



История открытия собственных плазмид у чумного микроба

И.В. Дармов[✉], С.Н. Янов, И.В. Маракулин

Филиал федерального государственного бюджетного учреждения
«48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны
Российской Федерации (г. Киров)
610000, Российская Федерация, г. Киров, Октябрьский проспект, д. 119
✉ e-mail: 23527@mil.ru

Представленная в открытых источниках информация о роли отечественных специалистов в открытии внехромосомных факторов наследственности (плазмид) у чумного микроба (*Yersinia pestis*) скудна и разрозненна, а ведущий вклад отечественных военных ученых в решение этой задачи остается в тени.

Цель работы – обобщение имеющихся фактов и материалов об истории открытия внехромосомных факторов наследственности (плазмид) у чумного микроба.

Источниковая база и методы исследования. Анализировались открытые зарубежные и отечественные источники по рассматриваемой проблеме, в том числе архивные документы филиала 48 ЦНИИ МО РФ (г. Киров), ранее недоступные.

Результаты и обсуждение. В 1972 г. ученые США на основании экспериментальных данных сделали вывод об отсутствии у чумного микроба (*Yersinia pestis*) внехромосомной ДНК. В 1975–1977 гг. военные ученые НИИ микробиологии МО СССР (НИИМ, ныне – филиал 48 ЦНИИ МО РФ, г. Киров) с использованием равновесного ультрацентрифугирования, электронной микроскопии и электрофореза в агарозном геле обнаружили у возбудителя чумы три собственные плазмиды с молекулярными массами 6,4; 47 и 67 мегадальтон (МД) и показали, что первая из них кодирует синтез пестицина I, фибринолизина и плазмокоагулазы; вторая определяет признак кальцийзависимости и синтез антигенов V и W; третья детерминирует синтез антигена FI и мышинного токсина. В 1978 г. была подана заявка на научное открытие, авторами являлись Т.Г. Абдуллин, Е.В. Смирнов и И.В. Дармов (от НИИМ), а также академик И.В. Домарадский – руководитель лаборатории ВНИИсинтезбелок (г. Москва). Официальный диплом СССР на научное открытие за № 001 под шифром «Плазма» был выдан в 1983 г., приоритет открытия – 27 декабря 1977 г. Первые публикации в отечественной и зарубежной литературе, подтверждающие истинность открытия, появились лишь в 1980–1981 гг. На основе открытия были созданы новые вакцинные штаммы и штаммы-суперпродуценты протективных антигенов.

Заключение. На основании анализа данных литературы и архивных материалов показана ведущая роль отечественных военных ученых в открытии собственных плазмид у чумного микроба.

Ключевые слова: вакцинные штаммы; внехромосомная ДНК; научное открытие; плазмиды; чумной микроб; *Yersinia pestis*

Для цитирования: Дармов И.В., Янов С.Н., Маракулин И.В. История открытия собственных плазмид у чумного микроба. Вестник войск РХБ защиты. 2024;8(2):185–198. EDN:vylugc.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2024-8-2-195-198>

Прозрачность финансовой деятельности: авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов: И.В. Дармов является членом редколлегии журнала (с 2017 г.). Это не повлияло на процесс рецензирования и окончательное решение.

Финансирование: Филиал федерального государственного бюджетного учреждения «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации (г. Киров).

Поступила 01.06.2024 г. После доработки 23.06.2024 г. Принята к публикации 27.06.2024 г.

History of Plague Pathogen Plasmids Discovery

Ilya V. Darmov[✉], Sergey N. Yanov, Igor V. Marakulin

Branch Office of 48 Central Scientific Research Institute
of the Ministry of Defence of the Russian Federation (Kirov),
Oktyabrsky Avenue 119, Kirov 610000, Russian Federation
✉ e-mail: 23527@mil.ru

To date, there is practically no available information about the leading role of Soviet military scientists in the discovery of extra-chromosomal heredity factors (plasmids) of *Yersinia pestis* - the causative agent of the plague.

The purpose of this work is to summarize all of the available materials about the plague pathogen plasmids discovery.

The source base, method is the analysis of foreign and domestic unclassified materials on topic under consideration, including archival documents.

Results and discussion. In 1972, US scientists, based on their experimental data, concluded that the plague pathogen (*Yersinia pestis*) had no extra-chromosomal DNA. Later, in 1975-1977, military scientists of the Research Institute of Microbiology of the Ministry of Defense of the USSR (RIM, now it is called Branch Office of the Federal State Budgetary Establishment "48 Central Scientific Research Institute" of the Ministry of Defence of the Russian Federation (Kirov)) have proven the existence of *Yersinia pestis* plasmids using sedimentation equilibrium ultracentrifugation, electron microscopy and agarose gel electrophoresis. It was established that the microbe has three own plasmids with molecular weights of 6.4, 47 and 67 megadalton (MDa). Soviet military microbiologists have revealed that the first plasmid encodes the synthesis of pesticine I, fibrinolysin and plasmocoagulase; the second one determines the calcium dependence and the synthesis of antigens V and W; and the third one determines the synthesis of antigen FI and mouse toxin. In 1978, T.G. Abdullin, E.V. Smirnov, I.V. Darmov (from RIM), as well as Academician I.V. Domaradsky (VNIIsintezbelok laboratory, Moscow) applied for a patent for the scientific discovery. The official USSR diploma for scientific discovery No. 001 under the code "Plasma" was issued in 1983, with the priority date of December 27th, 1977. The first unclassified publications confirming this discovery appeared only a few years later, in 1980–1981. Based on this discovery, new vaccine strains and protective antigens producer strains were designed, which made it possible to develop effective means of specific plague prevention.

Conclusion. Available data and archival materials confirm the priority of Soviet military scientists in the plague pathogen plasmids discovery.

Keywords: plague pathogen; *Yersinia pestis*; plasmids; vaccine strains

For citation: Darmov I.V., Yanov S.N., Marakulin I.V. History of Plague Pathogen Plasmids Discovery. *Journal of NBC Protection Corps.* 2024;8(2):185–198. EDN:vylugc.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2024-8-2-185-198>

Financial disclosure: The authors have no financial interests in the submitted materials or methods.

Conflict of interest statement: I.V. Darmov is a member of the Editorial Board of the journal (since 2017). This had no impact on the peer review process and the final decision.

Funding: Branch Office of 48 Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation (Kirov).

