

Т.Н. Дружинина

МОЯ ЮНОСТЬ СОВПАЛА С ЮНОСТЬЮ ЛАБОРАТОРИИ

После окончания биофака МГУ в 1962 г. я получила два предложения: поступить в аспирантуру к академику С.Е. Северину в МГУ или пойти на ставку старшего лаборанта в ИХПС, новый институт Академии наук. Мой выбор пал на вновь созданный институт, и я никогда не пожалела об этом. Формально меня зачислили в штат лаборатории биологических испытаний, но моим научным руководителем назначили В.Н. Шибаева, в то время аспиранта Н.К. Кочеткова. Я была представлена ему в июле, сразу после получения диплома.



Владимир Николаевич сообщил, что уходит в отпуск, а мне дал задание синтезировать галактозилфосфат по методу МакДональда. Мой опыт по части химического синтеза ограничивался получением барбитуровой кислоты на студенческом практикуме по органической химии. Помню, как, рассматривая синтезированное соединение, я испытывала эстетическое удовольствие от изысканного бледно-розового цвета порошка.

Здесь было совсем другое. В опустевшем институте (август) я воспроизвела методику и попыталась выделить продукт хроматографией на бумаге. После опрыскивания хроматограммы реактивом на органический фосфат обнаружились огромные бесформенные пятна, и я поняла, что бездарна, попала не туда, и впала в отчаяние. К моему удивлению, вернувшийся из отпуска В.Н. оценил мои потуги благосклонно и стал объяснять общую задачу и мое конкретное участие в биохимических экспериментах.

Здесь уместно сказать несколько слов о концепции ИХПС и о роли лаборатории биологических испытаний. Последняя состояла из нескольких групп (биохимии, микробиологии, гематологии и других), имелся большой виварий, ферментеры и все, что нужно для исследований в биологических системах синтетических препаратов, полученных в лабораториях белка, липидов, углеводов и нуклеотидов, антибиотиков и других химических подразделениях. Позже я не раз убеждалась в том, что создание института с таким разнородным составом исследователей было хорошо продуманным. Высокая концентрация квалифицированных специалистов по всем классам природных соединений в одном институте позволяла получить консультацию по любому возникающему вопросу. Все это отразилось в высокой эффективности совместных исследований. Большая заслуга в этом принадлежала Н.К.

Группой биохимии руководила Мария Александровна Новикова-Смирнова. Это была незаурядная женщина, выпускница Бестужевских женских курсов, дочь депутата 1-ой Государственной Думы. Она оказала большое влияние на меня, и я до сих пор советуюсь с ней мысленно, так как ее уже нет в живых. В нашем коллективе мне наиболее близка была Наташа Габриэлян. Она пришла в институт на два года раньше меня, и на нее пришлась большая нагрузка по размещению и запуску прибывающего оборудования. Мой приход

совпал с началом реальной экспериментальной работы, и мы вместе осваивали методы энзимологии, а позже вместе писали статьи и тезисы для конференций.



Е.Д. Сverdлов

Как-то мы с Наташей сидели перед кабинетом Н.К. в ожидании его желанной подписи на одной из первых наших статей. Вошел молодой человек невысокого роста и плотного сложения. Меня поразил контраст в его внешности: большие сильные руки, как у рабочего, и глаза, как на древних барельефах Месопотамии. Открылась дверь, и Н.К. пригласил незнакомца к себе. Мы знали, что Н.К. подробно беседует со всеми вновь принимаемыми сотрудниками, но в этом случае удивленно переглянулись и одновременно подумали: «Шеф даже водопроводчиков сам принимает!». Впоследствии «водопроводчик», а это был Е.Д. Сverdлов, стал академиком, директором Института молекулярной генетики РАН, одной из ключевых фигур в российской физико-химической биологии.

Практически биохимики находились в полном распоряжении группы нуклеотидов Лаборатории Н.К., а проще говоря, были сотрудниками В.Н. Шибаева.

Володю переполняли идеи о взаимосвязи пространственной структуры нуклеотидсахаров с их биологическими функциями. Для экспериментального подтверждения этих идей планировался синтез аналогов нуклеотидсахаров с модифицированным азотистым основанием (урацилом, тимином или аденозином) или с модифицированным моносахаридным остатком. Для начала В.Н. сам синтезировал УДФ-глюкозу, недавно выделенную Нобелевским лауреатом Луисом Лелуаром. Он с гордостью принес продукт в комнату к биохимикам, и мы увидели тягучую массу коричневого цвета. Мысленно сравнив вид «товара» с «реаналовским» препаратом НАД, я загрустила. К счастью, Н.К. вскоре понял, что талант Шибаева в его голове, а не в умелых руках, и синтезы поручали прекрасному химику-экспериментатору Г.И. Елисеевой, позже – Клаве Кусовой и блестящему синтетику Ю.Ю. Кусову, а также многочисленным аспирантам.

