VIII МОСКОВСКИЙ МЕЖДУНАРОДНЫЙ КОНГРЕСС

БИОТЕХНОЛОГИЯ
СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ

Москва, Новый Арбат, 36/9
(Здание Правительства Москвы)
www.mosbiotechworld.ru

При поддержке Правительства Москвы и Российского фонда фундаментальных исследований

Supports: Department of science, industrial policy and entrepreneurship of Moscow and Russian Fund of Fundamental Researches

МОСКВА, РОССИЯ
17 - 20 марта
2015
March, 17 - 20
MOSCOW, RUSSIA

www.mosbiotechworld.ru/eng
Moscow, St. Novy Arbat, 36/9
(the House of Moscow Government)

МАТЕРИАЛЫ КОНГРЕССА. ЧАСТЬ 1
CONGRESS PROCEEDINGS. PART 1

VIII MOSCOW INTERNATIONAL CONGRESS

"BIOTECHNOLOGY: STATE OF THE ART AND PROSPECTS OF DEVELOPMENT"

МАТЕРИАЛЫ КОНГРЕССА
ЧАСТЬ 1

VIII МОСКОВСКИЙ МЕЖДУНАРОДНЫЙ КОНГРЕСС

«БИОТЕХНОЛОГИЯ: СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ»

Россия, Москва, Новый Арбат, 36/9 (Здание Правительства Москвы)

При поддержке
Правительства Москвы и
Российского фонда
фундаментальных
исследований

Supports: Department of
science, industrial policy
and entrepreneurship of
Moscow and Russian Fund of
Fundamental Researches

17 - 20 марта
2015
March, 17 - 20

BIO ТЕХНОЛОГИИ

МИНПРОМТОРГ РОССИИ

Russia, Moscow, Novy Arbat, 36/9 (the House of Moscow Government)

VIII MOSCOW INTERNATIONAL CONGRESS

"BIOTECHNOLOGY: STATE OF THE ART AND PROSPECTS OF DEVELOPMENT"

CONGRESS PROCEEDINGS
PART 1

УДК 575.1/2::612.017.1
ББК 28.072
Б63

VIII МОСКОВСКИЙ МЕЖДУНАРОДНЫЙ КОНГРЕСС «БИОТЕХНОЛОГИЯ: СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ» 17-20 МАРТА 2015 г.

материалы VIII Московского Международного Конгресса «Биотехнология: Состояние И Перспективы Развития» 17-20 МАРТА 2015 г.
М.: ЗАО «Экспо-биохим-технологии», РХТУ им. Д.И. Менделеева,
2015 – 504 с.

ISSN: 2312-640X

УДК 575.1/2::612.017.1
ББК 28.072

ISSN: 2312-640X

Настоящие материалы конгресса созданы в ООО «Экспоконсалтинг» на основании информации, предоставленной организаторами, экспонентами и рекламодателями выставки и конгресса.
Заказчик: **© 2015 ЗАО «Экспо-биохим-технологии»**
Материалы тезисов публикуются в авторской версии. Организаторы не несут ответственности за неточности и упущения в названиях и адресах, представленных в данном сборнике.

VIII MOSCOW INTERNATIONAL CONGRESS "BIOTECHNOLOGY: STATE OF THE ART AND PROSPECTS OF DEVELOPMENT"

Proceedings of the VIII Moscow International Congress "Biotechnology: State of the Art and Prospects of Development" (March 17-20, 2015, Moscow, Russia),
Moscow: JSC "Expo-biochem-technologies", D.I. Mendeleyev University of Chemistry and Technology of Russia,
2015 – 504 p.

ISSN: 2312-640X

This Congress proceedings is issued by Expoconsulting, LTD by order of organizers of exhibition and congress on the basis of information given by exhibitors and advertisers.
The customer: **© 2015 JSC «Expo-biochem-technologies»**

The abstracts materials are published in author's version. The Organizers do not bear responsibility for any errors or omissions regarding the names and addresses of the congress participants, presented in the collection.

ОРГАНИЗАТОРЫ КОНГРЕССА И ВЫСТАВКИ:
THE ORGANIZERS OF THE CONGRESS ARE:

Министерство образования и науки Российской Федерации
Министерство промышленности и торговли Российской Федерации
Федеральное агентство научных организаций
Российская академия наук
Российский фонд фундаментальных исследований
Российский союз химиков
ЗАО «Экспо-биохим-технологии»

Ministry of Education and Science of the Russian Federation
Ministry of Industry and Trade of the Russian Federation
Federation Agency of Scientific Organizations
Russian Academy of Sciences
Russian Fund of Fundamental Researches
Russian Union of Chemists
JSC Expo-Biochim-Technologies

ОРГАНИЗАЦИИ, СОДЕЙСТВУЮЩИЕ ПОДГОТОВКЕ КОНГРЕССА:
SUPPORTERS:

Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева
Всероссийский институт лекарственных растений (ВИЛАР)
Институт биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН
Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАМН
Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова (химический и биологический факультеты)
Московский Университет тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова
ГУ НИИ питания РАМН

D. Mendeleyev University of Chemical Technology of Russia
Biomedical Technologies Center
M.M. Shemyakin and Yu.M. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences
GE Scientific and Research Institute of Biomedical Chemistry named after
V.N. Orehovicha of the Russian Academy of Medical Sciences
N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics of the Russian Academy of Sciences
The Departments of Chemistry and Biology of Lomonosov Moscow State University
Moscow State University of Fine Chemical Technologies named after M.V. Lomonosov
Research Institute of Nutrition of the Russian Academy of Medical Sciences

СОСТАВ ОРГАНИЗАЦИОННОГО КОМИТЕТА

Быков Валерий Алексеевич	академик, Всероссийский институт лекарственных растений, ***председатель Организационного комитета***
Арчаков Александр Иванович	академик, член Президиума РАН, Институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича РАМН, ***сопредседатель Оргкомитета***
Романовский Михаил Юрьевич	д.ф.-м.н., начальник Управления координации и обеспечения деятельности организаций в сфере науки ФАНО России, ***сопредседатель Оргкомитета***
Петров Рэм Викторович	академик, советник Российской академии наук, ***председатель Программного комитета***
Чехонин Владимир Павлович	академик, член Президиума РАН, руководитель Отдела и зав. кафедрой медицинских нанобиотехнологий Российского государственного медицинского университета им. Н.И. Пирогова, ***сопредседатель Программного комитета***
Алешников Владимир Евгеньевич	генеральный директор ЗАО «Экспо-биохим-технологии», ***ответственный секретарь Оргкомитета***
Егоров Алексей Михайлович	академик, зав. лабораторией инженерной энзимологии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова
Иванов Вадим Тихонович	академик, Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН
Иванов Виктор Петрович	Президент Российского союза химиков
Кирпичников Михаил Петрович	академик, декан биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова
Ковальчук Михаил Валентинович	член-корр. РАН, директор Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»

Комиссаров Алексей Геннадиевич	Советник мэра города Москвы
Крюков Сергей Вениаминович	д.т.н., председатель Совета директоров ОАО «Биофарм»
Лисицын Андрей Борисович	академик, член Президиума РАН, директор ГНУ ВНИИМП им. В.М. Горбатова Россельхозакадемии
Нарайкин Олег Степанович	член-корр. РАН, зам. директора Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»
Огородова Людмила Михайловна	член-корр. РАМН, зам. министра Минобрнауки РФ, председатель ТП «Медицина будущего»
Рогов Иосиф Александрович	академик, Институт прикладной биотехнологии
Салихов Сергей Владимирович	Директор Департамента развития приоритетных направлений науки и технологий Минобрнауки России
Скрябин Константин Георгиевич	академик, директор Центра «Биоинженерия» РАН
Тихонович Игорь Анатольевич	академик, директор Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной микробиологии Россельхозакадемии, г. Санкт-Петербург
Тутельян Виктор Александрович	академик, член Президиума РАН, директор ГУ НИИ питания РАМН
Хаитов Рахим Мусаевич	академик, ГНЦ РФ «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства РФ
Харченко Петр Николаевич	академик, директор Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной биотехнологии Россельхозакадемии
Цыб Сергей Анатольевич	к.э.н., зам.министра Минпромторга РФ

ORGANIZING COMMITTEE

Valery A. Bykov	Academician of the Russian Academy Sciences, Biomedical Technologies Center, ***Chairman of the Organizing Committee***
Alexander I. Archakov	Academician of the Russian Academy Sciences, Institute of Biomedical Chemistry of the RAMS, a Member of the Russian Academy of Sciences Presidium, ***Co-Chairman of the Organizing Committee***
Mikhail Yu. Romanovsky	PhD, Director of the Department of the Federal Agency for Scientific Organizations, ***Co-Chairman of the Organizing Committee***
Rem V. Petrov	Academician of the Russian Academy of Sciences, Adviser of the Russian Academy of Sciences, ***Chairman of the Programme Committee***
Vladimir P. Chekhonin	Academician of the of the Russian Academy Sciences, N.I. Pirogov State Medical University, ***Co-Chairman of the Programme Committee***
Vladimir E. Aleshnikov	General Director of JSC "Expo-biochem-technologies", ***Executive Secretary of the Organizing Committee***
Aleksei M. Egorov	Academician of the Russian Academy Sciences, M.V. Lomonosov Moscow State University
Vadim T. Ivanov	Academician of the Russian Academy of Sciences, M.M. Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the RAS
Victor P. Ivanov	President of Russian Union Chemists
Mikhail V. Kovalchuk	Corresponding Member Academy of Sciences, Director of the National Research Center "Kurchatov Institute"
Mikhail P. Kirpichnikov	Academician of the Russian Academy of Sciences, M.V. Lomonosov Moscow State University
Sergey V. Krukov	PhD, The Chairman of the Committee of Directors ROAO “Biofarm”

Alexey G. Komissarov	Adviser of the Mayor of Moscow
Rakhim M. Khaitov	Academician of the Russian Academy of Sciences, Institute of Immunology of Health Care Ministry of the Russian Federation
Petr N. Kharchenko	Academician of the Russian Academy Sciences, Director of the All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology RAAS
Andrey B. Lisitsyn	Academician of the Russian Academy Sciences, a Member of the Russian Academy of Sciences Presidium, Director of the Gorbatov's All-Russian Meat Research Institute of the Russian Academy of Agricultural Sciences
Oleg S. Naraykin	Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Deputy Director of the National Research Center "Kurchatov Institute"
Ludmila M. Ogorodova	Corresponding Member of the Russian Academy Sciences, Deputy Ministry of Education and Science of the Russian Federation, Chairman of Platform "Medical of the Future"
Iosif A. Rogov	Academician of the Russian Academy Sciences, Institute of Applied Biotechnology
Sergey V. Salikhov	Director of the Department of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation
Konstantin G. Skryabin	Academician of the Russian Academy of Sciences, Director of Center "Bioengineering" of the Russian Academy of Sciences
Igor A. Tikhonovich	Academician of the Russian Academy Sciences, Director of the All-Russia Research Institute of Agricultural Microbiology of the Russian Academy of Agricultural Sciences, St.Petersburg
Sergey A. Tsyb	PhD, Deputy Ministry of Industry and Trade of the Russia Federation
Victor A. Tutelyan	Academician of the Russian Academy Sciences, Director of the Research Institute of Nutrition of the Academy of Medical Sciences Presidium

СОСТАВ ПРОГРАММНОГО КОМИТЕТА МЕЖДУНАРОДНОГО КОНГРЕССА «БИОТЕХНОЛОГИЯ: СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ»

Петров Рэм Викторович	академик Российской академии наук, советник Российской академии наук, ***председатель Программного комитета***
Быков Валерий Алексеевич	академик, Институт ВИЛАР, ***председатель Организационного комитета***
Арчаков Александр Иванович	академик, член Президиума РАН, Институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАМН, ***сопредседатель Оргкомитета***
Варфоломеев Сергей Дмитриевич	член-корр. РАН, директор Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, ***сопредседатель Программного комитета***
Чехонин Владимир Павлович	академик, член Президиума РАН, руководитель Отдела и зав. кафедрой медицинских нанобиотехнологий Российского государственного медицинского университета им. Н.И. Пирогова, ***сопредседатель Программного комитета***
Алешников Владимир Евгеньевич	генеральный директор ЗАО «Экспо-биохим-технологии», ***ответственный секретарь Оргкомитета***
Береговых Валерий Васильевич	член-корр. РАН, заведующий кафедрой организации производства и реализации лекарственных средств Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова
Власов Валентин Викторович	академик, директор Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск
Глазко Валерий Иванович	профессор, академик (иностранный член), Российский государственный аграрный университет - МСХА им. К.А. Тимирязева
Градова Нина Борисовна	профессор, д.б.н., кафедра биотехнологии РХТУ им. Д.И. Менделеева
Дыгай Александр Михайлович	академик, директор ФГБУ «Научно-исследовательский институт фармакологии» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, г. Томск
Егоров Алексей Михайлович	академик, профессор, заведующий лабораторией инженерной энзимологии химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова
Жариков Геннадий Алексеевич	профессор, ФГУН «Научно-исследовательский центр токсикологии и гигиенической регламентации биопрепаратов» Федерального медико-биологического агентства Российской Федерации
Завриев Сергей Кириакович	член-корр. РАН, зав. отделом Института биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН

Зиновьева Наталия Анатольевна	академик, член Президиума РАН, директор ГНУ ВНИИЖ им. Л.К. Эрнста (п. Дубровицы)
Кирпичников Михаил Петрович	академик, декан биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова
Ковальчук Михаил Валентинович	член-корр. РАН, директор Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»
Колесников Владимир Александрович	профессор, ректор РХТУ им. Д.И. Менделеева
Колчанов Николай Александрович	академик, директор Института цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск
Комиссаров Алексей Геннадиевич	Советник мэра Правительства Москвы
Красильников Игорь Викторович	д.б.н., профессор, заместитель директора по инновациям и международным отношениям ФГУП СПбНИИВС ФМБА России, г. Санкт-Петербург
Крюков Сергей Вениаминович	д.т.н., председатель Совета директоров ОАО «Биофарм»
Лисицын Андрей Борисович	академик, член Президиума РАН, директор ГНУ ВНИИМП им. В.М. Горбатова Россельхозакадемии
Лукьянов Сергей Анатольевич	академик, зам. директора по науке, зав. отделом Геномики и постгеномных технологий Института биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН
Мартынов Александр Игоревич	к. м. н., Первый заместитель директора ФГБУ «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства РФ
Меньшутина Наталия Васильевна	профессор, директор Российско-Швейцарского учебно-научного центра трансфера фармацевтических биотехнологий, РХТУ им. Д.И. Менделеева
Мирошников Анатолий Иванович	академик, член Президиума РАН, зам. директора Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Председатель научного Совета Пущинского научного центра РАН
Наркевич Игорь Анатольевич	профессор, ректор Санкт-Петербургской государственной химико-фармацевтической академии, г. Санкт-Петербург
Нарайкин Олег Степанович	член-корр. РАН, зам. директора по направлению НБИКС-технологии Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»
Нетесов Сергей Викторович	член-корр. РАН, проректор по научной работе Новосибирского Государственного Университета, г. Новосибирск