Received June 1, 2024. Revised June 23, 2024. Accepted June 27, 2024

Федеральное государственное бюджетное учреждение «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации (48 ЦНИИ МО РФ), в частности, его филиал, расположенный в г. Кирове (далее – филиал 48 ЦНИИ МО РФ, г. Киров) известен своим вкладом в разработку и создание средств и способов

профилактики, лечения и диагностики особо опасных инфекций бактериальной природы [1, 2]. Гораздо менее известны работы его сотрудников, направленные на изучение фундаментальных основ микробиологии, генетики и иммунохимии патогенных бактерий, в том числе возбудителя чумы, определившие перспективы последующих прикладных

исследований и разработок новых защитных препаратов.

Цель работы – обобщение имеющихся фактов и материалов об истории открытия внехромосомных факторов наследственности (плазмид) у чумного микроба, включая ранее недоступные.

Для ее достижения анализировались открытые зарубежные и отечественные источники по рассматриваемой проблеме, в том числе ранее недоступные архивные документы филиала 48 ЦНИИ МО РФ (г. Киров).

Плазмиды бактерий и методы их изучения

Подавляющее большинство структурно-функциональных элементов клетки детерминируются хромосомными генами. Однако у ряда организмов, помимо хромосом(ы), в клетке имеются внехромосомные (экстрахромосомные) факторы наследственности, которые детерминируют отдельные свойства клеток. Чаще всего они встречаются у бактерий, и в этом случае их называют **плазмидами**, поскольку они находятся непосредственно в цитоплазме клетки [3]. Термин плазмиды предложил в 1952 г. выдающийся французский генетик Андре Львов (Andre Lwoff, 1902–1994) [4].

Бактериальные плазмиды представляют собой генетические элементы, которые в бактериальной клетке физически обособлены от хромосомы и способны к автономной репликации. По функциональной активности в клетке плазмиды делятся на несколько групп: F-плазмиды, или секс-факторы; R-плазмиды, или плазмиды лекарственной устойчивости; плазмиды бактериоциногенности; плазмиды патогенности (токсигенности) бактерий; плазмиды метаболизма и утилизации различных соединений и другие [3–5].

По способности передаваться из клетки в клетку плазмиды подразделяют на конъюгативные (способные к переносу) и неконъюгативные [3–5].

По химической природе бактериальные плазмиды в большинстве случаев представляют собой кольцевые двухцепочечные (двунитевые) ковалентно замкнутые молекулы ДНК. Такая природа определяет методы их выделения и изучения [3–5].

Для выделения плазмидной ДНК из общего пула ДНК клетки используют равновесное ультрацентрифугирование ДНК в градиенте плотности хлористого цезия. Этот же метод позволяет судить об относительном количестве копий плазмидной ДНК на одну бактериальную клетку.

Равновесное ультрацентрифугирование ДНК реализуется в двух вариантах: препаративном и аналитическом. В первом случае используется препаративная ультрацентрифуга и обычные центрифужные пробирки, во втором случае – аналитическая ультрацентрифуга и специальные ячейки со стенками из сапфирового стекла. Для окраски ДНК в растворах хлористого цезия применяют интеркалирующий флуоресцентный краситель этидиум бромид.

Молекулы плазмидной ДНК могут быть представлены в клетке в различных конфигурациях, каждая из которых характеризуется соответствующим коэффициентом седиментации в градиенте раствора хлористого цезия. Существует линейная двухцепочечная форма и кольцевые двухцепочечные формы. Последние включают ковалентно замкнутую по обоим нитям кольцевую форму (суперскрученную) и открытые кольцевые формы (релаксированные), которые образуются в результате размыкания одной из двух нитей ДНК.

Особый интерес для решения практических задач представляет то, что в щелочных растворах нити ковалентно замкнутых кольцевых молекул ДНК не разъединяются, а открытые кольцевые и линейные формы ДНК, в том числе фрагменты хромосомной ДНК, разъединяются (денатурируют), что определяет их различия по плотности и позволяет осуществлять очистку ковалентно замкнутых молекул плазмидной ДНК от хромосомной ДНК [5].

Для определения контурной длины и конформации молекул плазмидной ДНК применяют электронную микроскопию.

Необходимо отметить, что методы равновесного аналитического ультрацентрифугирования и электронной микроскопии ДНК весьма трудоемки и в настоящее время в повседневной практике плазмидного анализа не используются. Однако на заре исследований бактериальных плазмид, в 60–70-е гг. XX в., данные методы считались «золотым стандартом» и без их использования невозможно было доказать наличие у того или иного вида бактерий факторов внехромосомной наследственности.

В настоящее время наиболее распространенным, доступным и удобным методом изучения плазмидной ДНК, безусловно, является электрофорез в агарозном геле. Полученные после разделения молекул ДНК гели окрашивают этидиумом бромидом, подсвечивают ультрафиолетовым светом и фотографируют флуоресцирующие оранжевым цветом по-

лоски ДНК. Метод позволяет рассчитывать молекулярную массу плазмид с использованием стандартов молекулярной массы, выявлять молекулы ДНК в различных конформациях (ковалентно замкнутые кольцевые, открытые кольцевые, линейные формы, димеры, тримеры и др.).

Для генетического картирования плазмид используют метод рестрикционного анализа, когда ДНК обрабатывается различными рестриктазами, подвергается электрофорезу в агарозном геле, после чего составляется карта плазмиды с нанесенными на нее сайтами узнавания рестриктазами и позициями генов (по результатам клонирования рестриктов).

В XXI в. для изучения плазмид все более широко используют метод секвенирования, который позволяет определять первичную структуру ДНК с точностью до нуклеотида. К настоящему времени составлены полные карты плазмид большинства практически или клинически значимых бактерий, которые доступны специалистам в генетических базах данных (EMBL, GenBank и др.).

Чума. Возбудитель чумы

Чума – зоонозное природно-очаговое бактериальное инфекционное заболевание, характеризующееся интоксикацией, лихорадкой, поражением лимфатической системы, сепсисом и высокой летальностью. Относится к карантинным инфекциям [6].

Основную роль в сохранении инфекции в природе играют грызуны и зайцеобразные и их эктопаразиты (блохи). Природные очаги занимают 6–7 % территории суши Земли. В южных и юго-восточных регионах бывшего Советского Союза обнаружены 43 природных очага чумы [7].