Работа закипела, и мы засиживались в Институте до последнего поезда метро. Выделяли ферменты из различных живых клеток и одновременно пополняли наши знания в энзимологии на совместных семинарах. Иногда дискуссии проходили в яростно-непримиримом тоне. Как-то В.Н. написал в стенной газете, что фермент – «это должным образом организованная в пространстве кислота или щелочь». Я буквально захлебнулась от негодования: насколько же эти химики не способны понять всю тонкость и сложную тайну живых систем! Справедливости ради должна заметить, что спустя много лет В.Н. признал незрелость, упрощенность своей формулировки.

Позже мы часто спорили с Володей по поводу определения кинетических констант при количественной оценке субстратных и ингибиторных свойств синтезированных нуклеотидсахаров. В.Н. требовал, чтобы определяемые константы всегда были одинаковыми независимо от качества биологического материала, однако добиться этого было практически невозможно. Особенно эти различия наблюдались при работе с бактериальными ферментами. Накопив опыт, мы нашли объективные причины расхождения констант. Наши партнеры микробиологи предупреждали, что клетки *Salmonella* хуже растут ранней весной, а пик их активности приходится на лето-осень. Это коррелировало с колебаниями ферментативной активности гликозилтрансфераз и ферментов, необходимых для биосинтеза различных нуклеотидсахаров. В конце 1980-х годов появились публикации о вариациях вторичной и третичной структур изоферментов в растениях и микробах в разные сезоны года, что интерпретировалось как механизм адаптации организмов к меняющимся условиям окружающей среды. Таким образом,

наблюдавшиеся нами различия кинетических констант могли объясняться тем, что измерения проводились на разных формах ферментных белков.

Для получения активных ферментов нужны были разнообразные доброкачественные биологические источники. УДФ-глюкозо-дегидрогеназу и УДФ-глюкозо-4-эпимеразу выделяли из парной печени телят, которую закупали в «кремлевском цехе» мясокомбината. Привозили ~15 кг, из них 3 кг отдавали в отдел снабжения, 2-3 кг употребляли по прямому назначению, остальные 10 кг надо было экстрагировать холодным уксусом в тот же день. К авральной операции подключались сотрудники обеих лабораторий. Уксусный порошок раскладывали на «фильтровальке», сушили, и потом он служил источником многих ферментов не менее года. В нашей комнате тяга не работала, и уксус испарялся в замкнутом пространстве. Однажды в моторе гомогенизатора проскочила искра, а кругом уксус... Я помчалась за подмогой к нуклеотидчикам. Вова Демушкин выставил биохимиков из комнаты и навел порядок. С тех пор во всех сложных ситуациях мы звали Демушкина, «санитара скорой помощи».

Другой случай закончился не столь удачно. В нашей комнате стояла английская ультрацентрифуга MSE, доставшаяся нам от В.А. Энгельгардта. Она исправно работала, и мы фракционировали с ее помощью компоненты клеток, часто непрерывно по 10 и более часов. Правда, крышка вакуумной камеры иногда упрямо не хотела закрываться; тогда на нее сажали Наташу Габриэлян, и все улаживалось. Однажды, накануне старого Нового года мы вели очередное многочасовое фракционирование в градиенте сахарозы при 100000×g, и зачем-то нам понадобилось на три или четыре часа покинуть институт. Каким-то образом нас разыскали и сообщили, что центрифуга взорвалась. Вернувшись, мы увидели покореженную центрифугу и осколки нашего любимого ротора. Никто не пострадал, но в дирекции была настоящая паника: говорили, что грохот был ужасающий. Составили акт и отправили остатки ротора на фирму-производитель в Англию, ни на что не рассчитывая. К нашему удивлению и радости вскоре получили ответ-заключение экспертов фирмы: анализ показал исходный брак в титановом роторе в виде 1-мм каверны, что и послужило причиной аварии. Приехали мастера с новым ротором и БЕСПЛАТНО все восстановили, то есть фактически сделали новую центрифугу. Когда в 1999 г. мне довелось работать в Университете Ньюкасла на севере Англии, я увидела множество центрифуг MSE следующих поколений и рассказала о случае со старой моделью в Москве. Мой рассказ вызвал интерес и сочувствие, а у молодых сотрудников – ностальгические воспоминания об их собственной молодости.