Овчинникова Татьяна Владимировна	профессор кафедры биотехнологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, руководитель Научно-образовательного центра Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, *сопредседатель конкурса молодых ученых*
Огородова Людмила Михайловна	член-корр. РАН, зам. министра Минобрнауки РФ, председатель ТП «Медицина будущего»,
Панфилов Виктор Иванович	профессор, зав. кафедрой биотехнологии, проректор РХТУ им. Д.И. Менделеева
Петров Владимир Иванович	академик, ректор Волгоградского государственного медицинского университета
Поляков Виктор Антонович	академик, директор ГНУ ВНИИПБТ Россельхозакадемии
Попов Владимир Олегович	член-корр. РАН, директор Института биохимии им. А.Н.Баха РАН, координатор технологической платформы «Биоиндустрия и Биоресурсы – БиоТех2030»
Поройков Владимир Васильевич	профессор, заведующий отделом биоинформатики, заведующий лабораторией структурно-функционального конструирования лекарств, Институт биомедицинскокй химии им.В.Н. Ореховича РАМН
Салихов Сергей Владимирович	директор Департамента развития приоритетных направлений науки и технологий Минобрнауки России
Северин Евгений Сергеевич	член-корр. РАН, генеральный директор ВНЦ молекулярной диагностики и лечения
Седельникова Галина Васильевна	профессор, заместитель директора Центрального научно-исследовательского геологоразведочного института цветных и благородных металлов
Середенин Сергей Борисович	академик, директор ФГБУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова» РАМН
Систер Владимир Григорьевич	член-корр. РАН, зав. каф. «Инженерная экология городского хозяйства», директор Института химической технологии альтернативной энергетики Университета машиностроения
Скрябин Константин Георгиевич	академик, директор Центра «Биоинженерия» РАН
Сокольская Татьяна Александровна	д.фарм.н., профессор, Первый зам директора ГНУ ВИЛАР
Титов Евгений Иванович	академик, директор Института прикладной биотехнологии

Тихонович Игорь Анатольевич	академик, директор Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной микробиологии Россельхозакадемии, г. Санкт-Петербург
Тутельян Виктор Александрович	академик, член Президиума РАН, директор ГУ НИИ питания РАМН
Усанов Сергей Александрович	член-корр. НАН Беларуси, член Президиума НАН Беларуси, директор Института биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь
Хаитов Рахим Мусаевич	академик, ФГБУ «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства РФ
Харитонов Владимир Дмитриевич	академик, ГНУ ВНИИ молочной промышленности Россельхозакадемии
Харченко Петр Николаевич	академик, директор Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной биотехнологии Россельхозакадемии
Фролкова Алла Константиновна	профессор, ректор МИТХТ им. М.В.Ломоносова
Цыб Сергей Анатольевич	к.э.н., зам.министра Минпромторга РФ
Цыганов Дмитрий Игоревич	д.т.н., профессор, зам.начальника управления ФАНО РФ
Швец Виталий Иванович	академик, зав.кафедрой биотехнологии и бионанотехнологии МИТХТ им. М.В.Ломоносова, *председатель конкурса молодых ученых*
Шестибратов Константин Александрович	к.б.н., Руководитель группы лесной биотехнологии Филиала ИБХ, г. Пущино
Ширяева Ирина Андреевна	начальник Управления экологической политики Департамента природопользования и охраны окружающей среды города Москвы
Шоба Сергей Алексеевич	член-корр. РАН, декан факультета почвоведения, МГУ им. М.В. Ломоносова
Юдин Борис Григорьевич	член-корр. РАН, руководитель проекта ЮНЕСКО «Биоэтический форум»
Яруллин Рафинат Саматович	Генеральный директор ОАО «Татнефтехиминвест-Холдинг», Республика Татарстан
Яненко Александр Степанович	д.б.н., профессор, зам. директора ФГУП ГНЦ ГосНИИгенетика
Silke Schumacher	директор по международным связям Европейской лаборатории молекулярной биологии (EMBL, Germany)

PROGRAMME COMMITTEE OF THE INTERNATIONAL CONGRESS "BIOTECHNOLOGY: STATE OF THE ART AND PROSPECTS OF DEVELOPMENT"

Rem V. Petrov	Academician of the Russian Academy of Sciences, Adviser of the Russian Academy of Sciences, **Chairman of the Programme Committee**
Valery A. Bykov	Academician of the Russian Academy Sciences, Biomedical Technologies Center, **Chairman of the Organizing Committee**
Alexander I. Archakov	Academician of the Russian Academy Sciences, Institute of Biomedical Chemistry of the RAMS, **Co-Chairman of the Organizing Committee**
Sergey D. Varfolomeyev	Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director of N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics, **Co-Chairman of the Programme Committee**
Vladimir P. Chekhonin	Academician of the of the Russian Academy Sciences, N.I. Pirogov State Medical University, **Co-Chairman of the Programme Committee**
Vladimir E. Aleshnikov	General Director of JSC "Expo-biochem-technologies", **Executive Secretary of the Organizing Committee**
Valeriy V. Beregovyh	Corresponding Member of the Russian Academy Sciences, Professor, the Head of Department of Managements Science for Medicine Manufacture and Pharmaceutical Supply System, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University
Alexander M. Dygai	Academician of the Russian Academy Sciences, Director of the Institute of Pharmacology of the Siberian RAMS, Tomsk
Aleksei M. Egorov	Academician of the Russian Academy Sciences, M.V. Lomonosov Moscow State University
Alla K. Frolkova	PhD, Professor, Rector of M.V. Lomonosov Moscow State Academy of Fine Chemical Technology
Valeriy I. Glazko	PhD, Professor, Academician of the Russian Academy Sciences Russian State (foreign member), Agrarian University - Moscow Agricultural Academy named after K.A. Timiryazev
Nina B. Gradova	PhD, Professor, D. Mendeleev University of Chemical Technology of Russia
Rafinat S. Jarullin	General Director of "Tatneftekhiminvest – Holding", Tatarstan
Mikhail P. Kirpichnikov	Academician of the Russian Academy of Sciences, M.V. Lomonosov Moscow State University
Mikhail V. Kovalchuk	Corresponding member Academy of Sciences, Director of the National Research Center "Kurchatov Institute"

Vladimir A. Kolesnikov	PhD, Professor, Rector of D. Mendeleev University of Chemical Technology of Russia
Alexey G. Komissarov	Adviser of the Mayor of Moscow
Igor V. Krasilnikov	PhD, Professor, Dr.Sci., Deputy Director on innovations and International relations, Saint-Petersburg Institute of Vaccines & Sera
Rakhim M. Khaitov	Academician of the Russian Academy of Sciences, "Institute of Immunology" Federal Medical-Biological Agency of Russia
Vladimir D. Kharitonov	Academician of the Russian Academy Sciences, All-Russia Research Institute of Milk Industry of the Russian Academy of Agricultural Sciences
Petr N. Kharchenko	Academician of the Russian Academy Sciences, Director of the All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology of the Russian Academy of Agricultural Sciences
Nikolay A. Kolchanov	Academician of the Russian Academy of Sciences, Director of the Institute of Cytology and Genetics of the RAS Siberian Branch, Novosibirsk
Sergey V. Krukov	PhD, Professor, The Chairman of the Committee of Directors ROAO "Biofarm"
Andrey B. Lisitsyn	Academician of the Russian Academy Sciences, Vice-President of the Russian Academy Sciences, Director of the Gorbatov's All-Russian Meat Research Institute of the Russian Academy of Agricultural Sciences
Sergey A. Luk'yanov	Academician of the Russian Academy of Sciences, Deputy Director of M. M. Shemyakin and Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences
Alexander I. Martynov	PhD (Medicine), The First Deputy Director of "Institute of Immunology" Federal Medical-Biological Agency of Russia
Natalia V. Menshutina	PhD, Professor, Dean of the Faculty of Information Technology and Management, Director of the Russian-Swiss Science and Education Center shuttle pharmaceutical and biotechnology, Mendeleyev University of Chemical Technology of Russia
Anatoly I. Miroshnikov	Academician of the Russian Academy of Sciences, Deputy Director of M. M. Shemyakin and Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences
Igor A. Narkevich	PhD, Professor, rector of the St.-Petersburg State Chemical Pharmaceutical Academy
Sergey V. Netesov	Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, pro-rector of the Novosibirsk State University

Ludmila M. Ogorodova	Corresponding Member of the Russian Academy Sciences, Deputy of the minister of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation, Chairman of Platform "Medical of the Future"
Tatiana V. Ovchinnikova	PhD, Professor, Head of the Research and Training Center, M. M. Shemyakin and Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, *Co-Chairman of the Contest of Young Scientists*
Viktor I. Panfilov	PhD, Professor, Pro-rector of D.I. Mendeleyev University of Chemical Technology of Russia
Vladimir I. Petrov	Academician of the Russian Academy Sciences, Rector of the State Medical University of Volgograd
Vuctor A. Polaykov	Academician of the Russian Academy Sciences, Director of the Institute of Food Biotechnology RAAS
Vladimir O. Popov	Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director of A.N. Bach Institute of Biochemistry of the Russian Academy of Sciences, Chairman of the Platform "BioTech 2030"
Vladimir V. Poroikov	PhD, Professor, GE Scientific and Research Institute of Biomedical Chemistry of the RAMS
Silke Schumacher	Dr, Director International Relations, EMBL (European Molecular Biology Laboratory), Heidelberg, Germany
Sergey V. Salikhov	Director of the Department of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation
Evgeny S. Severin	Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director of the All-Russia Research Center for Molecular Diagnostics and Therapy
Galina V. Sedel'nikova	PhD, Professor, Deputy Director of the Central Research Institute of Geological Prospecting for Base and Precious Metals
Sergey B. Seredenin	Academician of the Russian Academy of Sciences, Director of the Institute of Pharmacology of the RAMS named after V.V. Zakusova
Vitaliy I. Shvets	Academician of the Russian Academy Sciences, M.V. Lomonosov Moscow State Academy of Fine Chemical Technology, *Chairman of the Contest of Young Scientists*
Konstantin A. Shestibratov	PhD, M. M. Shemyakin and Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences
Irina A. Shiryaeva	The Head of Department Ecology Police of Moscow Nature Management and Environment Protection Department
Sergey A. Shoba	Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Dean of Soil Science Dept., M.V. Lomonosov Moscow State University

Vladimir G. Sister	Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director of the Institute of Chemical Technology of Alternative Energy, University of Mechanical Engineering
Konstantin G. Skryabin	Academician of the Russian Academy of Sciences, Director of Center "Bioengineering" of the Russian Academy of Sciences
Tatiana A. Sokolskaya	PhD (Pharmacy), Professor, The First Deputy Director of Institute of VILAR of the Russian Academy of Agricultural Sciences
Evgeny I. Titov	Academician of the Russian Academy Sciences, Director of the Institute of Applied Biotechnology
Igor A. Tikhonovich	Academician of the Russian Academy Sciences, Director of the All-Russia Research Institute of Agricultural Microbiology of the Russian Academy of Agricultural Sciences, St.-Petersburg
Sergey A. Tsyb	PhD, Deputy of Ministry of Industry and Trade of the Russia Federation
Dmitry I. Tsyganov	PhD, Professor, Federal Agency for Scientific Organizations, the Head of Innovation and Intellectual Property of the Russian Academy of Sciences
Victor A. Tutelyan	Academician of the Russian Academy Sciences, Vice-President of the Russian Academy Sciences, Director of the Research Institute of Nutrition of the Academy of Medical Sciences Presidium
Sergey A. Usanov	Corresponding Member of the National Academy of Sciences of Belarus, Member of the Presidium of National Academy of Sciences of Belarus, Director of the Institute of Bioorganic Chemistry of NAS, Minsk, Belarus
Valentin V. Vlasov	Academician of the Russian Academy of Sciences, Director of the Institute of Chemistry Biology and Fundamental Medical of the RAS, Novosibirsk
Alexander S. Yanenko	PhD, Professor, Deputy Director of the State Research Institute of Genetics and Selection of Industrial Microorganisms
Boris G. Yudin	Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, the Head of UNESCO project "Forum for bioethics"
Sergey K. Zavriev	Corresponding Member of the Russian Academy Sciences, M.M. Shemyakin and Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences
Gennady A. Zharikov	PhD, Professor of Research Center of Toxicology and Hygienic Regulation of Biologicals of the Russian Federation Health Care Ministry
Natalia A. Zinovieva	Academician of the Russian Academy Sciences, Vice-President of the Russian Academy Sciences, Director of the Institution «All-Russian Research Institute of Animal Husbandry Named After Academician LK Ernst», p. Dubrovitzy

ПЛЕНАРНОЕ ЗАСЕДАНИЕ «ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ» 17
PLENARY SESSION “FUNDAMENTAL RESEARCHES AND BIOTECHNOLOGY” 17

СЕКЦИЯ «БИОТЕХНОЛОГИЯ И МЕДИЦИНА» 24
SECTION “BIOTECHNOLOGY AND MEDICINE” 24

СЕКЦИЯ «ИММУННАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ» 128
SECTION “IMMUNOBIOTECHNOLOGY” 128

КРУГЛЫЙ СТОЛ «БИОМЕДИЦИНСКИЕ СЕНСОРЫ И ТЕХНОЛОГИИ» 181
SEMINAR “BIOMEDICAL SENSORS AND TECHNOLOGIES” 181

СЕКЦИЯ «БИОМАТЕРИАЛЫ И ИХ РОЛЬ В СОВРЕМЕННЫХ БИОТЕХНОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ» 193
SECTION “BIOMATERIALS AND THERIS FUNCTION IN THE MODERN BIOTECHNOLOGY AND MEDICINE” 193

СЕКЦИЯ «БИОИНФОРМАТИКА» 249
SECTION “BIOINFORMATICS” 249

СЕКЦИЯ «БИОТЕХНОЛОГИЯ И ПРОМЫШЛЕННОСТЬ» 277
SECTION “BIOTECHNOLOGY AND INDUSTRY” 277

СЕКЦИЯ «БИОКАТАЛИЗ И БИОКАТАЛИТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ» 345
SECTION “BIOCATALYSIS AND BIOCATALYTIC TECHNOLOGIES” 345

СЕКЦИЯ «БИОТЕХНОЛОГИЯ ПИЩИ. ПРОДУКТЫ ЗДОРОВОГО ПИТАНИЯ» 386
SECTION “BIOTECHNOLOGY FOOD. HEALTH FOOD PRODUCTS” 386

ПЛЕНАРНОЕ ЗАСЕДАНИЕ «ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ»

PLENARY SESSION "FUNDAMENTAL RESEARCHES AND BIOTECHNOLOGY"

ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Власов В., Зенкова М., Пышный Д., Стеценко Д.
Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН
Новосибирск 630090 проспект Лаврентьева 8
vvv@niboch.nsc.ru

Идентификация генетических программ и белков, ответственных за развитие заболеваний, установление механизмов регуляции экспрессии генов с помощью РНК и разработка методов синтеза нуклеиновых кислот открыли возможности создания нового поколения терапевтических нуклеиновых кислот, «умных препаратов» способных избирательно подавлять экспрессию заданных генов, исправлять мутации в генетических программах и модулировать функции определенных белков.