Заражение человека происходит при укусе блохой (трансмиссивный путь передачи); при непосредственном соприкосновении с больными людьми, при снятии шкурок с больных грызунов и зайцев или разделке туш инфицированных верблюдов и сайгаков, при контакте с их трупами и выделениями (через слизистые оболочки, микротравмы кожных покровов – контактный путь передачи); через желудочно-кишечный тракт (редко). Наиболее опасной в эпидемиологическом отношении и исключительно тяжелой клинической формой болезни является первичная легочная чума (воздушно-капельный путь пе-

редачи). До начала эры антибиотиков летальность при этой форме достигала 80–100 %, но и сейчас она требует к себе пристального внимания медиков [6]. Восприимчивость людей к чуме очень высока.

Возбудитель чумы – грамотрицательная полиморфная неподвижная бактерия *Yersinia pestis* из семейства *Enterobacteriaceae* рода *Yersinia*. По морфологии *Y. pestis* – мелкая, прямая, с закругленными концами палочка длиной 1–3 мкм и шириной 0,3–0,7 мкм. Образует капсулу. Факультативный анаэроб. Размножается на простых питательных средах. Оптимум роста – 26–28 °С, оптимум pH 7,0–7,2 [6]. Отнесен к I группе патогенности¹.

Возбудитель чумы рассматривается отечественными и зарубежными специалистами как потенциальный агент биологического оружия наивысшей степени значимости, способный к эпидемическому распространению [8]. Это определяет важность проведения исследований по изучению генетики, иммунохимии, вирулентности возбудителя чумы, и, в том числе, его плазмид как научной основы для разработки эффективных средств защиты войск и населения Российской Федерации.

История открытия плазмид у чумного микроба

Научное открытие плазмид у чумного микроба в 1976–1977 гг. – один из наиболее значимых на тот период результатов работы военных ученых НИИ микробиологии МО СССР (НИИМ; сегодня – филиал 48 ЦНИИ МО РФ, г. Киров). Начало 70-х гг. XX в. – время, когда в нашей стране была осознана необходимость возрождения генетики и развития молекулярной биологии после 30 лет вынужденного отставания и застоя вследствие царствования в советской биологической науке «народного академика» Трофима Денисовича Лысенко (1898–1976). 21 мая 1974 г. в газете «Правда» было опубликовано постановление ЦК КПСС и Совета Министров СССР «О мерах по ускорению развития молекулярной биологии и молекулярной генетики и использованию их достижений в народном хозяйстве»². Начали строиться институты и создаваться академгородки генетического и молекулярно-биологического профиля, открываться новые специальности

¹ Приложение 1. ПБА по группам патогенности. В: СанПиН 3.3686-21. Санитарные правила и нормы «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

² Постановление ЦК КПСС и Совета Министров СССР «О мерах по ускорению развития молекулярной биологии и молекулярной генетики и использованию их достижений в народном хозяйстве». Правда № 141 от 21.05.1974 г.

в ВУЗах для подготовки соответствующих кадров. Организация в НИИМ отдела генетики бактерий, первого отдела подобной направленности в системе научно-исследовательских институтов 15 Управления МО СССР, являлась логическим продолжением указанного процесса возрождения генетики в нашей стране и распространения его на область военной медицины и микробиологии.

Решение о создании отдела генетики бактерий было принято начальником 15 Управления МО СССР академиком АМН СССР генерал-полковником медицинской службы Ефимом Ивановичем Смирновым (1904–1989), который был основателем системы биологической защиты в нашей стране и неустанно заботился о процветании этой системы и ее развитии на основе передовых направлений науки и методов исследований (рисунок 1).

Идеологом и вдохновителем создания первого генетического отдела был заместитель начальника 15 Управления МО СССР академик АМН СССР генерал-майор медицинской службы Игорь Петрович Ашмарин (1925–2007), который уже в то время был признанным в нашей стране специалистом в области молекулярной биологии, автором первой отечественной монографии по этой дисциплине [9]. Будучи заместителем и консультантом Е.И. Смирнова по ряду направлений биологической науки, он успешно сочетал службу в центральном аппарате Ми-

нистерства обороны СССР с научной и преподавательской деятельностью сначала в Ленинградском государственном университете, а затем – в Московском (рисунок 2). О жизни и деятельности И.П. Ашмарина – выдающегося ученого, педагога и организатора науки написана и издана прекрасная книга [10].

Немало сделали для становления отдела член-корреспондент АМН СССР доктор медицинских наук, профессор генерал-майор медицинской службы Виктор Николаевич Паутов (1926–2020), бывший в то время начальником НИИМ (рисунок 3), и его заместитель по научной работе, в то время полковник медицинской службы Николай Николаевич Ураков (1929–2017), доктор медицинских наук, профессор (рисунок 4).

Первым начальником отдела и его основателем был полковник медицинской службы Тимерьян Габдрахманович Абдуллин (1926–2022), впоследствии – начальник НИИМ, генерал-майор медицинской службы доктор медицинских наук, профессор (рисунок 5). Основателем отдела генетики бактерий был также заместитель начальника отдела кандидат биологических наук подполковник Евгений Викторович Смирнов (1934–2009) (рисунок 6).

Следует отметить, что отдел создавался не на пустом месте, он вобрал в себя часть кадров других подразделений и научных школ. Ярким представителем одного из важных направлений был полковник медицинской службы доктор медицинских наук, профессор



Рисунок 1 – Е.И. Смирнов
(фотография филиала ФГБУ
«48 ЦНИИ» Минобороны России,
г. Киров)



Рисунок 2 – И.П. Ашмарин
(фотография филиала ФГБУ
«48 ЦНИИ» Минобороны России,
г. Киров)



Рисунок 3 – В.Н. Паутов
(фотография филиала ФГБУ
«48 ЦНИИ» Минобороны России,
г. Киров)



Рисунок 4 – Н.Н. Ураков
(фотография филиала ФГБУ
«48 ЦНИИ» Минобороны России,
г. Киров)



Рисунок 5 – Т.Г. Абдуллин
(фотография филиала ФГБУ
«48 ЦНИИ» Минобороны России,
г. Киров)



Рисунок 6 – Е.В. Смирнов
(фотография филиала ФГБУ
«48 ЦНИИ» Минобороны России,
г. Киров)

Константин Иванович Волковой (1929–2003) (рисунок 7).

