in hormonal regulation of gene expression. Mol. Biol. Reports. 14 : 117—118.
- Konstantinova I. M., Kulitchkova V. A., Vorob'ev V. I. 1974. Effect of cortisone on transcription of rat liver DNA of various degree of repetition. FEBS Lett. 47 : 43—46.
- Konstantinova I. M., Turoverova L. V., Petukhova O. A., Vorob'ev V. I. 1984. Cortisone-induced small RNP tightly bound to chromatin. FEBS Lett. 177 : 241—245.
- Konstantinova I. M., Vorob'ev V. I. 1972. In vitro DNA synthesis of the chromatin template from cortisone-treated rats. FEBS Lett. 21 : 169—172.
- Misselwitz R., Zirver D., Damaschun H., Damaschun G., Welfle H., Zalenskaya I. A., Ramm E. I., Vorob'ev V. I. 1986. Marine invertebrate sperm-specific histone-DNA interactions: circular dichroism and ultraviolet spectroscopy studies. Int. J. Biol. Macromolecules. 8 : 194—200.
- Niu M. C., Cordova C. C., Niu L. C. 1961. Ribonucleic acid induced changes in mammalian cells. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 47 : 1689—1693.
- Osipova T. N., Bottger M., von Mickwitz C. U., Scherneck S., Vorob'ev V. I. 1982. The role of histone H2B from sea urchin sperm in association of reconstituted minichromosomes. Mol. Biol. Reports. 8 : 71—75.
- Osipova T. N., Karpova E. V., Vorob'ev V. I. 1990. Chromatin higher-order structure: two-start double superhelix formed by zig-zag shaped nucleosome chain with folded linker DNA. J. Biomol. Struct. Dynamics. 8 : 11—22.
- Osipova T. N., Pospelov V. A., Svetlikova S. B., Vorob'ev V. I. 1980. The role of histone H1 in compactions of nucleosomes. Eur. J. Biochem. 113 : 183—188.
- Osipova T. N., Sibileva M. A., Frisman E. V., Vorob'ev V. I. 1974. Studies on deoxyribonucleoprotein structure. Sedimentation behavior. Biopolymers. 13 : 2077—2085.
- Polyanichko A. M., Andrushchenko V. V., Chikhirzhina E. V., Vorob'ev V. I., Wieser H. 2004. The effect of manganese (II) on DNA structure: electronic and vibrational circular dichroism studies. Nucl. Acids. Res. 32 : 989—996.
- Polyanichko A. M., Chikhirzhina E. V., Andrushchenko V. V., Vorob'ev V. I., Wieser Y. 2006. The effect of manganese(II) on the structure of DNA/HMGB1/H1 complexes: electronic and vibrational circular dichroism studies. Biopolymers. 83 : 182—191.
- Polyanichko A. M., Chikhirzhina E. V., Skvortsov A. N., Housier C., Vorob'ev V. I. 2002. HMG-ta(i)les. J. Biomol. Struct. Dynamics. 19 : 1053—1062.
- Pospelov V. A., Svetlikova S. B., Vorob'ev V. I. 1977a. Heterogeneity of chromatin subunits. FEBS Lett. 74 : 229—233.
- Pospelov V. A., Svetlikova S. B., Vorob'ev V. I. 1977b. Structure of chromatin subunits: an endonuclease Serratia marcescens study. Nucl. Acids Res. 4 : 3267—3279.
- Pospelov V. A., Svetlikova S. B., Vorob'ev V. I. 1979a. Nucleosome packing in chromatin as revealed by nuclease digestion. Nucl. Acids Res. 6 : 399—418.
- Pospelov V. A., Svetlikova S. B., Vorob'ev V. I. 1979b. Nucleosome-nucleosome interaction in chromatin. FEBS Lett. 99 : 123—128.
- Ramm E. I., Birnshtein T. M., Bolotina I. A., Volkenshteyn M. V., Vorob'ev V. I. 1972. Circular dichroism of DNA and histones in the free state and in deoxyribonucleoprotein. Eur. J. Biochem. 25 : 245—253.
- Sapojnikova N., Maman J., Myers F., Thorne A., Vorobyev V., Crane-Robinson C. 2005. Biochemical observation of the rapid mobility of nuclear HMGB1. Biochem. biophys. acta. 1729 : 57—63.
- Tomilin A. N., Vorob'ev V. I., Drosdowsky M., Seralini G.-E. 1998. Oct3/4 associating proteins from embryonal carcinoma and spermatogenic cells of mouse. Mol. Biol. Reports. 25 : 103—109.
- Vorob'ev V. I. 1969. The effect of histones on RNA and protein synthesis in sea urchin embryos at early stages of development. Exp. Cell Res. 55 : 168—170.
- Vorob'ev V. I., Bresler V. M. 1963. Unfractionated preparations of histones from normal mammalian tissues as agents inhibiting growth of transplanting tumours. Nature. 198 : 545—547.
- Vorob'ev V. I., Kosjuk G. N. 1974. Distribution of repetitive and non-repetitive nucleotide sequences in the DNA of sea urchin. FEBS Lett. 47 : 39—42.
- Vorob'ev V. I., Vol'fson V. G. 1971. Changes in transcription during early embryogenesis of sea urchins. FEBS Lett. 19 : 87—89.
- Vorob'ev V. I., Vol'fson V. G. 1973. Cytoplasmic transfer of RNA complementary to repetitious DNA sequences during early sea urchin embryogenesis. FEBS Lett. 32 : 313—316.
- Zalenskaya I. A., Odintsova N. A., Vorob'ev V. I. 1985. Chromatin from sperm of bivalve molluscs. Specific features of nucleosomal organization. FEBS Lett. 188 : 243—247.
- Zalenskaya I. A., Pospelov V. A., Zalensky A. O., Vorob'ev V. I. 1981. Nucleosomal structure of sea urchin and starfish sperm chromatin. Histone H2B is possibly involved in determining the length of linker DNA. Nucl. Acids Res. 9 : 473—487.

Поступила 28 XI 2008

45TH ANNIVERSARY OF LABORATORY OF THE BIOCHEMICAL BASIS
OF CELL REPRODUCTION

V. I. Vorobyev

Institute of Cytology RAS, St. Petersburg