Антисмысловые олигонуклеотиды и малые интерферирующие РНК могут подавлять экспрессию целевых генов в клетках млекопитающих и несколько олигонуклеотидных препаратов уже одобрены для применения в клинике. Разработка улучшенных вариантов олигонуклеотидных конъюгатов, способных проникать в определенные клетки млекопитающих и клетки бактерий откроет возможность создания широкого спектра препаратов для лечения различных болезней вызыванных аномальным функционированием измененных генетических программ, таких, как рак, и болезнями, вызываемыми инфекционными агентами, которые имеют собственные генетические программы.

Аптамеры, способные связываться со специфическими белками, оказались способными подавлять функционирование целевых белков в клетках invivo. Аптамеры заданной специфичности легко разрабатывать и производить, дальнейшее совершенствование модифицированных вариантов аптамеров проведет к созданию молекул, способных конкурировать с антителами в различных биомедицинских технологиях.

Недавно созданные системы направленного воздействия на ДНК CRISPR – Cas9 открыли возможность коррекции генетических программ в клетках в культуре и *in vivo*. Эти системы найдут применение в целом ряде медицинских технологий, таких, как коррекция генетических дефектов, введение новых программ в клеточный геном и инактивация вирусных геномов, встроившихся в клеточные генетические программы.

Успехи в области создания препаратов на основе нуклеиновых кислот будут определяться развитием химии нуклеиновых кислот, необходимой для синтеза новых аналогов олиганукле-отидов и развитием подходов к направленной доставке нуклеиновых кислот в определенные виды клеток, к их молекулярным мишеням.

PROGRESS IN DEVELOPMENT OF THERAPEUTIC NUCLEIC ACIDS

Vlassov V., Zenkova M., Pyshnii D., Stetsenko D.
Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences,
8, Lavrentiev Avenue, Novosibirsk 630090, Russiavvv@niboch.nsc.ru

Identification of genetic programs and proteins responsible for development of diseases, discovery of mechanisms of gene expression regulation by RNAs and elaboration of methods of nucleic acid synthesis opened possibilities for development of new generation of nucleic acid therapeutics, “smart drugs” capable of specific silencing of unwanted genes expression, correction of mutated genetic programs and modulation of functions of specific proteins.

Antisense oligonucleotides and siRNAscan arrest expression of target genes in mammalian cells and several oligonucleotide therapeuticshave been approved for use in clinics. Design of improved versions of modified oligonucleotide conjugates capable of entering into bacterial cells and into specific mammalian cells will open possibilities for development of a broad range of therapeutics for treatment of different diseases caused by inappropriate functions of cellular genetic programs, such as cancer, and diseases caused by infectious agents, having their own unique genetic programs.

Aptamers, capable of binding to specific proteins, proved to be potential therapeutics, capable of interfering with functions of the target proteins *in vivo*. These compounds are easy to design and manufacture, and further development of modified versions of aptamers will provide compounds competitive with antibodies in different biomedical applications.

Recent development of the CRISPR – Cas9 system for manipulating DNA opened possibilities for correction of genetic programs in cells in culture and *in vivo*. This system and stem cell technologies provide a broad range of potential applications in therapy, such as correction of genetic defects, introduction of new programs in the cell genome and inactivation of viral genomes inserted in cellular genetic programs.

Success in the field of design of nucleic acid based therapeutics will be determined bydevelopment of chemistry of nucleic acids, needed for synthesis of appropriate oligonucleotide analogs and by development of techniques providing possibilities for efficient targeting specific cells and deliver nucleic acid therapeutics into cells, to their targets.

РЕЗИСТЕНТНОСТЬ БАКТЕРИЙ К АНТИБИОТИКАМ И ПУТИ ЕЕ ПРЕОДОЛЕНИЯ

Егоров А.М.[1,2], Рубцова М.Ю.[1], Григоренко В.Г.[1]
[1]*Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва*
[2]*Кафедра микробиологии Российской медицинской академии постдипломного образования (РМАПО), Москва*

Рост числа инфекционных заболеваний, вызываемых патогенными бактериями, является острой проблемой для всего мира, как развитых, так и развивающихся стран. Часто они вызываются резистентными к действию антибиотиков патогенами. Термин «антибиотико-резистентность» характеризует явление устойчивости бактерий – возбудителей инфекционных заболеваний к действию антибиотиков. Исследование механизмов возникновения резистентности к антибиотикам является важной проблемой микробиологии.

В настоящее время наиболее широко применяемыми антибиотиками являются бета-лактамные, механизм действия которых заключается в ингибировании пенициллинсвязывающих белков, вследствие чего нарушается синтез клеточной стенки. Наиболее распространенным ме-

ханизмов устойчивости к бета-лактамам является синтез ферментов бета-лактамаз, гидролизующих бета-лактамное кольцо антибиотика. По своей структуре и субстратной специфичности они разделяются на несколько молекулярных классов, которые далее разделяются на группы и подгруппы. Бета-лактамазы характеризуются высокой мутабельностью, что является следствием общебиологического механизма адаптации микроорганизмов к действию антибиотиков.

В докладе будут представлены подходы к преодолению резистентности, связанные с поиском новых ингибиторов. Существующие ингибиторы бета-лактамаз обладают довольно узкой специфичностью. Новый подход состоит в анализе структурных особенностей ферментов и поиске поверхностных центров регуляции их активности.

Также будут представлены результаты разработки и использования олигонуклеотидных микрочипов на различных носителях для идентификации генетических детерминант резистентности, относящихся к наиболее распространенным генам бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС) и карбапенемаз.

BACTERIAL RESISTANCE TO ANTIBIOTICS AND WAYS TO OVERCOME IT

Egorov A.M.[1,2], Rubtsova M.Yu.[1], Grigorenko V.G.[1]
[1]*Chemistry Faculty, M.V.Lomonosov Moscow State University, Moscow*
[2]*Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Moscow*

Increase in the number of infectious diseases caused by pathogenic bacteria, is an acute problem for the whole world, both developed and developing countries. They are often caused by antibiotic-resistant pathogens. Investigation of mechanisms of resistance to antibiotics is an important issue of modern microbiology.

Currently, the most commonly used antibiotics are beta-lactams, whose mechanism of action is to inhibit penicillin-binding proteins, and it breacks the cell wall synthesis. The most common mechanisms of resistance to beta-lactams is the synthesis of enzymes beta-lactamases that hydrolyze the beta-lactam ring of the antibiotic. According to its structure and substrate specificity, they are divided into several molecular classes which are further divided into different groups and subgroups. Beta-lactamases are highly mutable, which is a consequence of general biological mechanism of adaptation of microorganisms to antibiotics.

Novel approaches to overcoming resistance associated with the search for new inhibitors will be presented. Existing beta-lactamase inhibitors have quite a narrow specificity. The new approach consists in the analysis of the structural features of enzymes and finding surface centers of regulation of their activity.

The results of the development and validation of oligonucleotide microarrays on different supports for the identification of the genetic determinants of resistance related to the most common beta-lactamases of extended spectrum (ESBL) and carbapenemases will be also presented.

УДК 613.2:57.085

ПРОБЛЕМЫ ГЕННО-ИНЖЕНЕРНО-МОДИФИЦИРОВАННЫХ ОРГАНИЗМОВ: ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ И КОНТРОЛЬ

Тутельян В.А.
ФГБНУ «НИИ питания», 109240, Москва, Устьинский проезд, 2/14
e-mail: tutelyan@ion.ru

Обсуждаются основные направления использования биотехнологий, система оценки безопасности на этапе государственной регистрации новых линий ГМО в Российской Федерации, результаты контроля за оборотом ГМО на российском продовольственном рынке, проблемы контроля за новыми линиями ГМО.

Ключевые слова: генно-инженерно-модифицированные организмы, гмо, подходы к оценке безопасности ГМО, контроль за ГМО

В настоящее время в Российской Федерации применение высоких современных технологий, в частности, биотехнологии, в области создания продовольственной базы страны, является одним из государственных приоритетов. Целью развития биотехнологий является выход России на лидирующие позиции в области разработки биотехнологий, в том числе по отдельным направлениям биомедицины, агробиотехнологий, промышленной биотехнологии и биоэнергетики, и создание глобально конкурентоспособного сектора биоэкономики, который наряду с наноиндустрией и информационными технологиями должен стать основой модернизации и построения постиндустриальной экономики.

Использование биотехнологии в сельском хозяйстве ориентировано на стабильное развитие производства, получение высококачественных пищевых продуктов, решение проблем продовольственной безопасности, переработку отходов производства, восстановление плодородия почв.

За период с 1996 по 2014 гг. мировые площади посевов ГМ культур возросли более чем в 100 раз, достигнув 181,5 млн. га. В 2014 году ГМ культуры выращивали 28 стран, в том числе – 5 стран Европейского Союза. На национальном уровне системы оценки качества и безопасности ГМО созданы в 65 странах (37+28 стран ЕС) и с 1996 по 2014 год в разных странах было выдано 3083 разрешений на 357 линий ГМО (1458 разрешений – на пищевое использование, 958 – на использование при производстве кормов, 667 – на выращивание). Таким образом, доказательная база безопасности ГМО, представленных в настоящее время на мировом рынке, содержит исчерпывающие сведения [http://www.isaaa.org/].

Разработка системы оценки безопасности ГМО, действующей в Российской Федерации, была начата в 1995–1996 г.г. Данная система не только аккумулирует весь отечественный и зарубежный опыт, но и включает новейшие научные подходы, основанные на достижениях современной фундаментальной науки: геномный и протеомный анализ, выявление повреждений ДНК и мутагенной активности, выявление продуктов свободнорадикальной модификации ДНК и других чувствительных биомаркеров.

Российская система оценки безопасности ГМО в настоящее время является одной из самых строгих в мире. Начиная с момента формирования, российская система оценки безопасности ГМО включала обязательное проведение хронического токсикологического эксперимента длительностью не менее 180 дней, – такой подход был принят Европейским Союзом начиная с 2004 г., причем в ЕС длительность исследований составляет лишь 90 дней; начиная с 2011 г. оценка безопасности новых линий ГМО в рамках процедуры их государственной регистрации в России

включает также проведение исследований репродуктивной токсичности в экспериментах на поколениях животных.

В соответствии с действующей в России системой оценки безопасности ГМО растительного происхождения, 20 линий ГМО прошли полный цикл медико-биологических исследований за период с 1999 по 2015 г.г. (в экспериментах было использовано более 17 000 лабораторных животных, проведено более 160 000 анализов) и разрешены для использования в питании населения Российской Федерации.

Решение о государственной регистрации того или иного ГМО в Российской Федерации основано на совокупности результатов комплексной медико-биологической оценки безопасности; результатов оценки безопасности, послуживших основанием для регистрации в других странах; результатов пострегистрационного мониторинга в странах, уже использующих данный ГМО в питании населения; возможности организации эффективного контроля за обращением ГМО в России.

Подход к маркировке ГМ пищевой продукции осуществляется с учетом требований российской общественности и действующих международных норм. Маркировка, введенная в 1999 г. в качестве рекомендательной меры [Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации № 13 от 08.04.99 г.], уже к 2002 г. приняла обязательный характер. Установленный ею порог снизился с 5% в 2002 г. до 0,9% в 2007 г., став нормой, гармонизованной с аналогичной в странах Европейского Союза [СанПиН 2.3.2.2227–07, ФЗ «О внесении изменений в закон Российской Федерации «О защите прав потребителей» № 234-ФЗ от 25.10. 2007 г., Технический регламент ТС 022/2011].

В условиях общемировой тенденции увеличения использования ГМО растительного происхождения, система контроля за оборотом ГМО является гарантией обеспечения необходимого уровня безопасности страны. Система контроля за оборотом ГМО на продовольственном рынке Российской Федерации разработана на основании фундаментальных исследований, проведенных РАН, РАМН, РАСХН и внедрена в практику Роспотребнадзора, агропромышленного комплекса страны, таможенной службы и других заинтересованных ведомств.

Методическая база включает самые современные методы, основанные на проведении полимеразной цепной реакции (ПЦР), методе гибридизации на биологическом микрочипе, ПЦР в режиме реального времени, иммуно-флуоресцентном анализе. Только в 2003–2012 г.г. учреждениями системы Роспотребнадзора было проведено более 250 000 исследований пищевых продуктов с целью выявления ГМО.

Согласно результатам мониторинга за обращением ГМО на продовольственном рынке Российской Федерации распространенность таких продуктов за последние годы значительно снизилась: в 2003–2004 г.г., доля продукции из ГМО составляла 11–12% от всей продукции, имеющей ГМ аналоги, в 2010 году – 0,16%, в 2011 – 0,1%. Такая тенденция свидетельствует об отказе производителей от использования биотехнологического сырья, и замене полноценного растительного белка (сои) при производстве мясных и колбасных изделий на плохо усваиваемые соединительнотканные белки или крахмалсодержащие компоненты, что снижает пищевую ценность продуктов примерно на 20%. Принимая во внимание, что колбасные изделия традиционно являются существенным источником белка в структуре питания населения России (за первое полугодие 2011 г. было потреблено 1 175,3 тыс. тонн), отказ от использования биотехнологического сырья снижает потребление полноценного белка, в результате чего сильнее нарушается баланс белков/жиров/углеводов в рационе.