В процессе своей многолетней работы в институте К.И. Волковой детальнейшим образом изучил антигенную структуру чумного микроба, создал панель специфических сывороток, с помощью которых можно было идентифицировать до 30 антигенов у чумного микроба и других иерсиний. Под руководством К.И. Волкового были селекционированы штаммы *Y. pestis*, дефектные по синтезу ряда факторов патогенности, что сыграло впоследствии важную роль при обнаружении у чумного микроба плазмид и установлении их связи с факторами патогенности. О выдающейся трудоспособности и научной добросовестности К.И. Волкового свидетельствует тот факт, что в течение 15 лет после его убийства из Кирова сотрудники отдела пользовались наработанными им запасами диагностических сывороток и антигенных препаратов. К сожалению, К.И. Волковой не принимал непосредственного участия в организации отдела, так как в 1973 г. убыл на другое место работы.

Наиболее многочисленную прослойку (около 15 человек) в только что организованном отделе составляли молодые научные сотрудники – недавние выпускники военных и гражданских ВУЗов, в том числе Горьковского и Саратовского университетов, 2-го Московского медицинского института, Горьковского, Куйбышевского и Саратовского военно-медицинских факультетов,

ряда кировских ВУЗов. Среди специалистов преобладали медики и биологи, в том числе микробиологи, биофизики, биохимики, количество «чистых» химиков и инженеров было невелико.

Очень скоро в отделе было сформировано несколько функциональных групп; одна из них именовалась группой «химиков» (рисунок 8), ею руководил Е.В. Смирнов.

Руководством института и отдела были созданы все условия для плодотворных исследований, а затем был задан такой высокий темп работ, что успехи не заставили себя долго ждать.

В 1975 г. перед группой «химиков» поставленной четкой задачей была поставлена задача: с помощью физико-химических методов осуществить поиск в клетках возбудителя чумы внехромосомных факторов наследственности и установить их функции. Непосредственным исполнителем данной работы был назначен младший научный сотрудник лейтенант медицинской службы И.В. Дармов (рисунок 9).

Необходимо отметить, что к началу 70-х гг. XX в. отечественными учеными были получены косвенные данные, указывающие на наличие у возбудителя чумы по крайней мере одного внехромосомного фактора наследственности, а именно, – фактора пестициногенности (Pst). Так, Г.Ю. Пак в 1969 г. продемонстрировал элиминацию Pst-признака у чумного микроба под действием УФ-излучения, что указывало на высокую вероятность



Рисунок 7 – К.И. Волковой (фото-
графия филиала ФГБУ «48 ЦНИИ»
Минобороны России, г. Киров)



Рисунок 8 – Группа «химиков»
(рис. О.Н. Непогодиной)

его кодирования внехромосомным фактором наследственности [11]. В 1971 г. Е.Г. Кольцова с соавторами показали возможность мобилизации фактора пестициногенности на перенос в бесплазмидные штаммы *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis* и *E. coli* с помощью конъюгативной R-плазмиды. Интересно, что одновременно с признаком пестициногенности в клетки иерсиний передавались также фибринолитическая (Fb) и плазмокоагулязная (C) активности, при этом в клетках *E. coli* экспрессировался только фактор пестициногенности [12]. По мнению автора, такой характер передачи изученных свойств при скрещивании позволял предположить плазмидную локализацию детерминант Pst, Fb и C, а высокая частота совместной передачи могла указывать на близкое расположение их на плазмиде.

В то же время, в ряде отечественных публикаций, а также в известной статье американских ученых R.V. Little и R.R. Brubaker, опубликованной в 1972 г., утверждалось, что у чумного микроба нет внехромосомной ДНК [13].

Под руководством Т.Г. Абдуллина и Е.В. Смирнова поставленная задача была решена в кратчайшие сроки: уже в 1976 г. И.В. Дармов доложил на научной конференции войсковой части 23527 первые экспериментальные данные о наличии у чумного микроба внехромосомной ДНК (рисунок 10).

Вот так И.В. Дармов вспоминает одно из счастливейших событий своей жизни: «Осень 1976 г., лаборатория в 21 корпусе, я

открываю ротатор препаративной ультрацентрифуги «Beckman», достаю пробирку с ДНК чумного микроба в градиенте раствора хлористого цезия с флуоресцентным красителем, освещаю ее УФ-светом и вижу две полосы: верхняя – это хромосомная ДНК чумного микроба, а нижняя – долгожданная внехромосомная. Вздвигаясь, я разыскиваю Е.В. Смирнова, и вместе с ним мы долго стоим в синеватом полумраке лаборатории и зачарованно смотрим на эти светящиеся оранжевым цветом полосы, две фракции, в которых сосредоточилась вся наследственная информация возбудителя чумы. Сейчас геном возбудителя чумы, как и геномы других возбудителей особо опасных инфекций детально изучен и полностью секвенирован, а в то время все это было покрыто мраком неизвестности и вызывало огромный интерес».

Эти данные были подтверждены с помощью аналитической ультрацентрифуги «Spinco», модель Е (США). Это крайне сложная, капризная и дорогостоящая машина; очень трудно было запустить и поддерживать ее в работоспособном состоянии. Тем не менее, это было сделано своими силами, под руководством Е.В. Смирнова, руками молодых инженеров С.Н. Янова и Н.А. Черкасова. Груда металла оживила и позволила получить важный результат.

Затем с помощью гель-электрофореза и электронной микроскопии было установлено, что пул внехромосомной ДНК возбудителя чумы состоит из трех плазмид, различающихся по молекулярной массе. Плазмиды



Рисунок 9 – И.В. Дармов
(фотография филиала ФГБУ
«48 ЦНИИ» Минобороны России,
г. Киров)



Рисунок 10 – Результаты экспериментов по
обнаружению внехромосомной ДНК у чумного микроба
(1976 г.) (фотография филиала ФГБУ «48 ЦНИИ»
Минобороны России, г. Киров)

были обозначены pKM1, pKM2 и pKM3 (в порядке возрастания молекулярных масс); их молекулярные массы составляли 6,4 мегадальтон (МД); 47 МД и 67 МД соответственно (для штамма EV). Аналогичные плазмиды, обнаруженные в других штаммах чумного микроба, могли несколько отличаться по молекулярной массе от плазмид штамма EV.

Ведущий научный сотрудник центра доктор биологических наук, профессор Сергей Николаевич Янов (рисунок 11) начинал свою трудовую деятельность как инженер-конструктор в конструкторском бюро завода имени XX партсъезда (г. Киров), где его отыскал Е.В. Смирнов. Первая задача, которую перед ним поставили в отделе генетики бактерий, наряду с запуском аналитической центрифуги, была весьма сложная: необходимо было научиться с высокой точностью определять размеры (контурную длину) молекул плазмидных ДНК с помощью электронной микроскопии. Эта задача была успешно решена в 1977 г.: были получены качественные микрофотографии плазмидных ДНК (пример на рисунке 12) и определена контурная длина открытых кольцевых форм ДНК в сравнении со стандартом (плазмида ColE1). Использовали ацетатную методику, контрастирование ДНК уранилацетатом и напыление платиной.

