

В.В. Сова

НЕ ТО, ЧТО БЫЛО, А ТО, ЧТО ПОМНИТСЯ

(отрывок)

В 1965 г. после защиты Людмилой Алексеевной Еляковой кандидатской диссертации, а мной – дипломной работы Виктор Евгеньевич Васьковский, заведующий лабораторией химии флоры и фауны моря ИнБАН, предложил нам заняться морскими ферментами. Людмила Алексеевна должна была возглавить это направление, а в состав группы входили Валера Фаворов, Эмма Постникова, старший лаборант Светлана Сергеевна Хиль и я.

Знакомство с энзимологией начиналось трудно. Понятия *субстрат*, *активный центр*, *удельная активность* казались китайской грамотой. Пришлось много читать. Большую роль имело общение со специалистами. В. Е. Васьковский, занимаясь нашим образованием, приглашал московских коллег на МЭС. В выборе объекта исследования не последнюю роль сыграли советы его друзей: А. И. Усова, О. С. Чижова, А. Ф. Бочкова (ИОХ, Москва). Они считали, что субстрат непременно должен быть углеводом, но имеющим достаточно простую структуру. На эту роль годились ламинараны – резервные полисахариды бурых водорослей. Помощь и поддержку в исследовании углеводов уже можно было получить в нашем институте, где в лаборатории Ю. С. Оводова успешно развивались методы углеводной химии. Молодая сотрудница лаборатории Н. К. Кочеткова Марина Мартынова в одной из первых экспедиций на МЭС попыталась найти в морских беспозвоночных ферменты, гидролизующие ламинаран. Попытка оказалась удачной.

К широкому поиску ламинариаз в морских беспозвоночных я готовилась очень старательно. Выделила и очистила ламинаран. Спасибо А. И. Усову, который поделился запасами цетавлона. Этот реагент образует нерастворимую соль с кислыми полисахаридами, позволяя отделить их от нейтрального ламинарана. Сейчас в нашей лаборатории используют более простой метод разделения кислых и нейтральных полисахаридов, разработанный Л. А. Еляковой и Т. Н. Звягинцевой, – гидрофобную хроматографию на полихrome. Нужно было выбрать метод регистрации продуктов ферментативной реакции, продумать, как избавиться от большого количества сахаров в экстрактах, мешающих определению активности, как правильно рассчитать единицы активности ферментов.

Весь этот план я рассказала на коллоквиуме лаборатории и оказалась под пристальным вниманием Виктора Евгеньевича. Работали мы на МЭС с моей дипломницей, впоследствии сотрудницей лаборатории Тamarой Светашевой, а В. Е. каждое утро нырял и приносил нам все новые морские объекты. Именно тогда я освоила азы гидробиологии под руководством В. Е. и Эдика Костецкого. К этой работе подключились Эмма и Валера. Эмма анализировала содержание в экстрактах протеолитических ферментов, а Валера – альгиназ. Наша дружная работа вылилась в три статьи в журнале *Comparative Biochemistry and Physiology*. Статья по распространению ламинариаз вышла первой, а другие чуть позже со



ссылкой на нее. Я люблю эту статью как своего первого ребенка. Она уже давно кажется простой и наивной. На основе этой публикации я сделала практикум по энзимологии, который мы ежегодно проходим на МЭС со студентами. Эти ребята, которые учатся на отделении биоорганической химии и биотехнологии химфака ДВГУ, в отличие от нас, уже хорошо знают систематику морских беспозвоночных. При подготовке студентов мы старались учесть все наши ошибки. Интересно, что мы рассматривали первую сравнительную работу просто как обоснованный выбор источника фермента, а полученные данные оказались полезными для биологов и биохимиков, оценивающих связь уровня активности ферментов со способом питания и образом жизни морских беспозвоночных.

Начались работы по выделению ферментов. Мы все трое осваивали новые для нас методы хроматографии, электрофореза. В спорах рождалась истина. В лаборатории тоже происходили изменения. В 1971 году В. Е. ушел работать в Президиум ДВНЦ, его назначили Главным ученым секретарем. Лабораторию химии флоры и фауны моря возглавила Л. А. Елякова, а с 1972 г. мы стали называться лабораторией химии ферментов. До своего ухода на новую должность В. Е. успел «втянуть» меня в одно мероприятие, сыгравшее в моей жизни очень важную роль.

Навещая в командировке своих друзей в ИОХ, он познакомился с американским профессором Сэмом Кирквудом, который приехал работать в лабораторию Н. К. Кочеткова. На коллоквиуме Лаборатории Сэм рассказывал, какие высокоактивные β -1,3-глюканазы (ламинариназы) из микроорганизмов исследуют в его научной группе в Университете Миннесоты. А В. Е. выступил и сказал, что у него в лаборатории девочка нашла в беспозвоночных ламинариназы с более высокой удельной активностью. Сэм не поверил, на что В. Е. ответил, что пришлет к нему эту девочку с ее ферментом. И вот я со своим ферментом и со своим субстратом отправилась в Москву. Некоторых сотрудников Лаборатории я знала по экспедициям на МЭС и робко прибилась в комнату к Гале Смирновой.