Следует принять во внимание, что в настоящее время существует определенный риск потери контроля за ГМО растительного происхождения, связанный с появлением на мировом продовольственном рынке ГМО 2-го поколения, которые не содержат регуляторные последователь-

ности (промотор 35S и терминатор NOS), на выявлении которых основана стратегия контроля за ГМО, применяемая в Российской Федерации. К началу 2015 уже более 30% ГМО растительного происхождения (среди которых соя, кукуруза, рапс, пшеница, рис, томаты, сладкий перец, баклажаны, дыня, тыква, подсолнечник, и др.) присутствующие на мировом продовольственном рынке, не содержат регуляторных последовательностей, и, следовательно, потенциально могут присутствовать на Российском продовольственном рынке и оставаться неидентифицированными в рамках рутинного контроля за оборотом ГМО. Для обнаружения и идентификации таких ГМО необходима, во-первых – информация о последовательности нуклеотидов, характерной для конкретного трансформационного события (такая информация не всегда находится в открытом доступе в сети Интернет), во-вторых – наличие стандартного образца конкретной линии ГМ растения (стандартные образцы состава и свойств производят только «The Institute for Reference Materials and Measurements» (IRMM), Европейский Союз, и «The American Oil Chemists' Society» (AOCS), США, и для многих линий ГМО стандартные образцы не созданы). Существующие в Российской Федерации тест-системы для выявления ГМО в пищевых продуктах (производства «Синтол» и «Интерлабсервис»), которые Роспотребнадзор использует для осуществления контроля за ГМО, охватывают только линии, содержащие промотор 35S и терминатор NOS (скрининг), или линии, прошедшие государственную регистрацию (идентификация трансформационного события). В соответствии с порядком государственной регистрации ГМО, предназначенных для пищевого применения (МУ 2.3.2.2306–07 «Медико-биологическая оценка безопасности ГМО растительного происхождения»), заявитель представляет методы идентификации, протоколы проведения анализов, праймеры, стандартные образцы состава и свойств.

Таким образом, отказ от государственной регистрации ГМО (введение запрета на регистрацию) приведет к практически полной невозможности контроля за биотехнологической продукцией 2-го и последующих поколений в течение ближайших 2-х лет. Только масштабная регистрация такой продукции позволит эффективно осуществлять контроль за обращением ГМО на рынке Российской Федерации.

ISSUES OF GENETICALLY MODIFIED ORGANISMS: SAFETY ASSESSMENT AND CONTROL

Tutelyan V.A.
FSBI «Institute of Nutrition», 109240, Moscow, Ust'inskii proezd, 2/14
e-mail: tutelyan@ion.ru

Keywords: genetically modified organisms, GMO, safety assessment approaches, control over GMO

The main directions of biotechnology using, the system of GMO new lines safety assessment at the stage of state registration in the Russian Federation, the results of control over the GMO circulation on the Russian food market, problems of control over the new GMO lines are discussed.

Dr Thomas R. Schneider
EMBL Hamburg Unit (European Molecular Biology Laboratory, Hamburg, Germany)

Since 2012, the EMBL beamlines for macromolecular crystallography are in operation on the PETRA III synchrotron in Hamburg, Germany.

The highly-brilliant X-rays delivered by PETRA III in combination with cutting-edge experimental stations allow to determine crystal structures of biological macromolecules routinely and at high resolution.

The beamlines are embedded in the 'Integrated Facility For Structural Biology' that provides services and expertise to external users for the entire crystal structure determination process from protein purification via crystallization and synchrotron data collection all the way to the construction of a structural model and its analysis.

We will illustrate current possibilities by discussing examples of crystal structure determinations for biotechnology and for basic biological research.

STRUCTURAL BIOLOGY WITH MODERN LIGHT SOURCES

Victor Lamzin
European Molecular Biology Laboratory, c/o DESY, Hamburg, Germany

Structural biology is being boosted with new large-scale infrastructures emerging around the world, novel techniques becoming available, and the spectrum of potential applications extending to as yet unthinkable levels. Impressive advances in high-flux synchrotron and free-electron laser radiation sources revolutionise the way we can visualise biological events, dynamics and processes. It becomes now possible to decipher structure and function of many molecular machines at an atomic level of detail. Two recently launched Russian-German initiatives in structural biology will be presented that aim at advancing towards translational research in the areas of major impact to human health, such as cancer and antibiotic resistance. The emphasis will be on the research activities in the development of protocols for biological sample preparation and quality control, novel approaches for sample delivery, and computational methods for the interpretation of the experimental diffraction data.

СЕКЦИЯ «БИОТЕХНОЛОГИЯ И МЕДИЦИНА»
SECTION "BIOTECHNOLOGY AND MEDICINE"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

МАКРОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ЛИЗОЦИМА И КАЗЕИНАТА НАТРИЯ

Антонов Ю.А.[1], **Журавлева И.Л.**
Институт Биохимической физики им. Н.М. Эмануэля, Российской академии наук,
Ул. Косыгина. 4. 119334 Москва, Российская Федерация.

Макромолекулярные комплексы лизоцима с полиэлектролитами и полиамфалитами играют важную роль в ферментативной активности лизоцима. Однако связывание лизоцима в комплекс с другими белками, структура и состав таких комплексов изучены недостаточно. Понимание движущих сил, определяющих самоагрегацию белка и последующие стадии, приводящие к построению надмолекулярных структур, является исключительно важным для контролирования их формы, размера, активности и других свойств. В данном исследовании связывание лизоцима казеинатом натрия (КН) в водных буферных растворах (pH 7.0), морфология комплексной системы, структура комплексных частиц и стабильность структуры белка в комплексе изучены методами турбидиметрии, динамического и статического светорассеяния, оптической, конфокальной микроскопии, и электронной микроскопии, флуоресценции, и кругового дихроизма. Установлено, что морфология комплексной системы, структура, эффективный заряд и растворимость комплексных частиц зависит от отношения зарядов противоионов комплексных частиц (ОЗ), и, поэтому, от весового отношения лизоцима и КН в смеси (q), ионной силы и pH. При ОЗ<0.35, когда поверхностный заряд (ζ) отрицателен, комплексообразование приводит к образованию относительно небольших монодисперсных частиц с гидродинамическим радиусом R_h=54 nm. При ОЗ от 0.35 до 1.0 эти частицы образуют разветвленную структуру. Максимальное связывание в комплекс имеет место при ОЗ=0.985, или q=1.2, что соответствует 26 молей лизоцима на 1 моль КН в комплексе. При относительно низком ОЗ (меньше 1) оба белка локализуются в комплексных частицах более менее равномерно, тогда как при более высоком ОЗ лизоцим формирует на переферии комплексных частиц высоко-концентрированный слой. Комплексоообразование приводит к значительной дестабилизации вторичной структуры белка в комплексе, и заметному изменению локальной третичной структуры лизоцима. Полученные комплексы могут рассматриваться как отдельный вид полиэлектролитных комплексных мицелл. Исследование имеет значение для инженерной терапии белковых наночастиц в области биомедицины и вносит существенный вклад в понимание принципов, определяющих взаимодействие белков.

MACROMOLECULAR COMPLEXES OF LYSOZYME AND SODIUM CASEINATE

Yurij A.Antonov, and Irina L. Zhuravleva
N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics,
Russian Academy of Sciences, Kosigin Str. 4. 119334 Moscow, Russia

Macromolecular complexes of lysozyme with polyelectrolytes and polyampholytes play an important role in enzymatic activity of lysozyme. However binding of lysozyme in complex with other proteins, structure and compositions of such complexes studied unsufficiently. Understanding the driving forces that trigger protein self-assembly and the successive steps leading to the building of supramolecular structures is of paramount importance for controlling their shape, size, activity and other properties. In present study binding of lysozyme bycaseinate (SC) in aqueous buffered solutions (pH 7.0), morphology of the complex system, structure of the complex particles, as well as structural stability of the proteins within the complex were investigated by several techniques, including turbidimetry, dynamic and static light scattering (DLS and SLS), optical, confocal and enviropment scanning electron microscopies, fluorescence, circular dishroism spectroscopy. The solution behavior, morphology of the complex system, structure, and effective charge of the formed complexes proved to be dependent on the $[Cat^+]/[An^-]$ charge ratio (ChR) of complex particles, and, therefore, by the lysozyme/caseinate ratio (q), ionic strength (I) and pH. At the ChR < 0.35, when the surface charge (ʒ) is negative, complexation leads to formation of a relatively small monodisperse spherical complex particles with the hydrodynamic radius R_h=54 nm. These particles form branch structure at the ChR from0.35 to1. The maximal binding of lysozyme with SC in complex take place at the ChR =0.985 or q=1.2, that correspond to 26:1 mole lysozyme/mole of SC. At a relatively low ChR (below 1.0) both proteins distributed more less uniformly within complex particles, whereas at a higher ChR, lysozyme form high concentrated layer on periphery of the complex particles. Complexation leads to considerable destabilization secondary structure of both proteins within complex and an appreciable changes in the local tertiary structure of lysozyme. The obtained protein complex can be viewed as a kind of special polyelectrolyte complex micelle. Our present work may have implications for the nanoparticle protein engineering therapy in the biomedicine field and may provide a better understanding of the principles governing the protein–protein interactions.

УДК 621.039.75

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ДЕВИТАЛИЗИРОВАННОГО ПЕРИКАРДА В КАЧЕСТВЕ ПЛАСТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ КАРДИОХИРУРГИИ

Бритиков Д.В., Муратов Р.М., Цыганков Ю.М., Серов Р.А., Городков А.Ю.
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научный центр сердечно-сосудистой хирургии имени А.Н. Бакулева»,
Москва, Россия 121552, Рублевское шоссе, 135. e-mail: dbritikov@mail.ru

Разрабатываются образцы биоматериала для замещения дефектов перикарда, пластики дефектов при врожденных пороках сердца. Наилучший результат показывает аллогенный перикард, обработанный методами тканевой инженерии с использованием ЭДТА и дигитонина.

Ключевые слова: аллогенный перикард, ксеноперикард, девитализация, глутаровый альдегид, биосовместимость.

Цель работы. Экспериментальная оценка использования девитализированного методами тканевой инженерии перикарда в качестве пластического материала в кардиохирургии.

Материал и методы исследования. Материал – ксеноперикардиальные пластины и пластины из глиссоновой капсулы. Обработка – ГА, ЭДТА и дигитонин, дезоксихолат натрия. Методы исследования – подкожная имплантация крысам, наложение образцов биоматериалов на перикард, гистологическое исследование. Упруго-прочностные свойства определялись на разрывной машине. **Результаты.** Обработка ДОА вызвала выраженную воспалительную реакцию на пересаженный материал. Образцы, девитализированные ЭДТА и дигитонином оказались инертными и отторжения не вызывали. Контрольные образцы ксеноперикарда и глиссоновой капсулы печени показали утолщение с развитием выраженного процесса инкапсуляции. Упруго-прочностные свойства не ухудшались. Выводы. Девитализация ЭДТА и дигитонином позволяет получить биосовместимые пленки, которые могут использоваться в кардиохирургии. Обработка дезоксихолевой кислотой сохраняет остаточную токсичность. Обработка ГА ксеноперикарда и глиссоновой капсулы показала фиброз и инкапсуляцию.

1. Патент RU (11) 2291675 (13) C2, 20.01.2007.
2. Бритиков Д.В.Криосохраненные аллографты для сердечно-сосудистой хирургии: дис.... докт. мед. наук. – М, 2004.— 250 с.

UDC 621.039.75

EXPERIMENTAL EVALUATION OF USAGE DECELLULARIZED PERICARDIUM AS A PLASTIC MATERIAL FOR CARDIOVASCULAR SURGERY

Britikov D.V., Muratov R.M., Tsygankov Y.M., Serov, R. A., Gorodkov A.Y.
Federal state budget scientific center "Scientific center for cardiovascular surgery named A.N. Bakulev", Moscow, Russia
121552, Rublyovskoye highway 135. E-mail: dbritikov@mail.ru

Samples of biomaterial developed for replacement of defects of the pericardium, surgical treatment of congenital heart diseases. The best result shows allogeneic pericardium treated by the methods of tissue engineering using EDTA and digitonin.

Keywords: allogeneic pericardium, bovine pericardium, bovine Glisson capsule, decellularization, glutaric aldehyde, biocompatibility.

The purpose of the work. Experimental evaluation usage decellularized pericardium by tissue engineering methods as a plastic material surgery.

Material and methods. Material – allogeneic pericardial and bovine pericardial plates and plates of bovine Glisson capsules. Treatment – glutaric aldehyde, EDTA, digitonin, sodium deoxycholate. Research methods – subcutaneous implantation in rats, the imposition of samples of biomaterials on the pericardium, histological examination. Mechanical properties were determined on a tensile testing machine. **Results.** Treatment of sodium deoxycholate caused a pronounced inflammatory response in the transplanted material. Samples decellularized EDTA and digitonin was inert and rejection is not caused. Control samples of bovine pericardial and bovine Glisson capsules showed thickening with the development of an explicit process of encapsulation. Elastic-strength properties are not deteriorated. **The conclusions.** Decellularization of EDTA and digitonin allows obtaining biocompatible film that can be used in cardiac surgery. Sodium deoxycholate treatment retains residual toxicity. Glutaric aldehyde treatment of bovine pericardial and glisson capsule showed fibrosis and encapsulation.

1. Patent RU (11) 2291675 (13) C2, 20.01.2007.
2. Britikov D.V.Kryopreserved allografts for cardiovascular surgery: dis....prof. of medical sciences. – M., 2004. – 250 p.

МЕТОДЫ СКАНИРУЮЩЕЙ ЗОНДОВОЙ МИКРОСКОПИИ И СПЕКТРОСКОПИИ ДЛЯ МЕДИЦИНСКОЙ ДИАГНОСТИКИ

Быков В.А.
Группа предприятий «НТ-МДТ», ФГУП НИИФП им. Ф.В. Лукина,
кафедра микроэлектроники ФФКЭ МФТИ, Зеленоград, Москва
e.mail: vbykov@ntmdt.ru

До последнего времени СЗМ относилась к числу эксклюзивных методов, требующих как для получения данных, так и для их интерпретации специальных знаний и навыков, что сдерживает широкое распространение метода. Это имеет особенно большое значение для применения методов СЗМ в медицине, где необходимо дать инструменты, позволяющие медицинскому персоналу, как правило, не обладающему необходимым естественнонаучным и инженерным образованием оперативно производить необходимые исследования.