Но самое трудное заключалось все же в том, чтобы установить, какие именно при-

знаки детерминирует каждая из плазмид. В результате изучения плазмидного состава представительного набора изогенных производных вирулентных и авирулентных штаммов чумного микроба, полученных ранее К.И. Волковым и А.Г. Обросовой, было установлено, что три собственные плазмиды чумного микроба кодируют синтез большинства известных к тому времени факторов его вирулентности, а именно: pKM1 – кодирует синтез пестицина I, фибринолизина и плазموкоагулазы; pKM2 – определяет признак кальцийзависимости и синтез антигенов V и W; pKM3 – детерминирует синтез антигена FI и мышинного токсина.

В 1978 г. руководством было принято решение оформить полученные результаты в виде заявки на научное открытие. В число авторского коллектива были включены Т.Г. Абдуллин, Е.В. Смирнов и И.В. Дармов (от НИИМ МО СССР), а также академик И.В. Домарадский (1925–2009) – руководитель лаборатории ВНИИсинтезбелок (г. Москва). В данной лаборатории примерно в это же время проводились работы по исследованию внехромосомной ДНК чумного микроба.

Вот как описывает И.В. Домарадский в своей монографии³ вклад двух авторских коллективов в проведенные исследования: «Поиски собственных плазмид у чумного микроба были заторможены утверждением R. Little и R. Brubaker (1972), что чумной

³ Домарадский ИВ. Чума. М.: Медицина; 1998.



Рисунок 11 – С.Н. Янов (фотография филиала ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, г. Киров)

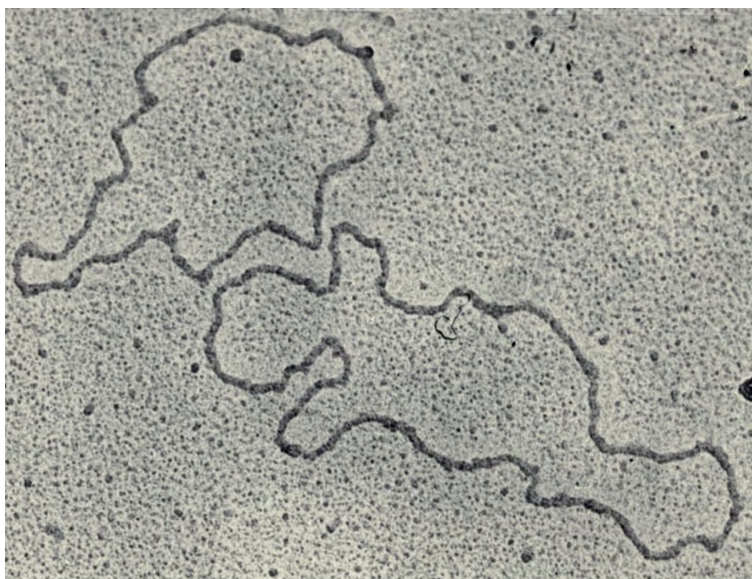


Рисунок 12 – Электронная микрофотография ДНК плазмид pPst (слева) и ColE1 (справа). $\times 10000$ (фотография филиала ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, г. Киров, 1977 г.)

микроб плазмид не имеет. Тем не менее, совместно с сотрудниками Кировского НИИМ все же продолжались соответствующие исследования. В нашей лаборатории (рук. И.В. Домарадский) работали с вакцинными штаммами EV, 1 и 17, применяя для анализа ДНК электронную микроскопию, а в НИИМ использовали также вирулентные штаммы, а ДНК подвергали электрофорезу в агарозном геле. В результате совместных усилий плазмиды были обнаружены» [6].

Справедливости ради надо отметить, что исследования не были совместными, оба коллектива работали независимо друг от друга. При этом сотрудники НИИМ успешно использовали не один только гель-электрофорез, как отмечает И.В. Домарадский, но и равновесное ультрацентрифугирование, и электронную микроскопию, и работали со множеством штаммов, что, в совокупности, и привело к успеху.

Интересно отметить, что при оформлении заявки соавторы присвоили найденным плаздам возбудителя чумы наименование «рКМ» (плазмиды Киров–Москва), чтобы подчеркнуть вклад в работу сотрудников обеих лабораторий. Однако это наименование не прижилось в силу закрытого характера первых публикаций и заявки на открытие. В настоящее время для обозначения плазмид чумного микроба чаще всего используются следующие наименования: pPst (плазида пестициногенности), pCad (плазида кальций-зависимости) и pFra/Tox (плазида синтеза антигена фракции I и мышиноного токсина).

Официальный диплом на научное открытие за № 001 под шифром «Плазма» [14] был выдан авторскому коллективу в 1983 г. (рисунок 13), но приоритет открытия датируется 27 декабря 1977 г., когда основные экспериментальные данные были уже получены, доложены на научной конференции и опубликованы в закрытом издании.

По вполне понятным причинам результаты исследований и материалы открытия не были опубликованы в открытых источниках, поэтому сведения о приоритете авторов открытия не стали достоянием широкой научной общественности. Это, однако, несколько не снижает научной и практической ценности открытия, которое послужило основой для многих исследований и разработок в филиале 48 ЦНИИ МО РФ.

Необходимо также отметить, что первые публикации в отечественной и зарубежной литературе, подтверждающие истинность открытия, появились лишь в 1980–1981 гг., т.е. примерно через 3 года после составления заявки; при этом ни одна из опубликованных работ не носила комплексный характер, в каждой из них речь шла лишь о какой-то одной из трех плазмид [15–18]. За минувшие 40 с лишним лет ни одно из положений открытия не было подвергнуто ревизии. Все они были подтверждены результатами отечественных и зарубежных исследователей в статьях, диссертациях и монографиях [см. обзоры 19, 20].

В связи с изложенным возникает вопрос, каковы причины успеха предпринятых исследований плазмид чумного микроба, какие



Рисунок 13 – Диплом на открытие (фотография филиала ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, г. Киров)

решения руководства по организации этих исследований оказались наиболее эффективными?

Можно выделить следующие причины.