А. Ф. Бочков

Опекал, а точнее командовал С. Кирквудом Леша Бочков. Мы с Сэмом проверили оба наших фермента на его и на моем субстрате. Ламинараны были выделены из разных видов водорослей и отличались по растворимости. Наш «советский» фермент действительно был активней «американского». Леша Бочков в это время занимался синтезом углеводов. Он синтезировал ламинаран и клялся, что по спектральным данным он полный аналог природному. Леше хотелось это подтвердить с помощью ферментов. Это действительно было бы замечательно, учитывая тот факт, что ферменты различались по типу действия: у Кирквуда был экзо-фермент, а у нас фермент эндо-типа действия. Оба фермента смогли расщепить синтетический ламинаран лишь на 20%. Я пыталась объяснить Леше, что в его образце есть какой-то дефект структуры, а фермент – более чувствительный инструмент, чем спектральная техника, но он был сильно разочарован в ферментах.

Следующей Лешиной идеей было ввести тритиевую метку в природный ламинаран и, анализируя кинетику накопления продуктов, установить механизм действия фермента на полимерный субстрат. Использовали экзо-ламинариазу Кирквуда. За давностью лет раскрою маленькую тайну. Видя, что я работаю аккуратно, Леша поручил мне эксперименты с меченым ламинараном, но попросил никому об этом не говорить. Чаще всего я работала вечерами, когда народу в лаборатории оставалось мало. Главное требование у Леши было, чтобы я в конце работы заливала пробирки с пробами концентрированной серной кислотой. А однажды случился казус – вся техническая серная кислота была израсходована. Я пометалась по лаборатории и украла заметную часть хорошей кислоты, которую использовали для фенол-сернокислотного метода. На следующее утро аспирантка А. И. Усова Людмила Мирошникова (потом ставшая редактором журнала *Биоорганическая химия*) говорила примерно следующее: «Понаехали тут, цену хорошей кислоте не знают, посуду ею моют» и т. д. Я молчала и чувствовала себя партизанкой в тылу врага. Потом я сходила на склад, на мое счастье поступила новая весьма приличная серная кислота, для которой я сделала отличные калибровки, и меня простили. С. Кирквуд давно не занимался экспериментальной работой и очень волновался. Поэтому, когда строгий Леша поручал нам провести четыре параллельных опыта, я брала себе три, а Сэму оставляла один.

И еще хочется вспомнить один забавный случай, не связанный с наукой. Не секрет, что Н. К. Кочетков был строг и его уважали и побаивались сотрудники. Как-то С. Кирквуд для женской части Лаборатории принес толстенный каталог американских товаров: от машин до женского белья. Вот это кружевное безумие мы и рассматривали в рабочее время. Вдруг тихо появился Н. К. Всех девушек за секунду как ветром сдуло, и осталась одна я – съездившаяся партизанка. Н. К. внимательно разглядел все фотографии, потом сказал мне: «Ну и что же, у нас такое тоже есть», – и спокойно пошел дальше. Тайфун прошел стороной, все спаслись. В лаборатории Н. К. побывало много стажеров. И мне было приятно, что при встрече в 1972 г. на углеводной конференции в Тбилиси Н. К. узнал меня и поздравил с успешной защитой диссертации.

Эта стажировка много дала мне. Спасибо тебе, любимый ИОХ! Работа с меченым ламинараном завершилась статьей, Сэм подарил мне глюканы из злаковых, которые мы впоследствии использовали для установления специфичности ламинариаз. Таня Дружинина и В. Н. Шibaев (который потом был оппонентом на моей защите) подарили гексокиназный набор для избирательного определения глюкозы. Он был незаменим для установления типа действия фермента. Но самым ценным подарком были ксерокопии двух диссертаций аспирантов С. Кирквуда. Я зачитала их до дыр. В них я нашла ответы на многие практические вопросы, хорошие литературные обзоры. Стало ясно, что делать дальше. И дальше мы шагали с Людмилой Алексеевной.

На стажировке в ИОХ я сделала одно доброе дело для родного университета. В группе В. Н. Шibaева был дипломник из МГУ – редкостный бездельник. Посмотрев на страдания его руководителей, я предложила поговорить на химфаке ДВГУ насчет практики наших студентов в ИОХ, получила согласие. ДВГУ подготовил официальные документы, и поехала на практику первая группа. В ней были Таня Звягинцева и Наташа Широкова, которые не уронили честь своего университета, а впоследствии эти талантливые девушки пришли в нашу лабораторию и успешно защитили кандидатские диссертации. После отъезда Л. А. в Москву Т. Н. Звягинцева возглавила лабораторию химии ферментов.