В последние годы как у нас в стране, так и за рубежом [1–3] проведены исследования, показывающие перспективность применения методов атомно-силовой микроскопии в диагностики рака. Показано, что жесткость клеток, обусловлена структурой актинового скелета для здоровых и опухолевых клеток значительно различается. При этом модуль Юнга может меняться в диапазоне 50–80% – опухолевые клетки значительно более мягкие. Более того, показано, что при обработке трипсином модуль Юнга нормальных клеток снижается (на 70%), а опухолевых возрастает (на 70%), что, при измерениях модуля Юнга в жидкостных ячейках позволяет значительно повысить достоверность диагностики [1].

С целью облегчить измерения топографии, вязкоупругих свойств, включая быстрое и эффективное измерение модуля Юнга одновременно с топографическими измерениями разработан новых контроллер, создан и интегрирован в программное новый метод сканирующей зондовой микроскопии "HybriD", позволяющий одновременно измерять рельеф, модули упругости, распределение сил адгезии, работы сил адгезии, вязкоупругие и электрические свойства поверхностных структур.

Появилась возможность работать как с отдельными, в том числе специализированными кантилеверами, так и использовать кантилеверный картридж, представляет собой многозондовый датчик контурного типа, содержащий 38 кантилеверов. Выбор действующего кантилевера осуществляется программно с оптическим контролем. Замена картриджа осуществляется вручную и не является сложной процедурой. Для работы с картриджами созданы специальные измерительные головки, которые интегрируются в новые приборы компании.

Для прецизионного качественного анализа создаются приборы линии ИНТЕГРА-СПЕКТРА, позволяющие работать в режимах Рамановской и ИК-спектроскопий нанометрового разрешения в комбинации с атомно-силовой микроскопией.

Литература:

1. Ефремов Ю.М., диссертация на соискание ученой степени к.б.н.: Исследование механических свойств клеток и структуры цитоскелета методами атомно-силовой микроскопии. Биофак МГУ, декабрь, 2014 год;

2. Yu.M. Efremov, M.E. Lomakina, D.V. Bagrov, P.I. Makhnovskiy, A.Y. Alexandrova, M.P. Kirpichnikov, K.V. Shaitan Mechanical properties of fibroblasts depend on level of cancer transformation// Biochimica et biophysica acta V. 1843 (5), p. 1013–1019. – 2014.

3. Swaminathan V. и др. Mechanical stiffness grades metastatic potential in patient tumor cells and in cancer cell lines // Cancer Res. 2011. T. 71. № 15. C. 5075–5080.

METHODS OF SCANNING PROBE MICROSCOPY AND SPECTROSCOPY FOR MEDICAL DIAGNOSTICS

V.A. Bykov
NT-MDT Co., NIIFP named after F.V. Lukin, Microelectronics subdepartment of Faculty of Physical and Quantum Electronics in MIPT, Zelenograd, Moscow
e-mail: vbykov@ntmdt.ru

Until very recently, Scanning Probe Microscopy (SPM) has been a quite complicated technique that required high-level skills and knowledge both in data acquisition and in their interpretation. This significantly limited SPM in its use on the regular basis. An important area suffering from this complication is medicine that requires instruments of near real-time analysis for personnel not educated in engineering or science.

For recent years, a number of studies in Russia and worldwide [1–3] demonstrated promising prospects of the Atomic Force Microscopy methods in applications related to cancer diagnostics. It was shown that cell stiffness due to the structure of the actin skeleton is considerably different for normal and tumor cells. The Young's modulus of the cells can vary in the range of 50–80%, with the tumor cells being much softer. Moreover, treatment by trypsin provides change of the Young's modulus reducing it for normal cells (by 70%) and increasing for tumor increases (by 70%), thus allowing for significantly improved accuracy of diagnosis by data collected by measurements of the Young's modulus in liquid cells [1].

To facilitate measurements of topography and viscoelastic properties (including rapid and efficient measurement of young's modulus simultaneously with topographic measurements), a new dedicated controller has been developed, and the instrumentation software has been extended with a new Scanning Probe Microscopy mode (called "HybriD") capable to measure simultaneously topography, modules of elasticity, adhesion force distribution, adhesion work distribution, and a number of viscoelastic and electrical properties of surface structures.

This offers the opportunity to operate both with individual (including dedicated) cantilever and with a cantilever cartridge, which is a multi-probe sensor of contour type containing 38 cantilevers. A cantilever to operate is selected by a control program using optical feedback. A cartridge can be exchanged manually through a simple procedure. The cartridges are insertion devices for newly developed measuring heads, which integrate in the latest instruments of our Company.

For precise qualitative analysis, the instruments of the NTEGRA-SPECTRUM series are developed and customized to operate in the Raman and IR spectroscopy modes of nanometer resolution in combination with the atomic force microscopy.

REFERENCES:

1. Yu.M. Efremov, Ph. D. thesis in Biology, Investigation of mechanical properties of cells and the structure of the cytoskeleton by atomic force microscopy. Faculty of Biology, Moscow State University, December, 2014.

2. Yu.M. Efremov, M.E. Lomakina, D.V. Bagrov, P.I. Makhnovskiy, A.Y. Alexandrova, M.P. Kirpichnikov, K.V. Shaitan Mechanical properties of fibroblasts depend on level of cancer transformation// Biochimica et biophysica acta V. 1843 (5), p. 1013–1019. – 2014.

3. Swaminathan V. и др. Mechanical stiffness grades metastatic potential in patient tumor cells and in cancer cell lines // Cancer Res. 71 (15), p. 5075–5080 – 2011.

УДК 612.119

РОЛЬ СИГНАЛЬНЫХ КАСКАДОВ В РЕАКЦИЯХ СИСТЕМЫ КРОВИ НА ДЕЙСТВИЕ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ФАКТОРОВ

Дыгай А.М., Жданов В.В., Зюзьков Г.Н., Удут Е.В., Мирошниченко Л.А., Симанина Е.В., Хричкова Т.Ю., Ставрова Л.А., Чайковский А.В., Минакова М.Ю.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга», Томск, Россия 634028, г. Томск, пр. Ленина, 3

e-mail: zhdanov_vv@pharmso.ru

Изучены общие закономерности и особенности сигнальной трансдукции в регуляции кроветворения при действии различных экстремальных факторов. Показано, что во внутриклеточной передаче сигнала в условиях равновесного кроветворения и при действии на организм экстремальных факторов задействованы различные сигнальные молекулы.

Ключевые слова: Гемопоэз, кроветворное микроокружение, регуляция, сигнальные молекулы

Важную роль в регуляции системы крови при возмущающих воздействиях играют элементы кроветворного микроокружения с продуцируемыми ими цитокинами. В выработке данных веществ принимает участие целый ряд сигнальных каскадов, знание роли отдельных компонентов которых необходимо для разработки новых способов и средств для коррекции гематологической патологии.

Цель исследования. Определить общие закономерности и особенности сигнальной трансдукции в регуляции кроветворения при действии различных экстремальных факторов.

Материал и методы. Эксперименты выполнены на мышах линий CBA/CaLac и C57Bl/6. Использованы гематологические, культуральные, иммунологические методы исследования.

Результаты. Показано, что в физиологических условиях фармакологическое выключение определенных сигнальных каскадов, участвующих в регуляции кроветворения, компенсируется параллельно функционирующими путями трансдукции. Исследования, проведенные на различных моделях патологии системы крови, позволили установить, что гиперплазия костномозгового гранулоцитопоэза в условиях иммобилизационного стресса развивается при участии NF-κB-зависимого и альтернативного протеинкиназного сигнального пути. Превалирующее значение в повышении митотической активности эритроидных клеток при кровопотере принадлежит протеинкиназе p38 прекурсоров эритропоэза, а PI3K-путь является основным в контроле продукции клетками микроокружения гуморальных регуляторов эритропоэза. При цитостатических миелосупрессиях, приводящих к нарушениям межклеточных взаимодействий, определяющим для гемопоэтической репарации является спектр секретируемых клетками кроветворного микроокружения гуморальных субстанций, в продукции которых ведущую роль играет p38 MAP-киназный сигнальный путь. Полученные результаты свидетельствуют о том, что процессы пролиферации и дифференцировки кроветворных клеток, а также продукция элементами ГИМ гуморальных регуляторов кроветворения при действии на организм различных по своей природе экстремальных факторов, реализуются при участии сигнальных путей, отличных от участвующих в трансдукции регуляторных сигналов в условиях равновесного кроветворения.

ROLE OF SIGNALING CASCADES IN RESPONSE OF BLOOD SYSTEM TO INFLUENCE OF EXTREME FACTORS

Dygai A.M., Zhdanov V.V., Zyuz'kov G.N., Udut E.V., Miroshnichenko L.A., Simanina E.V., Khrichkova T.Y., Stavrova L.A.Chaykovskiy A.V., Minakova M.Y.
Federal State Budgetary Scientific Institution "Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine named after E.D. Goldberg", Tomsk, Russia
634028 , Tomsk, Lenin av., 3
e-mail: zhdanov_vv@pharmso.ru

General regularities and specifics of signal transduction in regulation of hematopoiesis were studied under the influence of various extreme factors. Different signaling molecules were shown to be involved in intracellular signal transduction at equilibrium hematopoiesis and under influence of extreme factors on the body.

Keywords: hematopoiesis, hematopoietic microenvironment, regulation, signaling molecules

Hematopoietic microenvironment elements with cytokines produced by them are considered to play an important role in the regulation of blood system under disturbing effects. A number of signaling cascades is involved in the secretion of these substances. To develop new methods and drugs for correcting the hematological pathology is necessary to know certain components of these cascades.

The aim of the study is to identify general regularities and particularities of signal transduction in regulation of hematopoiesis under different extreme actions.

Material and methods. Experiments were carried out in mice of CBA/CaLac and C57BL/6 strains. Hematological, cultural and immunological methods were used in the study.

The Results. Pharmacological blockade of certain signaling cascades involved in the regulation of hematopoiesis at physiological conditions was found to be compensated by parallel functioning pathways of transduction. Studies, conducted on different models of pathology of the blood system, have revealed that hyperplasia of bone marrow granulocytopoiesis under immobilization stress is developed with the participation of NF-kB-dependent and alternative protein kinase signaling pathway. Protein kinase p38 of erythropoiesis precursors plays the main role in increase of mitotic activity of erythroid cells under blood loss. RI3K was shown to be the main pathway in the control of production of humoral regulators of erythropoiesis by cells of microenvironment. Spectrum of humoral substances secreted by hematopoietic microenvironment cells, in the production of which p38 MAP kinase signaling pathway played leading role, was demonstrated to be determining for hematopoietic reparation under cytostatic myelosuppressions leading to the disruption of cell interactions. The obtained results proves proliferation and differentiation of hematopoietic cells and production of humoral regulators of hematopoiesis by HIM elements under influence of inherently various extreme factors on the body were realized with the participation of signaling pathways which differ from those participating in the transduction of regulator signals at equilibrium hematopoiesis conditions.

УДК 579.8.043: 615.33.015.46

РЕГУЛЯЦИЯ ФОРМИРОВАНИЯ МИКРОБНЫХ БИОПЛЕНОК КАК ПЕРСПЕКТИВНОЕ НАПРАВЛЕНИЕ БИОТЕХНОЛОГИИ И МЕДИЦИНЫ

Ганнесен А.В.[1], Мартьянов С.В.[2], Журина М.В.[2], Плакунов В.К.[2], Нетрусов А.И.[1]

[1]*Биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия. 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12.*

[2]*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского Российской академии наук, Москва, Россия. 117312, г. Москва, Проспект 60-летия Октября, д. 7, корп. 2.*

e-mail: Zxattogua@gmail.com

Изучен процесс управления формированием биопленок у ряда бактерий. Как инструменты исследования использованы ингибитор трансляции – антибиотик азитромицин, в низких, субингибиторных концентрациях стимулирующий рост биопленок, и ауторегуляторный фактор – 4-гексилрезорцин, снимающий эффект стимуляции. Показана ключевая роль системы «quorum sensing» в этих процессах.

Ключевые слова: регуляция формирования биопленок, азитромицин, 4-гексилрезорцин

Большинство микробных популяций в природных условиях существуют в виде структурированных сообществ – биопленок. Изучение биопленок имеет большое значение для фундаментальной микробиологии (расшифровка межклеточных взаимодействий и роли микробов в биогеохимических процессах), для медицины (борьба с хроническими инфекциями, обрастанием имплантов и т.д.) и для биотехнологии (процессы очистки сточных вод, биоремедиации почв и т.д.). Управляемый рост биопленок может способствовать их эффективному применению в решении указанных задач. Показано, что при воздействии субингибиторных концентраций макролидного антибиотика азитромицина наблюдается стимуляция роста биопленок *Pseudomonas chlororaphis* и *Chromobacterium violaceum*. Нарушение у этих бактерий системы quorum sensing методами генной инженерии или мутагенеза приводит к снижению способности этих бактерий формировать биопленки и предотвращает стимуляцию их роста азитромицином. Аналогичное подавляющее действие оказывает ауторегуляторный эффектор – 4-гексилрезорцин (4-ГР), который может рассматриваться как перспективный антибиопленочный агент. 4-ГР оказывает аналогичное действие на грамположительне сапротрофные бактерии (Dietzia natronolimnaea, Kocuria rhizophila и *Rhodococcus equi*).

Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант № 13-04-01145

UDC: 579.8.043: 615.33.015.46

REGULATION OF MICROBIAL BIOFILMS FORMATION AS A PERSPECTIVE APPROACH FOR MEDICINE AND BIOTECHNOLOGY

Gannesen A.V.[1], Mart'yanov S.V.[2], Zhurina M.V.[2], Plakunov V.K.[2], Netrusov A.I.[1]
[1]*Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia. Leninskie gory, 1-12, 119234*
[2]*Federal State Institution of Science Winogradsky Institute of Microbiology of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia. Prospect 60-letiya Octyabrya, 7-2, Moscow, Russia, 117312.*
e-mail: Zxattogua@gmail.com

The process of managing the biofilm grow has been studied for several microorganisms. Macrolide antibiotic azithromycin (translation inhibitor) and 4-hexylresorcinol (autoregulation factor) were used as molecular tools during the research. Low subinhibitory concentrations of azithromycin stimulate biofilm grow. 4-Hexylresorcinol eliminated this effect. The critical role of the "quorum sensing" system has been shown.