1. Отличное материально-техническое обеспечение. С первых дней работы сотрудники были обеспечены всем необходимым оборудованием и реактивами. В отделе сложилась практика осознанного, научно обоснованного обновления лабораторно-методической базы с учетом последних достижений биологической науки и приборостроения. Важно, что работа по обновлению базы никогда не прекращалась. Немаловажно и то, что все сотрудники были обеспечены жильем, получали хорошую зарплату или денежное довольствие, дети обеспечивались местами в яслях и садиках; все это позволяло полностью сосредоточиться на работе.

2. Оптимальный кадровый состав. При организации отдела было очень верно найдено соотношение кадров и по специализации, и по возрасту. Подавляющее большинство составляли близкие по возрасту и по духу молодые выпускники гражданских и военных учебных заведений, среди которых естественным образом возникла здоровая конкуренция. Каждый стремился в чем-то

превзойти товарища, сказать свое слово в науке. Научные руководители не досаждали молодым специалистам мелочной опекой (как порой бывает в стареющих коллективах), они скорее выполняли функции научных консультантов, вовремя останавливая тех, кто слишком торопился в ущерб качеству, направляя усилия в единое русло. Самостоятельность была почти полная; много было ошибок на первых порах, зато созревание специалистов шло очень быстро.

3. Глубоко продуманная, мудрая постановка задач как всему коллективу в целом, так и отдельно взятым специалистам. Перед каждым ученым, инженером, лаборантом была поставлена задача конкретная, очень нужная и важная для обороноспособности или для исследовательских целей. Приветствовалась разумная инициатива. Взвешенность подхода заключалась в том, что задачи ставились, с одной стороны, трудные, на первый взгляд, неразрешимые, а с другой стороны, они все же были, в принципе, решаемые, хотя и на пределе возможностей каждого специалиста. Этот подход определил крайне высокий темп исследовательских работ в отделе, когда за один рабочий день в одной лаборатории использовали тысячи

чашек с питательной средой, тысячи пробирок, их вечно не хватало.

4. Наличие обратной связи между исполнителями и руководством всех уровней. Руководство отдела, руководство института и Управления постоянно интересовались ходом исследований, рассматривали протоколы опытов, корректировали направления работ. Незабываемы многочасовые совещания, которые проводил начальник 15 Управления МО СССР генерал-полковник медицинской службы Ефим Иванович Смирнов в конференц-зале. Он собирал всех научных сотрудников отдела, включая младших, задавал трудные вопросы, внимательно выслушивал каждого и давал конкретные указания по дальнейшей работе. Такое внимание со стороны командования поднимало дух, заставляло с высокой ответственностью подходить к делу, позволяло оперативно решать как научные, так и организационно-технические вопросы.

5. С первых дней основания руководителями отдела была сформирована атмосфера научного поиска, товарищества, взаимопомощи, понимания научной истины как абсолютной ценности. Проводились многочисленные научные конференции, дискуссии и т.д.

Проведенный анализ может быть полезен при создании новых научных коллективов и функциональных групп, предназначенных для решения конкретных научных задач.

Теоретическое значение открытия плазмид у чумного микроба

За годы, прошедшие с момента открытия плазмид у чумного микроба, выяснилось, что у ряда других патогенных бактерий – возбудителей опасных и особо опасных инфекций, в частности, сибирской язвы, псевдотуберкулеза, кишечного иерсиниоза, дифтерии, токсигенных штаммов кишечной палочки и др. – детерминанты вирулентности и токсигенности тоже локализованы на внехромосомных элементах (плазмидах, умеренных бактериофагах). На этом основании было сформулировано положение о том, что многие высокопатогенные бактерии произошли от непатогенных или слабо патогенных бактерий в результате приобретения ими готовых блоков наследственной информации (плазмид, фагов, мобильных генетических элементов) в результате горизонтального переноса от других организмов [21]. Подобные эволюционные преобразования происходят в мире микробов достаточно часто и имеют высокую скорость, в отличие от обычного пути

эволюции – медленного и постепенного накопления точковых мутаций.

С учетом изложенного была предложена, в частности, гипотеза о происхождении чумного и псевдотуберкулезного микроба от общего предка – бактерии, клетки которой содержали лишь одну плазмиду кальций-зависимости (pCad), а далее от этого предка возник чумной микроб в результате приобретения от кишечных бактерий еще двух плазмид, обеспечивших защиту от фагоцитоза (pFra/Tox) и способность микробов вызывать блок преджелудка у блох (pPst), а также возбудители псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза, эволюция которых пошла по пути модификации ряда хромосомных генов предкового вида, связанных с инвазивностью и адгезией [22, 23].

Детали эволюции возбудителей чумы, псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза еще предстоит выяснить, но не вызывает сомнения, что плазмидная природа основных факторов патогенности иерсиний будет играть в этом исследовании значительную роль.

Практические аспекты открытия плазмид у чумного микроба

На основе открытия в 1976–1977 гг. плазмид у чумного микроба и установления их связи с его факторами патогенности в последующие годы в НИИМ были получены новые данные по генетике вирулентности и иммуногенности чумного микроба, частично опубликованные в открытых источниках в 80–90-е гг. XX в., созданы новые вакцинные штаммы и штаммы-суперпродуценты протективных антигенов, получены авторские свидетельства на изобретения и патенты [1, 24, 25]. Ключевым моментом в этих исследованиях было то, что ряд важнейших генов возбудителя чумы, как было установлено, локализован на плазмидах, что значительно облегчало манипуляции с ними по сравнению с генами хромосомной локализации. В указанный период времени это было важно и обеспечивало быстрое достижение практических результатов.

Так, в НИИМ проводилась работа по созданию полидетерминантной живой вакцины, защищающей одновременно от всех патогенных иерсиний: возбудителей чумы, псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза. Для достижения поставленной цели была сконструирована рекомбинантная плазида, способная встраиваться в хромосому бактерий и «выключать» гены, связанные с патогенностью реципиента [24]. С использова-

нием данной плазмиды был получен мутант штамма дикого типа возбудителя псевдотуберкулеза, ауксотрофный по ароматическим аминокислотам и полностью авирулентный [24]. Данный аттенуированный штамм был использован в качестве реципиента, в его клетки была передана рекомбинантная плазида с клонированным геном протективного антигена чумного микроба Fga. Полученный прототипный вакцинный штамм в экспериментах на животных обладал протективными свойствами как в отношении возбудителя чумы, так и в отношении возбудителей псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза.