Для аналитических целей часто использовали смесь гликозидаз из сладкого миндаля. Послали письмо в Ташкент с просьбой: «для научных целей...», и скоро получили посылку с ценным грузом. Для экстракции гликозидаз необходимо было получить «миндальное молоко» – кладезь ферментов-помощников. Растолочь 10-15 кг орехов до консистенции молока на холоду было нелегким физическим трудом, однако добровольцев всегда хватало, так как работа оплачивалась миндальными орешками. По звуку она напоминала африканские тамтамы, и когда мы особенно входили в раж, прибегали встревоженные секретарши из приемной директора, которая находилась под нами через этаж.

С биоматериалами помогали не только из разных областей Советского Союза. При работе с УДФ-глюкозо-4-эпимеразой необходимо было определять продукт эпимеризации – D-галактозу. Прочитали в статье классика биохимии Дудорова (M. Doudoroff) в «Journal of Biological Chemistry» про D-галактозо-оксидазу из *Dactylium dendroides* и написали ему в Беркли. Очень скоро пришло письмо с пожеланиями всяческих успехов и маленьким пакетиком, содержащим белый порошок лиофилизированных клеток продуцента (сейчас после паники с сибирской язвой и т.д. такое невозможно представить). Микробиологи из лаборатории биоиспытаний размножили клетки и обеспечили нас ферментом на все эксперименты с эпимеразой.

Мы набирались ума и экспериментального опыта вместе с нашими молодыми руководителями. Энтузиазм молодых «новобранцев» (старше 30 лет были только

заведующие лабораториями и некоторые руководители групп) создавал атмосферу подъема и ощущение ежедневного праздника. Можно было обратиться к любому сотруднику института независимо от ранга за советом и помощью реактивами. Успеху каждого радовались все вместе. Наша молодость совпала с юностью Лаборатории. Мы работали так увлеченно, что когда однажды Мария Александровна намекнула, что самое время использовать отпуск, мы в недоумении молчали, не понимая, как можно куда-то уехать, когда на подходе новый аналог НДФС.

В ИХПС через Лабораторию Н.К. прошло более 50 человек, всегда было много аспирантов, дипломников и прикомандированных из разных городов СССР и среди них много ярких неординарных личностей. Незадолго до раздела Лаборатории в группе В.Н. появилась аспирантка Светлана Спиридонова (будущая жена В.А. Смита). Ее темой был синтез аналогов АДФ-глюкозы. Светлана всегда была загружена семейными проблемами. Однажды, нанеся на колонку для разделения продуктов большую порцию реакционной смеси, она вышла из института «ненадолго». Вернувшись, Светлана обнаружила под колонкой огромную лужу. Окружающие сочувствовали по поводу неудавшегося разделения и загубленного синтеза, а она спокойно собрала лужу тряпочкой и нанесла коричневый раствор (цвета линолеума на полу в лаборатории) на ту же колонку. На удивление всем был выделен практически белый нуклеотидсахар, затем с успехом использованный в ферментативных реакциях. Это оказался один из лучших синтезов производных АДФ-глюкозы.

Следует отметить, что В.Н. в рамках школы Н.К. создал свое направление химии и биохимии нуклеотидсахаров, принесшее ему известность. Под его руководством было проведено систематическое исследование свойств НДФС и их роли как активированной формы сахаров, необходимой для ферментативного синтеза разнообразных моносахаридов и их последующего участия в реакциях гликозилирования при биосинтезе гликоконъюгатов. Начало этому положила гипотеза о роли гетероциклического ядра НДФС в превращениях моносахаридного остатка, высказанная им еще в аспирантуре. И хотя в первоначальном виде эта идея отошла в прошлое, она стимулировала многие синтетические и энзимологические исследования, стала темой целого ряда диссертационных работ, обзоров в престижных российских и международных журналах и глав в книгах на русском и английском языках. Они до сих пор служат верой и правдой всем, кто интересуется исследованиями в этой области.

В Лаборатории Н.К. были дежурные, в задачу которых входило следить за длительными процессами, вовремя закрывать колонки и т.д. Их важнейшей обязанностью была организация вечернего крепкого чая с печеньем, пряниками, калачами и бубликами. Это были незабываемые вечера. Дневное напряжение спадало, и начинались споры на разнообразные темы, иногда рождались неожиданные идеи. Некоторые углеводчики и нуклеотидчики посещали нас. Леон Бакиновский очаровывал своим юмором наших юных дипломниц-биологинь.