Keywords: regulation of biofilm formation, azithromycin, 4-hexylresorcinol

Most microbial populations in nature exist in the form of structurally organized communities – biofilms. The biofilms research is an important area in fundamental microbiology for understanding the participation of microbes in biogeochemical processes and for recognition of interactions between microbial cells. These studies are needed to medicine for fighting against chronic diseases and artificial implants fouling. Finally, it's essential in biotechnology for wastewater treatment, soil bioremediation etc. The control of biofilm growth is an effective mean to solve these problems. We have shown that biofilm formation is stimulated by subinhibitory concentrations of macrolide antibiotic azithromycin. The interruption of the quorum sensing system via genetic engineering methods in case of *Pseudomonas chlororaphis* and *Chromobacterium violaceum* prevents this effect and suppresses the ability of microorganisms to form biofilms. The same suppressive effect appears autoregulation factor – 4-hexylresorcinol (4-HR), which may be considered as a perspective antibiofilm agent. 4-HR impacts similarly on some gram-positive saprotrophic bacteria: Dietzia natronolimnaea, Kocuria rhizophila and *Rhodococcus equi*).

The work was supported by the Russian Foundation for Basic Research (project no. 13-04-01145).

УДК 612.133

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СМЕРЧЕВЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В ИССЛЕДОВАНИЯХ, ДИАГНОСТИКЕ И ИЗГОТОВЛЕНИИ ИМПЛАНТАТОВ ДЛЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ ХИРУРГИИ

Бокерия Л.А., Кикнадзе Г.И., Городков А.Ю.
ФГБНУ «Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева», Москва, Россия
121552, Москва, Рублевское ш, д. 135
e-mail: agorodkov@bk.ru

Разработан новый подход к количественному анализу гидродинамической структуры потока крови в транспортном сегменте системы кровообращения, основанный на использовании точных решений нестационарных уравнений гидродинамики для класса самоорганизующихся смерчеобразных течений вязкой жидкости. Приведены примеры использования этого подхода для анализа состояния потока крови, моделирования внутрисердечного потока, конструирования имплантатов для сердечно-сосудистой хирургии, контактирующих с потоком крови.

Ключевые слова: сердце, магистральные сосуды, смерчеобразный поток крови, имплантаты для сердечно-сосудистой хирургии.

Сердечно-сосудистая хирургия – сравнительно молодая отрасль медицины, с момента возникновения оказавшаяся инициатором и основным потребителем огромного количества научных и технологических инноваций, без которых невозможно себе представить современную медицину. Это искусственное и вспомогательное кровообращение, протезы клапанов сердца, современные методы диагностики, электрофизиологические исследования и т.д. Поэтому неудивительно, что недавно появившиеся смерчевые технологии, используемые в технике для снижения гидродинамического сопротивления и интенсификации тепломассообмена, также оказались востребованными в сердечно-сосудистой хирургии.

Разработка и целенаправленное использование смерчевых технологий стали возможными после появления в 1986 г. точных решений уравнений Навье-Стокса и неразрывности для класса самоорганизующихся квазипотенциальных смерчеобразных течений вязкой жидкости, позволяющих на количественном уровне описывать закрученные течения определенной конфигурации [1].

Точные решения уже были использованы для расчета конструкций ряда технических устройств, отличающихся значительным выигрышем в функциональных характеристиках.

Многочисленные экспериментальные и теоретические исследования, проведенные в НЦССХ ими. А.Н. Бакулева позволили идентифицировать течение крови в транспортном сегменте системы кровообращения с этим классом потоков и применить точные решения для количественного анализа структуры потока крови.

Высокая степень соответствия, обнаруженная в этих работах, позволила инициировать новое научное направление в теоретической и прикладной физиологии кровообращения и использовать результаты проведенных исследований в сердечно-сосудистой хирургии для разработки новых методов диагностики и лечения болезней сердца и сосудов.

Так предложен принципиально новый подход к количественному анализу потока крови в камерах сердца и магистральных сосудах на основе новых критериев, отражающих состояние смерчеобразной струи, формируемой в сердце. Эти параметры могут быть измерены и рассчитаны при рутинном обследовании пациентов. Показано, что динамика изменения этих параметров адекватно отражают ожидаемые изменения потока крови у пациентов со сниженным сердечным выбросом.

Соотношения, полученные из точных решений, позволяют оптимизировать конструкции многих имплантируемых и вспомогательных паракорпоральных устройств, контактирующих с потоком крови. В результате была сформулирована новая концепция конструирования имплантируемых протезов клапанов сердца. Клапан для аортальной позиции был разработан и защищен патентом. Изготовленная модель была испытана стандартными гидродинамическими методами и в специально разработанном стенде, генерирующем смерчеобразную струю. Доказано, что только клапан указанной конструкции не оказывает на смерчеобразную струю разрушающего воздействия. Имплантация этого клапана в эксперименте впервые показала возможность использования механического протеза клапана сердца без антикоагулянтов. У пациента клапан такой конструкции функционирует уже более трех лет.

Исследования и разработки на основании смерчевых технологий открывают широкие перспективы для дальнейших исследований. В настоящее время уже разрабатываются проекты гидродинамически совместимых имплантатов – протеза митрального клапана и протеза кровеносного сосуда. В скором времени начнется разработка конструкции вспомогательного желудочка и искусственного сердца.

USE TORNADO TECHNOLOGIES IN RESEARCH, DIAGNOSTICS AND IMPLANT MANUFACTURING FOR CARDIOVASCULAR SURGERY

L.A.Bokeria, G.I. Kiknadze, A.Yu. Gorodkov
FGBNU "Scientific Center of Cardiovascular Surgery them. AN Bakuleva "

Cardiovascular Surgery – a relatively young branch of medicine, is the initiator and the main consumer of the vast amount of scientific and technological innovation. There are artificial heart and circulatory assist devices, prosthetic heart valves and blood vessels, modern diagnostic methods, electrophysiological studies, etc. Recently appeared tornado technology, successfully used in technical devices to reduce drag and intensification of heat and mass transfer, may be also applied in the cardiovascular surgery.

Development and purposeful use of the tornado technologies became possible after the receipt in 1986 of exact solutions of the Navier-Stokes and continuity equations for a class of self-organizing quasipotential tornado-like viscous flows, allowing quantitative description of the velocity and pressure fields of the swirling flow of a certain configuration [1].

Numerous experimental and theoretical studies performed in the Bakulev Research Center for Cardiovascular Surgery allowed the identification the flow of blood in the transport segment of the circulatory system with this class of flows and apply the exact solution for the quantitative analysis of the structure of blood flow. The results obtained in these studies allowed to initiate a new research direction in theoretical and applied physiology of circulation and use basis of Tornado-technology to develop new methods of diagnosis and treatment of cardiovascular surgery.

Thus a fundamentally new approach was proposed to quantify the analysis of blood flow in the flowing chambers of the heart and great vessels, based on the new parameters, reflecting the state of tornado-like jet formed in the heart. These parameters can be measured and calculated in the routine examination of patients.

Relations obtained from the exact solution, allows the optimization of design of the implantable and auxiliary paracorporal devices contacting with the blood flow. Thus a new mechanical aortic valve prosthesis was worked out. It has been tested with standard hydrodynamic methods, and in a specially designed bench that generates tornado-like jet. It has been proved that the new valve design is the only valve prosthesis among several contemporary models that supports the tornado-like jet generated in the bench.

In vivo Implantation of the valve in pig showed the possibility of using a mechanical prosthesis without any anticoagulants. The valve was implanted in one patient with critical aortic insufficiency. The follow up period now is more than three years.

The development of the tornado technologies open up a broad perspective for the future research of circulation physiology. At present, new hydrodynamic compatible implants are being developed – prosthetic mitral valve prosthesis and the blood vessel. We are planning to develop a new design of the auxiliary ventricle and artificial heart, supporting the structure of Tornado-like flows.

1. Kiknadze G.I., Krasnov Y.K.Evolution of a Spout-like Flow of a Viscous Fluid. Sov. Physics Dokl. 1986, 31(10): 799-801.

УДК 612.577.21.60

ОТ ГЕНОМА И ГЕНОМИКИ К КОННЕКТОМУ И КОННЕКТОМИКАМ

Грибанов Г.А.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение ВПО Тверской государственный университет,
Россия, г. Тверь, ул. Желябова, 33.
E-mail: naukoved@tversu.ru

Кратко рассмотрены особенности становления исследований по коннектому и коннектомике(ам), терминологии и соотношения их с геномикой, протеомикой, метаболомикой и др. Изложены некоторые предложения по усилению внимания к изучению различных аспектов коннектомов и коннектомик разных организмов и их структур.

Ключевые слова: коннектом, коннектомики, временная коннектомика, биоинформатика, терминология, история открытий.

Конец XX в. и начало XXI века ознаменованы появлением и бурным развитием новых научных направлений в области молекулярной биологии, биотехнологии, биоинформатики, информационных технологий и др., посвященных исследованию тонких молекулярных и информационных механизмов функционирования биологических систем разного уровня сложности. Появились и десятки синтетических т.н. «омиковых » дисциплин, получивших название по первичному объекту исследований (геном-геномика, протеом-протеомика, метаболом-метаболомика и др.). Как и другие новейшие направления коннектомику также можно считать новым разделом биоинформатики и системной биологии. Термин коннектом (от англ.connect–соединять, связывать) предложили Sporns O. и Hagmann P. в 2005 г.(5,6). А первый коннектом был описан еще в 1986 г. при расшифровке генома нематоды Caenorhabditis elegans, тогда же одновременно был картирован и его коннектом (302 нейрона и более 5000 синапсов) (7). Им обозначили полное описание структуры связей в нервной системе организма. С тех пор коннектомикой называют компьютерный анализ строения естественных нейронных сетей, своего рода картографирование нейронных связей. В 2009 г. Национальный институт здоровья США начал изучение коннектома человека (нейронов свыше 86 миллиардов и 10^{14}–10^{15} межнейронных связей) (2). В работе приняли участие учёные десяти исследовательских центров США и Европы. При реализации проекта были активно использованы новейшие технологии «визуализации мозга» (ФМРТ, ПЭТ, информационные технологии и др.). Цель его – дать как можно более точное картографирование связей и активности человеческого мозга и, тем самым, получить возможность нормализации деятельности больного или поврежденного мозга, более точной диагностики, персонализации лечения, создания искусственного интеллекта. Уже сегодня многие заболевания нервной системы считаются коннектопатиями. Сравнительно недавно (2013 г) в США разработали мегапроект по изучению структуры и коннектома мозга человека «Human Connectome Project» (HCP), который является более амбициозным, чем изучение генома. Один из участников проекта HCP С.Сеунг (8) считает, что коннектом не может функционировать без генома. По его мнению, каждый из нас больше, чем наш геном, мы – это наш коннектом. В его формировании важное значение имеет и повседневная жизнь. Иначе говоря, если геном относительно постоянен, то коннектом является непрерывно меняющейся системой. В связи с этим представляется возможным формулирование нового направления – временная коннектомика. Уже выделяют микроконнектомику, региональную, функциональную и т.п. коннектомики. По сложности задач изучение коннектомов и коннектомик значительно труднее, чем исследовапние генома и геномов. Известный российский нейробиолог К.В.Анохин (1) полагает, что когнитивные спо-

собности мозга определяются функционированием нейросинаптических структур, а когнитом является составной частью коннектома мозга. Некоторые новые представления о роли нейросинаптических структур в функционировании и гибели мозга были представлены нами ранее (3,4). Ряд иностранных и отечественных ученых, крупных исследовательских центров проводят разработку математических и виртуальных моделей функционирования биологических систем разного уровня (от сборки белка на рибосоме, электронной клетки до коннектомов живых объектов (2,9). Некоторые исследователи отмечают, что такие исследования крайне затратны в энергетическом, технологическом, и в инвестиционном плане. Нужны высокопрофессиональные кадры, способные решать эти сложнейшие проблемы, новая приборно-аналитическая база, новые технологии. Учитывая крайне быстрое развитие этих фундаментальных научных направлений в мире и серьезное отставание РФ в них, полагаю целесообразным развивать всемерное межгосударственное научное сотрудничество в этих областях знаний через систему РАН, соответствующие научных центры. При условии целевого финансирования возможна разработка и собственной российской программы «Коннектом живых систем», тем более, что предпосылки к этому имеются (1,2). Министерству образования и науки РФ в кратчайшие сроки через свои УМО необходимо ввести изучение этих новых научных направлений в учебные программы подготовки биотехнологов, биологов, химиков, медиков, психологов, а также специалистов в области информационных технологий для биотехнологии, биологии, нейробиологии, психологии, медицины.

Список литературы

1. Анохин К.В.Мозг и сознание. m2ts. Коды мозга.video

2. Пальянов А.Ю., Пальянова Н.В., Хайрулин С.С.О проблемах моделирования нейронных сетей живых организмов. // Вестн.НГУ, сер. Информ.технол. – 2012, – т.10, – вып.3, – С.46–57.

3. Грибанов Г.А.О молекулярно-биохимических механизмах мышления (нейросинаптическая структурно-энерго-информационная концепция формирования мысли). // Психолого-педагогические аспекты многоуровневого образования. – Тверь, – 1997, – т. 9, – С. 116–127.

4. Грибанов Г.А.Новые концептуальные подходы к оценке смерти мозга. Нейросинаптическая структурно-энерго-информационная концепция смерти мозга. // «Психолого-педагогические аспекты многоуровневого образования. – Тверь, – 2002, – т.14, – С. 165–176.

5. Sporns O., Tononi G., Kötter R. The human connectome: A structural description of the human brain. // PLoS Computational Biology, 2005, – 1, – e 42.

6. Hagmann P. From diffusion MRI to brain connectomics [PhD Thesis]. Lausanne: Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL).2005, 127 P.

7. White J.G., Southgate E., Thomson J.N., Brenner S. The Structure of the Nervous System of the Nematode Caenorhabditis Elegans // Phil. Trans. Royal Soc. L., 1986. B 314. P. 1–340.

8. Сеунг С. Коннектом. Как мозг делает нас тем, что мы есть. М., БИНОМ. Лаборатория знаний. 2014, 440 с.