Еще одним важным для практики направлением было конструирование рекомбинантных штаммов-продуцентов протективных и видоспецифических антигенов чумного микроба. На первом этапе исследований были клонированы гены антигена Fga, мышинового токсина, антигенов V и W, пестицина I, фибринолизина/плазмокоагулазы. Далее на основе стабильных векторов были сконструированы гибридные плазмиды с клонированными генами чумного микроба.

Полученные гибридные плазмиды передавали в клетки бесплазмидных авирулентных штаммов чумного и псевдотуберкулезного микробов, а также в клетки кишечной палочки. В результате были получены авирулентные штаммы-продуценты, синтезирующие FI-антигена в 8 раз больше, мышинового токсина – в 30 раз больше, по сравнению с обычными штаммами чумного микроба [25]. Продуценты отличаются простотой культивирования, так как они имеют сниженные питательные потребности, конечный продукт получается более чистым, поскольку продуценты лишены многих контаминирующих антигенов. Полученные штаммы-продуценты использовались при разработке химической чумной вакцины и ряда диагностических препаратов.

Заключение

На основании анализа данных литературы и архивных материалов показана ведущая роль отечественных военных ученых в открытии собственных плазмид чумного микроба.

Список источников/References

1. Медведев НП, Погорельский ИП, Кибирев АВ, Черкасов НА, Золотарев АГ, Шабалин БА и др. *История и современность. 1928–2008. Федеральное государственное учреждение «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны России*. Киров: ОАО «Кировская областная типография»; 2008. 648 с.
Medvedev NP, Pogorelskiy IP, Kibirev AV, Cherkasov NA, Solotarev AG, Shabalin BA, et al. *History and modernity. 1928–2008. Federal State Institution “48 Central Research Institute” of the Ministry of Defence of Russia*. Kirov: ОАО Kirov Regional Printing House; 2008. 648 p. (in Russian).
2. Онищенко ГГ, Дармов ИВ, Васильев НТ, Кириллов ИА, Кикоть СГ, Борисевич СВ и др. *Сибирская язва: актуальные проблемы разработки и внедрения медицинских средств защиты*. Онищенко ГГ, Дармов ИВ, Борисевич СВ, ред. 2-е изд. Сергиев Посад; 2018. 592 с.
Onishchenko GG, Darmov IV, Vasilyev NT, Kirillov IA, Kikot SG, Borisevich SV, et al. *Anthrax: actual problems of elaboration and introduction in practice of medical defense means*. Onishchenko GG, Darmov IV, Borisevich SV, Eds. 2nd ed. Sergiev Posad; 2018. 592 p. (in Russian).
3. Пехов АП. *Генетика бактерий*. М.: Медицина; 1977. 408 с.
Pekhov AP. *Genetics of bacteria*. Moscow: Medicine; 1977. 408 p. (in Russian).
4. Кудлай ДГ. *Внехромосомные факторы наследственности бактерий и их значение в инфекционной патологии*. М.: Медицина; 1977. 224 с.
Kudlay DG. *Extrachromosomal factors of inheritance of bacteria and their significance in the infectious pathology*. Moscow: Medicine; 1977. 224 p. (in Russian).
5. Мейнелл Г. *Бактериальные плазмиды [пер. с англ.]*. М.: Мир; 1976. 237 с.
Meynell GG. *Bacterial plasmids [transl. from English]*. Moscow: Mir; 1976. 237 p. (in Russian).
6. Домарадский ИВ. *Чума*. М.: Медицина; 1998. 176 с.
Domaradskiy IV. *The plague*. Moscow: Medicine; 1998. 176 p. (in Russian).
7. Anisimov AP, Lindler LE, Pier GB. Intraspecific diversity of *Yersinia pestis*. *Clin Microbiol Rev*. 2004; 17(2):434–64.
<https://doi.org/10.1128/cmr.17.2.434-464.2004>
8. Супотницкий МВ. *Биологическая война. Введение в эпидемиологию искусственных эпидемических процессов и биологических поражений: монография*. М.: «Кафедра», «Русская панорама»; 2013. 1136 с.
Supotnitskiy MV. *Biological war. Introduction in epidemiology of artificial epidemic processes and biological damages: monography*. Moscow: “Kafedra”, “Russian Panorama”; 2013. 1136 p. (in Russian).