Л.В. Бакиновский

Частым гостем был Миша Турчинский. После публикаций устраивали лабораторные праздники с капустниками, с яркой самодеятельностью. Блистал Турчинский, включавший в свой репертуар песни Булата Окуджавы, Новеллы Матвеевой и других бардов. Вот строчки лабораторного фольклора на тему научных страданий:

Взвыли центрифуги
В центрифужном зале,
Раскрутили их на тыщи «же».
Лева режет крысу,
Миша тащит печень,
Льется кровь рекой на этаже.

Капли из колонки
Катятся, как слезы,
И туманят новый синий «Увикорд».
Тени двух гигантов
В рваненьких халатах
Мировой поставили рекорд.

Лева и Миша – это будущие академики Л.С. Сандахчиев и М.А. Грачев.

На праздничных капустниках звучал рефрен: «Кто важнее Кочеткова? – Только Галя Лысенкова!». Он относился к колоритной личности Г.С. Лысенковой (Монастырской), работавшей в группе нуклеотидов. Молодой Шibaев и иногда даже сам Шеф явно побаивались ее.

В масштабе всего ИХПС тоже происходило много интересных событий, в значительной степени благодаря непосредственной близости помещений Института радиационной и физико-химической биологии, богатого неординарными личностями художественного склада. Собирались в нашей общей столовой-кафе, участвовала талантливая молодежь, были дискуссии на общие темы, стихи, музыка и т.д. Только сейчас осознаешь, в каком прекрасном коллективе довелось мне набираться ума и взрослеть, с какими интересными личностями я имела возможность общаться.

Следующий этап в жизни Лаборатории происходил после ее раздела и перехода большей части коллектива в ИОХ в 1966-1967 гг. Группа нуклеотидов осталась в ИХПС, став лабораторией химии нуклеиновых кислот, но к 1969 г. и Володя Шibaев, и я тоже уже перешли в ИОХ.

Начало работы на новом месте, где я вошла в состав Лаборатории, далось мне не легко. Группа биохимиков обитала в подвале, мы были оторваны от основной части Лаборатории И в общелабораторных мероприятиях принимали мало участия. Впрочем, в подвал при-

ходил пить кофе гость из США профессор Сэм Грегори Кирквуд, окрещенный Наргиз Байрамовой Самуилом Григорьевичем. В то время он совместно с А.Ф. Бочковым изучал механизм действия гликозидаз.

Кроме меня, в группу входил Ю.Ю. Кусов, позднее присоединилась Н.А. Калинин. С нами постоянно работали дипломники и аспиранты по биохимической тематике. Наиболее незаурядной личностью из работавших со мной биохимиков несомненно была аспирантка из Тбилиси Лали Гогилашвили. Она блестяще защитила в ИОХ кандидатскую диссертацию, первую по химико-ферментативному синтезу полисахаридов, и Н.К., поздравляя Лали, приподнял ее от пола и расцеловал.



Биохимическая группа. Слева направо:
Л.М. Гогилашвили, В.Н. Шibaев,
Т.Н. Дружинина; Д. Джорупбекова. 1981 г.

В ИОХ снова потекли прекрасные годы, было много крупных научных побед, но через какое-то время появились первые признаки старения Лаборатории и первые утраты. Обозначились разногласия между Шефом и некоторыми ключевыми сотрудниками. Внешне Лаборатория процветала: много молодежи, аспирантов, контакты с известными европейскими и американскими учеными, публикации, участие в международных научных конференциях, и в то же время Лабораторию покидают высококлассные специалисты. Вспоминаю праздник по поводу очередной защиты в Лаборатории. За столом на почетных местах сидят Н.К. Кочетков и А.Ф. Бочков, оживленно что-то обсуждают, у обоих лица светятся радостью, кажется, что этот союз надолго и впереди еще много сложных уникальных синтезов...



А.Ф. Бочков и Н.К. Кочетков

Но все повернулось не так. Вскоре Бочков был вынужден уйти, созданная им прекрасная группа распалась, и работы по гликозидному синтезу в Лаборатории больше никогда не достигали высокого уровня конца 1960-х-начала 1970-х годов. Были и другие необратимые потери.

Потом Лабораторией в течение 15 лет (до 2005 г.) руководил В.Н. Шибаев. Он старался сохранить в ней дух настоящей полноценной науки, но это было время трудных, провальных для страны и науки лет, Лабораторию один за другим покидали молодые квалифицированные кадры, и ее состав сократился вдвое. Однако, несмотря ни на что, хочется верить, что искры того чистого энтузиазма, интереса к науке, характерные для первых лет Лаборатории, не погасли совсем, что приходящая талантливая молодежь будет работать в новых условиях так же увлеченно и приумножать славу созданной Н.К. и его учениками школы по химии углеводов.