9. Shankland S., 2005: http://news.cnet.com/Lab-computer-simulates-ribosome- in- motion/2100-11395_3-5907401.html.

FROM THE GENOME AND GENOMICS TO CONNECTOME AND CONNECTOMICS

Gribanov G.A.
Federal state budgetary HP educational institution,
Russia, Tver state university, Tver, Zhelyabov St., 33. E-mail: naukoved@tversu.ru

Transitory of formation of researches on connectome and connectomics, terminology and their ratio with genomics, proteomic, metabolomic etc. are briefly considered. Some offers on attention strengthening to studying of various aspects connectome and connectomics different organisms and their structures are stated.

Keywords: connectome, connectomics, temporary connectomics, bioinformatics, terminology, history of discovery.

The end of the XX century and the beginning of the XXI century are marked by emergence and rapid development of the new scientific directions in the field of molecular biology, biotechnology, bioinformatics, information technologies, etc., the devoted research thin molecular and information mechanisms of functioning of biological systems of different level of complexity. There were also tens synthetic so-called "omicov" of the disciplines which have received the name on primary object of researches (a genome – genomics, proteom-proteomics, a metabolom-metabolomics, etc.). The term connection (from English connect – to connect) was offered by Sporns O. and Hagmann P. in 2005 (5,6). And the first was described by connectome in 1986, at interpretation of a genome of a nematode of Caenorhabditis elegans, then it was at the same time mapped also by his connectome (302 neurons and more than 5000 synapses) (7). To them designated a complete description of structure of communications in nervous system of an organism. Since then connectomics call the computer analysis of a structure of natural neural networks, some kind of mapping of neural communications. The National institute of health of the USA in 2009 began studying connectome the man (neurons over 86 billions and 10^{14}–10^{15} interneural communications). At realization of the project the modern technologies of "brain visualization" (FMRT, PET, information technologies, etc.) were actively used that allowed to collect a huge number of data. Its purpose – to give as much as possible exact mapping of communications and activity of a human brain and thereby, to have an opportunity of normalization of activity of the patient or the injured brain, more exact diagnostics, personalisation of treatment, creation of artificial intelligence. Already today many diseases of nervous system are considered as connectopathiya. Rather recently (2013) in the USA developed the megaproject on studying of structure and connectome a brain of the person of "Human Connectome Project" (HCP), which is more ambitious, than genome studying. One of participants of the HCP S. Seung (8) considers that connectome can't function without genome. But, to his opinion, each of us is more, than our genome, we are ours connectome. In its formation everyday life is important also. In other side, if the genome is relatively constant, connectome is continuously changing system. In this regard the formulation of the new direction – temporary connectomics is obviously possible. Already distinguish microconnectomics, regional, functional etc. connectomics. On complexity of tasks studying connectome and connectomics is much more difficult, than investigation a genome and genomes. The known russian neurobiologist K.V.Anokhin (1) believes that cognitive abilities of a brain are defined by functioning the neurosinaptic of structures, and cognitome is a component connectome a brain. Some new ideas of a role the neurosinaptic of structures in functioning and death of a brain were presented by us earlier (3,4). A number of foreign and domestic scientists, the large research centers conduct working out mathematical and virtual models of functioning of biological systems of different level complexity (from protein collection on a ribosome, an electronic cell to connectomes live objects (2,9). Some researchers note that such researches are extremely expensive as in energetical, technological, and

in the investment plan. These are electric power gigawatts, presence of powerful supercomputers and billion euro investments (2). But it not all! The highly professional specialists, capable to solve these most complicated problems, the new instrument and analytical base, new technologies are necessary. Considering the fastest development of these fundamental scientific directions in the world and serious lag of the Russian Federation in them, I believe expedient to develop every possible interstate scientific cooperation in these fields of knowledge through system of the Russian Academy of Sciences, corresponding scientific the centers. On condition of for a special purpose financing development and own Russian program "Connectome of live systems" all the more, that as prerequisites to it are available (1,2) is possible. The Ministry of Education and Science of the Russian Federation in the shortest terms through the to ESU needs to enter studying of these new scientific directions into educational programs of training of biotechnologists, biologists, chemists, psychologists, and also experts in the field of information technologies for biotechnology, biology, a neurobiology, psychology, medicine.

List of references

1. Anokhin K.V. Brain and consciousness. m2ts. Codes brains. video.
2. Palyanov A.Yu. Palyanova N.V., Hayrulin S.S. About problems of modeling of neural networks of live organisms. // Vestn. NSU, ser. Inform. Technol. – 2012, -vol.10, -issue.3, – Page 46–57.
3. Gribanov G.A. About molecular and biochemical mechanisms of thinking (the neurosinaptic structural-energy-information concept of formation idea). //Psychology and pedagogical aspects of multilevel education.-Tver, – 1997, – vol. 9, – Page 116–127.
4. Gribanov G.A. New conceptual approaches to an estimation of death of a brain. Neurosinaptic structural-energy-information concept of death of a brain. //Psychology and pedagogical aspects of multilevel education. – . Tver, – 2002, – vol.14, – Page 165–176.
5. Sporns O. Tononi G. Kötter R. The human connectome: A structural description of the human brain. // PLoS Computational Biology, – 2005, – 1, – e 42.
6. Hagmann P. From diffusion MRI to brain connectomics [PhD Thesis]. Lausanne: Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL). 2005, 127 P.
7. White J.G., Southgate E., Thomson J.N., Brenner S. The Structure of the Nervous System of the Nematode Caenorhabditis Elegans. // Phil. Trans. Royal Soc. L. 1986. B 314. River 1–340.
8. Seung S. Connectome. As the brain does us to that we are. M, BING. Laboratory of knowledge. 2014, 440 P.
9. Shankland S. 2005: http://news.cnet.com/Lab-computer-simulates-ribosome-in-motion/2100-11395_3-5907401.html.

УДК 577.352.4 + 577.112.7

ИССЛЕДОВАНИЕ БЕЛКА VirE2 КАК ТРАНСПОРТЕРА ДНК В ЖИВОТНУЮ КЛЕТКУ

Гусев Ю.С.,[1] Мазилов С.И.[1], Моисеева Е.М.,[1] Волохина И.В., [1] Чумаков М.И.[1,2]
[1]*Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук, просп. Энтузиастов, 13, Саратов, 410049, Россия, тел.: (8452) 970403;*
[2]*Саратовский государственный университет им Н.Г. Чернышевского, ул. Астраханская 83, Саратов, 410012, Россия; e-mail: chumakov@ibppm.sgu.ru.*

Получены данные о возможности переноса одноцепочечной (оц) ДНК в животные клетки в присутствии белка VirE2. С помощью методов биоинформатики исследованы надмолекулярные комплексы на основе белка VirE2.

Ключевые слова: VirE2, белки-пороформеры, перенос ДНК, животные клетки.

Использование ДНК-белкового комплекса, состоящего из оцДНК и агробактериальных белков VirE2 и VirD2, для доставки таргетных последовательностей в животные клетки является новым подходом для генотерапии. Ранее мы показали, что рекомбинантный белок VirE2 способствует накоплению флуоресцентно-меченных олигонуклеотидов (23 н.о.) в клетках HeLa и почек эмбрионов свиньи (СПЭВ) [1].

В докладе представлены новые данные о возможности белка VirE2 способствовать накоплению оцДНК (200 н.о.) в нативных животных клетках HeLa и СПЭВ. Впервые показано, что оцДНК накапливается в клетках СПЭВ кавеолин-, клатрин-независимым путем, тогда как олигонуклеотиды (23 н.о.) накапливаются в клетках СПЭВ с участием клатрин-зависимого эндоцитоза. С помощью метода молекулярной динамики впервые исследована модель комплекса из белков VirE2-VirE1, участвующих в транспорте оцДНК. С помощью метода нормальных мод изучены свойства пор на основе белка VirE2, и в комплексе из двух белков VirE2 предсказаны колебательные движения, сходные с воротным механизмом ионных каналов, в то время как в комплексе из четырех белков VirE2 изменения конформации внутри поры не обнаружены.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 14–04–31206 мол_а.

Литература:

1. Volokhina I.V., Gusev Yu.S., Mazilov S.I., Chumakov M.I.VirE2-protein-dependent DNA transfer across artificial and cell membranes // J. Bioinf. Comput. Biol. 2012. Vol.10. P. e1241009.

STUDYING OF VirE2 PROTEIN AS A DNA TRANSPORTER INTO ANIMAL CELLS

Gusev Yu.S.,[1] Mazilov S.I.,[1] Moiseeva E.M.,[1] Volokhina I.V.,[1] Chumakov M.I.[1,2]

[1]*Inst. Biochem & Physiol. Plants & Microorg., Russ. Acad. Sci., Entuziastov pr. 13, Saratov, 410049, Russia; tel.: (8452) 970403;*

[2]*Saratov State University, Moskovskaya st. 155, Saratov, 410012, Russia; e-mail: chumakov@ibppm.sgu.ru*

The data concerning VirE2-mediated ssDNA transfer into the animal cells were obtained. A supramolecular complexes based on VirE2 protein model using bioinformatics methods was studied.

Keywords: VirE2 protein, pore, ssDNA transfer, animal cells.

A new approach for the gene therapy is the use the DNA-protein complex consisting of ssDNA and Agrobacterium VirE2 and VirD2 proteins, to deliver targeted sequences in animal cells. Previously, we showed that the recombinant VirE2 protein promotes the accumulation of fluorescently-labeled oligonucleotides (23 nt) in HeLa cells and embryonic kidney pigs cells (SPEV) [1].

The report presents a new data on the possibility of VirE2 protein to promote the accumulation of ssDNA (200 nt) in native animals HeLa and SPEV cells. It was shown for the first time that ssDNA accumulates in SPEV cells by the kaveolin-, clathrin-independent way, whereas oligonucleotides (23 nt) accumulate in SPEV cells involving clathrin-dependent endocytosis. VirE2-VirE1 protein complex using the molecular dynamics method was studied. The oscillating motions of a complex consisting from two and four VirE2 subunits using the normal modes method are estimated. The possible gating mechanism similar to the gating mechanism of ion channels of a complex from two VirE2 proteins is shown, whereas the conformational changes inside the pore in a complex from four VirE2 proteins were not observed.

This research was supported as a part by the RFBR (grant 14–04–31206).

References:

1. Volokhina I.V., Gusev Yu.S., Mazilov S.I., Chumakov M.I.VirE2-protein-dependent DNA transfer across artificial and cell membranes // J. Bioinf. Comput. Biol. 2012. Vol.10. P. e1241009.

УДК 616.89; 615.832.9; 615.851

БИОТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ И ПЕРСОНИФИЦИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ ПСИХИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Клюшник Т.П., Тиганов А.С., Копейко Г.И.
Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр психического здоровья» РАМН, Москва, Россия
115522 Москва, Каширское шоссе, 34
e-mail: klushnik2004@mail.ru

Рассмотрены биотехнологии, применяемые для диагностики и персонифицированной терапии в ФГБУ «НЦПЗ» РАМН: молекулярно-генетические технологии, нейроиммунодиагностика, нейрофизиологические и тромбоцитарные маркеры, терапевтический лекарственный мониторинг.

Ключевые слова: генотипирование, нейроиммунодиагностика, терапевтический лекарственный мониторинг, предикторы эффективности терапии.

Прогресс в изучении механизмов психических заболеваний служит основой для выявления молекулярных факторов, ассоциированных с этими заболеваниями, и созданию на их основе технологий, способствующих решению вопросов диагностики, мониторинга и персонифицированной терапии пациентов.

Для выявления предрасположенности к психическим заболеваниям разработаны технологии генотипирования; для ранней диагностики аутистических расстройств – технологии, основанные на выявлении хромосомного мозаицизма.

Выявление иммунных факторов, связанных с клиническими особенностями, послужило основой для создания лабораторной технологии «Нейро-иммуно-тест», способствующей объективной оценке остроты и тяжести патологического процесса, полноты и качества ремиссии.

Для психотропных препаратов с узким интервалом эффективности разработаны приемы терапевтического лекарственного мониторинга, позволяющие оптимизировать режим терапии.

Отдельное направление – определение маркеров тромбоцитов крови, которые являются адекватной моделью серотониновых мозговых рецепторов и метаболизма глутамата. В практику внедрен новый метод определения тромбоцитарного серотонина, результаты которого используются для коррекции лекарственной терапии аффективных расстройств.

UDC 616.89; 615.832.9; 615.851

BIOTECHNOLOGIES USED FOR DIAGNOSTICS AND PERSONIFIED THERAPY OF MENTAL DISORDERS

Klushnik T.P., Tiganov A.S., Kopeyko G.I.
Federal state governmental institution "The Mental Health Research Centre" RAMS, Moscow Russia 34, Kashirskoye shosse, Moscow, 115522
e-mail: klushnik2004@mail.ru

The following biotechnologies applied for diagnostics and personified therapy in FSGI "MHRC" RAMS were considered: molecular genetic technologies, neuroimmunodiagnostics, platelet markers and therapeutic drug monitoring.

Keywords: genotyping, neuroimmunodiagnostics, therapeutic drug monitoring, predictors of treatment efficacy.

The progress in the investigation of mechanisms of mental disorders serves as the basis for detection of molecular factors associated with mental disorders, and creation of biomedical technologies and test systems on their basis, which contribute to the solution to the questions of diagnostics, monitoring and personified treatment of patients.

Genotyping technologies were developed for determination of proneness to schizophrenia spectrum disorders. Technologies based on detection of chromosome mosaicism were also developed for early diagnostics of autism spectrum disorders.

Detection of a number of immune factors connected with the clinical specificities served as the basis for creation of "Neuro-immune-test" laboratory technology. Immunodiagnostics promotes the efficient evaluation of acuteness and severity of pathological processes, as well as completeness and quality of remissions.

Methods of therapeutic drug monitoring were developed for psychotropic agents having a narrow efficacy interval, which made it possible to timely correct the dose of the drug.

Detection of platelet markers, which are an adequate model of brain serotonin receptors and glutamate metabolism present the separate direction. The technology of determination of platelet serotonin was developed, the results of which are used for correction of drug therapy of affective disorders.

УДК 616.43

ДИАБЕТ – ТРАНСЛЯЦИОННЫЕ НАРУШЕНИЯ БЕЛКОВОГО ОБМЕНА

Мухамеджанов Э.К., Есырев О.В., Ерджанова С.С.
АО Научный центр противоинфекционных препаратов, Алматы, Казахстан
050000, Алматы, ул. Гоголя 96/98, кв.15
e-mail: labpharma@mail.ru

Разбирается значение нарушений синтеза белка на этапе трансляции в механизме развития сахарного диабета 2 типа.