9. Ашмарин ИП. Молекулярная биология: Избранные разделы. Л.: Медицина, Ленинградское отделение; 1974. 360 с.
Ashmarin IP. *Molecular biology: Selected divisions*. Leningrad: Medicine, Leningrad's div.; 1974. 360 p. (in Russian).
10. И.П. Ашмарин: жизнь в науке и наука в его жизни. Ашмарина-Кукушкина ОИ, Ашмарина ЛИ, ред. М.: Изд-во МГУ; 2010. 328 с.
I.P. Ashmarin: the life in science and science in his life. Ashmarina-Kukushkina OI, Ashmarina LI, Eds. Moscow: MGU Public House; 2010. 328 p. (in Russian).
11. Пак ГЮ. Некоторые свойства индуцированных непестициногенных мутантов чумного микроба. *Проблемы особо опасных инфекций*. 1969;(1):75–9.
Pak GYu. Some characteristic of induced apesticinogenic mutants of the plague microbe. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 1969;(1):75–9 (in Russian).
12. Кольцова ЕГ, Сучков ЮГ, Лебедева СА. Передача фактора бактериоциногенности у чумного микроба. *Генетика*. 1971;7(4):118–22.
Koltsova EG, Suchkov YuG, Lebedeva SA. Transfer of the bacteriocinogenic factor of the plague microbe. *Genetics*. 1971;7(4):118–22 (in Russian).
13. Little RV, Brubaker RR. Characterization of deoxyribonucleic acids from *Yersinia pestis* by ethidium bromide cesium chloride density gradient centrifugation. *Infect Immun*. 1972;5(4):630–31.
14. Авторское свидетельство 001 СССР. «Плазма». Дармов ИВ: № 01/01А; заявл. 27.06.1978; опубл. 27.06.1983. Приоритет открытия 27.12.1977.
Author's certificate 001 SU. «Plasma». Darmov IV.: № 01/01A; declar. 27.06.1978; publ. 27.06.1983. Priority of discovery 27.12.1977. (in Russian).
15. Попов ЮА, Проценко ОА, Анисимов ПИ, Кокушкин АМ, Можаров ОТ. Обнаружение плазмид пестициногенности чумного микроба методом электрофореза в агарозном геле. В кн.: *Профилактика особо опасных инфекций*. Саратов; 1980. С. 20–5.
Popov YuA, Prozenko OA, Anisimov PI, Kokushkin AM, Mozharov OT. Identification of the pestiginogenic plasmids of the plague microbe by use electrophoresis method in agarose gels. In: *Profilaktika osobo opasnykh infektsii [Prophylaxis of particularly dangerous infections]*. Saratov; 1980. P. 20–5 (in Russian).
16. Проценко ОА, Анисимов ПИ, Можаров ОТ, Попов ЮА, Кокушкин АМ, Кононов НП. Внехромосомная наследственность чумного микроба. В кн.: *Эпидемиология и профилактика природноочаговых инфекций*. Саратов; 1981. С. 131–40.
Prozenko OA, Anisimov PI, Mozharov OT, Popov YuA, Kokushkin AM, Kononov NP. Extrachromosomal inheritance of the plague microbe. In: *Epidemiologia i profilaktika prirodnouchagovikh infektsii [Epidemiology and prophylaxis of feral herd infections]*. Saratov; 1981. P. 131–40 (in Russian).
17. Ferber DM, Brubaker RR. Plasmids in *Yersinia pestis*. *Infect Immun*. 1981;31(2):839–41.
18. Ben-Gurion R, Shafferman A. Essential Virulence Determinants of Different *Yersinia* Species are Carried on a Common Plasmid. *Plasmid*. 1981;5(2):183–87.
19. Yang R, Anisimov A, Eds. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. V. 918. *Yersinia pestis*: Retrospective and Perspective. Dordrecht: Springer Science, Business Media Dordrecht; 2016. 391 p.
<https://doi.org/10.1007/978-94-024-0890-4>
20. Demeure Ch, Dussurget O, Fiol GM, Le Guern A-S, Savin C, Pizarro-Cerda J. *Yersinia pestis* and plague: an updated view on evolution, virulence determinants, immune subversion, vaccination and diagnostics. *Microbes Infection*. 2019;21(5-6):202–12.
<https://doi.org/10.1016/j.micinf.2019.06.007>
21. Шестаков СВ. Как происходит и чем лимитируется горизонтальный перенос генов у бактерий. *Экол генетика*. 2007;5(2):12–24.
<https://doi.org/10.17816/ecogen52>
Shestakov SV. How does the horizontal gene transfer in bacteria occur and then is it tied up. *Ecol Genetics*. 2007;5(2):12–24 (in Russian).
<https://doi.org/10.17816/ecogen52>
22. Achtman M, Zurth K, Moirelli G, Torrea G, Guiyoule A, Carniel E. *Yersinia pestis*, the cause of plague, is a recently emerged clone of *Yersinia pseudotuberculosis*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1999;96(24):14043–8.
<https://doi.org/10.1073/pnas.96.24.14043>
23. Сунцов ВВ. Геномogenesis микроба чумы *Yersinia pestis* как процесс мозаичной эволюции. *Генетика*. 2021;57(2):140–54.
<https://doi.org/10.31857/S0016675821020119>
Sunzov VV. Genomogenesis of the plague microbe *Yersinia pestis* as mosaic evolution process. *Genetics*. 2021;57(2):140–54 (in Russian).
<https://doi.org/10.31857/S0016675821020119>

24. Янов СН, Дармов ИВ, Маракулин ИВ. Способ введения чужеродных генов в геномы грамотрицательных микроорганизмов, плазмидный вектор рКС47м для введения чужеродных генов в геномы грамотрицательных микроорганизмов, способ конструирования плазмидного вектора рКС47м. Патент РФ. 2092556. Оpubл.10.10.1997. Бюл. № 28.

Yanov SN, Darmov IV, Marakulin IV. Method for introducing of foreign genes in genomes gram-negative microbes, plasmid vector pKC47m for introducing of foreign genes in genomes gram-negative microbes, method for constructing of plasmid vector pKC47m. Patent RU 2092556. Publ. 10/10/1997. Bull. № 28 (in Russian).

25. Дармов ИВ, Маракулин ИВ, Янов СН, Бывалов АА, Абдуллин ТГ, Смирнов ЕВ. Конструирование штаммов-продуцентов антигенов FI и T чумного микроба. *Биотехнология*. 1992;(6):59–62.

Darmov IV, Marakulin IV, Yanov SN, Bivalov AA, Abdullin TG, Smirnov EV. Construction of strains producers of antigens FI and T of plague microbe. *Biotechnology*. 1992;(6):59–62 (in Russian).

Вклад авторов / Authors' contributions

Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: **И.В. Дармов** – формирование концепции статьи, написание текста рукописи, окончательное утверждение рукописи для публикации; **С.Н. Янов** – критический пересмотр и коррекция текста рукописи; **И.В. Маракулин** – сбор и анализ данных научной литературы, переработка текста рукописи / All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) criteria for authorship. The most significant contribution were as follows: **I.V. Darmov** – formation of the concept of the article, drafting the manuscript, final approval of the manuscript for publication; **S.N. Yanov** – critical revision and correction of the text of the manuscript; **I.V. Marakulin** – collection and analysis of scientific literature data, revision the manuscript.

Сведения о рецензировании / Peer review information

Статья прошла двустороннее анонимное «слепое» рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала и в РИНЦе / The article has been double-blind peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board and from Russian Science Citation Index database.

Об авторах / Authors

Филиал федерального государственного бюджетного учреждения «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации (г. Киров), 610000, Российская Федерация, г. Киров, Октябрьский проспект, д. 119.

Дармов Илья Владимирович. Главный научный сотрудник научно-исследовательского управления, д-р мед. наук, профессор.

Янов Сергей Николаевич. Старший научный сотрудник, д-р биол. наук, профессор.

Маракулин Игорь Вадимович. Ведущий научный сотрудник, д-р мед. наук, ст. науч. сотр.

Контактная информация для всех авторов: 23527@mil.ru

Контактное лицо: Дармов Илья Владимирович; 23527@mil.ru

Branch Office of 48 Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation (Kirov), Oktyabrsky Avenue 119, Kirov 610000, Russian Federation.

Ilya V. Darmov. Leading Researcher. Dr. Sci. (Med.), Professor.

Sergey N. Yanov. Senior Researcher. Dr. Sci. (Biol.), Professor.

Igor V. Marakulin. Leading Researcher. Dr. Sci. (Med.).

Contact information for all authors: 23527@mil.ru

Contact person: Ilya V. Darmov; 23527@mil.ru