Ключевые слова: диабет, патогенез, белковый обмен, трансляция, инсулинрезистентность

Мышцы определяют до 70% инсулин-стимулируемого поглощения глюкозы [3], т.е. играют основную роль в развитии инсулинрезистентности (ИР) или диабета 2 типа. Поэтому факторы, способствующие снижению мышечной массы, приводят к понижению величины потребления глюкозы и развитию ИР. Инсулин проявляет свое анаболическое влияние посредством увеличения активности IF4E с eIF4 – киназ трансляции [5], а величина синтеза мышечного белка в большей степени зависит от эффективности трансляции [2]. Ключевой киназой этого этапа является мТОР, на активность которой значительное влияние оказывает ряд факторов стиля жизни человека: уровень физической нагрузки, обеспеченность рациона питания аминокислотами, особенно лейцином [1] и др. Введение катаболических агентов (стероиды, цитокины), способствующих развитию ИР, контроль синтеза белка также изменяется на этапе трансляции [4].

Таким образом, важной причиной развития диабета является нарушение процесса синтеза белка на этапе трансляции. Это положение необходимо учитывать при разработке технологий по профилактики и лечения заболевания.

Статьи из журналов:

1. Apró W, Blomstrand E. Influence of supplementation with branched-chain amino acids in combination with resistance exercise on p70S6 kinase phosphorylation in resting and exercising human skeletal muscle. Acta Physiol (Oxf).-2010.-V.200.-P.237–48

2. Cooney R, Kimball SR, and Vary TC. Regulation of skeletal muscle protein turnover during sepsis: mechanisms and mediators. Shock.-1997.-V.7.-P.1–16

3. DeFronzo RA, Ferrannini E, Sato Y, Felig P, Wahren J. Synergistic interaction between exercise and insulin on peripheral glucose uptake. J Clin Invest.-1981.-V.68.-P.1468–1474

4. Lang CH, Vary TC, and Frost RA. Acute *in vivo* elevation in IGFBP-1 decreases plasma free IGF-I and muscle protein synthesis. Endocrinology 144: 3922–3933, 2003

5. Lin TA, Kong X, Haystead TAJ, Pause A, Belsham G, Sonenberg N, and Lawrence JC. PHAS-I as a link between mitogen activated protein kinase and translation initiation. Science.-1994.-V.266.-P.653–656

DIABETES – TRANSMITTING VIOLATIONS OF THE PROTEINACEOUS EXCHANGE

Mukhamedzhanov E.K., Esyrev O.V., Erdzhanova S.S.
JSC Scientific center for anti-infectious drugs, Almaty, Kazakhstan
050000, Almaty, Gogol str. 96/98, f.15
e-mail: labpharma@mail.ru

Value of violations of synthesis of protein at a broadcasting stage understands the mechanism of development of diabetes of the 2 type.

Keywords: diabetes, pathogenesis, proteinaceous exchange, broadcasting, insulinrezistenz.

Muscles define to 70% insulin stimulated absorption of glucose [3], i.e. play the main role in development insulinrezistenz (IR) or diabetes of the 2 type. Therefore the factors promoting decrease in muscle bulk lead to decrease of size of consumption of glucose and development of IR. Insulin shows the anabolic influence by increase in activity of IF4E with eIF4 – kinases of broadcasting [5], and the size of synthesis of muscle protein more depends on efficiency of broadcasting [2]. A key kinase of this stage is MTOR on which activity considerable influence renders a number of factors of lifestyle of the person: level of physical activity, security of a food allowance with amino acids, especially leucine [1], etc. Introduction of the catabolic agents (steroids, tsitokins) promoting development of IR control of synthesis of protein also changes at a stage of broadcasting [4].

Thus, violation of process of synthesis of protein at a broadcasting stage is the important reason of development of diabetes. This situation needs to be considered in developing technologies on prevention and treatment of a disease.

References

1. Apró W, Blomstrand E. Influence of supplementation with branched-chain amino acids in combination with resistance exercise on p70S6 kinase phosphorylation in resting and exercising human skeletal muscle. Acta Physiol (Oxf).-2010.-V.200.-P.237–48

2. Cooney R, Kimball SR, and Vary TC. Regulation of skeletal muscle protein turnover during sepsis: mechanisms and mediators. Shock.-1997.-V.7.-P.1–16

3. DeFronzo RA, Ferrannini E, Sato Y, Felig P, Wahren J. Synergistic interaction between exercise and insulin on peripheral glucose uptake. J Clin Invest.-1981.-V.68.-P.1468–1474

4. Lang CH, Vary TC, and Frost RA. Acute *in vivo* elevation in IGFBP-1 decreases plasma free IGF-I and muscle protein synthesis. Endocrinology 144: 3922–3933, 2003

5. Lin TA, Kong X, Haystead TAJ, Pause A, Belsham G, Sonenberg N, and Lawrence JC. PHAS-I as a link between mitogen activated protein kinase and translation initiation. Science.-1994.-V.266.-P.653–656

УДК 574.2+615.9

БИОМЕДИЦИНСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ОЦЕНКИ ЭКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ СИТУАЦИЙ, СВЯЗАННЫХ С СУПЕРЭКОТОКСИКАНТАМИ: ПРОБЛЕМА ДИОКСИН

Румак В.С.[1,2], **Умнова Н.В.**[2]

[1]*Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия 119234, Москва, Ленинские горы д.1, стр. 12;*

[2]*Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия 119071, проспект Ленинский, 33. E-mail: roumak@mail.ru*

Исследованы ключевые биомедицинские параметры хронической экспозиции диоксинами населения Вьетнама, проживающего на территориях применения армией США «Оранжевого агента», выявлены ассоциации этих параметров с проявлениями отдаленных медицинских последствий интоксикации.

Ключевые слова: суперэкотоксиканты, диоксин, хроническая интоксикация.

Показателей достоверной оценки риска для здоровья населения факторов локальной экотоксикологической ситуации, связанной с диоксинами, равно как и прогнозирования ассоциированных с ней отдаленных медико-биологических последствий интоксикации (ОМП) пока нет [1]. Для разработки этих проблем обследовано население территорий, пострадавших и не пострадавших от применения во Вьетнаме «Оранжевого агента» (1962–1971) [2]. Получены параметры содержания в организме человека (кровь, грудное молоко, плацента) загрязняющих веществ (прежде всего диоксинов и самого токсичного из них – 2,3,7,8-ТХДД). Установлены специфичные для токсического действия ТХДД изменения биомедицинских параметров (включая эффекты прямого индуцирующего действия на показатели состояния и индукции цитохром Р-450-зависимых монооксигеназ); цитогенетического статуса (в том числе системных изменений стабильности генетических и ядерных структур), скорости смены клеточных поколений. Выявлены ассоциации биомедицинских параметров с ОМП; полиморфизма генов системы биотрансформации ксенобиотиков (*CYP1A1, GSTM1, GSTT1*) с особенностями морфогенеза экспонированных детей. Последующая разработка этих параметров рассматривается как перспективное направление поиска биомаркеров специфического токсического действия диоксинов с целью обоснованной оценки экотоксикологической ситуации, связанной с такой хронической экспозицией.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РГНФ № 14–06–00726.

1. Стойкие органические загрязнители. Управление риском воздействия на окружающую среду и здоровье населения (под. ред. Б.Н. Филатова). Волгоград. ФМБА. 2013. 180 с.

2. Румак В.С., Умнова Н.В., Софронов Г.А.Молекулярные и клеточные аспекты токсичности диоксинов // Вестник РАМН. 2014. № 3-4. С. 77-84.

BIOMEDICAL PARAMETERS FOR ASSESSMENT OF ECOTOXICOLOGICAL SITUATIONS ASSOCIATED WITH SUPERECOTOXICANTS: DIOXIN PROBLEM

Roumak V.S.[1,2], **Umnova N.V.**[2]
[1]*Faculty of Biology, Moscow State University, Russia,*
[2]*Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences,*
Russia, 119071, Moscow, 33 Leninskij prosp. E-mail: roumak@mail.ru

The core biomarkers of dioxin chronicle exposure were investigated among Vietnamese population living on the territories where Agent Orange was sprayed by the US Army (1962–1971). The associations of these parameters were revealed with the long-term health effects of intoxication.

Keywords: superecotoxicants, dioxins, human chronicle intoxication

There are no reliable parameters to assess public risk factors of local ecotoxicological situation on territories contaminated with dioxins, as well as to make a prognosis of associated long-term health consequences [1]. The inhabitants of several territories in Vietnam – suffered from Agent Orange application by the US Army (1962–1971) and control regions – were examined by molecular toxicology methods [2] to solve this problem. Levels of contaminants (TCDD, first of all) in human organism (blood, breast milk, placenta) were obtained. Specific characteristics of TCDD activity were revealed as alterations of biomedical parameters, including direct effects of P-450-dependent monooxigenases induction and activity, cytogenetic status alterations (systemic changes in genetic and nucleus structures stability), shifts in cellular cycle rate. Associations were observed of these parameters with the LTHC; polymorphous variants of xenobiotic biotransformation genes (*CYP1A1*, *GSTM1*, *GSTT1*) presence with morphogenetic variants peculiarities among children. Future development of these parameters is considered as a promising direction for searching biomarkers specific for dioxins toxicity with the aim on evidence-based assessment of ecotoxicological situation associated with such chronic exposure. This study was supported by the Grant of Russian Humanitarian Scientific Foundation (scientific project N14–06–00726).

1. Persistent organic pollutants. Management of risk impact on the environment and human health. Volgograd. 2013. 180 p. Russian.
2. Roumak V.S., Umnova N.V., Sofronov G.A.Molecular and cellular aspects of dioxin toxicity // Vestnik RAMN – Annals Russ. Acad. Med. Sci. 2014. N 3-4. 77-84. Russian.

УДК577.118

НАНОЧАСТИЦЫ ОКСИДА ЖЕЛЕЗА, ЗАГРУЖЕННЫЕ ДОКСОРУБИЦИНОМ, ДЛЯ ТЕРАПИИ И ДИАГНОСТИКИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Семкина А.С., Абакумов М.А., Габашвили А.Н., Мельников П.А., Гриненко Н.Ф., Нуколова Н.В., Кабанов А.В., Чехонин В.П.
Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова
117997, Россия, Москва, ул. Островитянова, д.1
Email: alevtina.semkina@gmail.com

Получены магнитные наночастицы оксида железа, покрытые оболочкой из бычьего сывороточного альбумина (БСА) и полиэтиленгликоля (ПЭГ) и загруженные противоопухолевым препаратом доксорубицином. Показано, что данные частицы эффективно высвобождают лекарственный препарат и взаимодействуют с клетками, а также способны повышать эффективность МРТ-визуализации модельной глиомы С6 крысы.

Ключевые слова: магнитные наночастицы, доксорубицин, доставка лекарственных препаратов, контрастный агент для МРТ.

Магнитные наночастицы (МНЧ) оксида железа, полученные разложением ацетилацетоната железа (III) покрывались оболочкой из БСА благодаря адсорбции молекул белка и их последующей ковалентной сшивке с помощью глутарового альдегида. Для обеспечения биосовместимости частиц была проведена их конъюгация с молекулами ПЭГ. Гидродинамический диаметр полученныхнаночастиц составляет 36±4нм, дзета-потенциал (-35±3)mV, содержание белково-полимерной оболочки – 50±3%, T2-релаксивность принимает значения 161±4mM^{-1}c^{-1}, величина остаточной намагниченности – 20±1emu/g. При внутривенном введении МНЧ, покрытых БСА и ПЭГ, удалось визуализировать модельную глиому С6 у крыс. Методом конфокальной микроскопии была доказана интернализация в клетки С6 полученных наночастиц и их преимущественное накопление в лизосомах клеток.

На следующем этапе производилась загрузка доксорубицина в синтезированные наночастицы. Емкость загрузки составила 8%. Было установлено, что при низких значениях pH процесс высвобождения лекарства происходит более интенсивно. Методом конфокальной микроскопии доказана интернализация МНЧ, покрытых БСА и ПЭГ и загруженных доксорубицином, в клетки С6. Работа была выполнена при поддержке грантов РНФ№14-15-00698, №14-13-00731, РФФИ №13-04-01383.

УДК 577.118

DOXORUBICIN-LOADED IRON OXIDE NANOPARTICLES FOR TUMOR THERAPY AND IMAGING

Semkina A.S., Abakumov M.A., Gabashvili A.N., Melnikov P.A., Grinenko N.F., Nukolova N.V., Kabanov A.V., Chekhonin V.P.
Pirogov Russian National Research Medical University
117997, Russia, Moscow, Ostrovitianov str. 1
Email: alevtina.semkina@gmail.com

Anti-cancer drug doxorubicin-loaded iron oxide magnetic nanoparticles, coated by the shell of bovine serum albumin (BSA) and poly(ethylene glycol) (PEG) were obtained. It was shown, that these nanoparticles effectively released the drug and interacted with living cells. Also these nanoparticles ability to increase MRI-imaging effectiveness in C6 rat glioma model.

Key words: magnetic nanoparticles, doxorubicin, drug delivery, MRI-contrast agent.

Magnetic nanoparticles (MNP) was obtained by the thermal decomposition of iron (III) acetyl acetonate. Formation of BSA shell over MNP core was performed by adsorption of the protein molecules on the MNPs followed by crosslinking. In the next step the conjugation with PEG-molecules was carried out to provide nanoparticles biocompatibility. The hydrodynamic diameter of nanoparticles is 36±4nm, zeta-potential is (-35±3) mV, protein-polymer shell containing – 50±3%, T2-relaxivity has the values of 161±4mM^{-1}s^{-1}, the value of saturation magnetization – 20±1emu/g. Experimental rat glioma C6 was successfully visualized after intravenous administration of MNP, coated by BSA and PEG molecules. Internalization of obtained nanoparticles in living C6 cells was proofed by confocal microscopy. MNP with the shell of BSA and PEG were mostly accumulated in lysosomes of cells.

Next step doxorubicin loading in MNP, coated by BSA and PEG, was carried out. Dox loading capacity into MNP shell was 8% by weight. It was shown, that under acidic conditions doxorubicin

release was larger than at pH 7.4. The internalization of doxorubicin-loaded MNP, coated by BSA and PEG, in C6 cells was showed by confocal microscopy method. As a result we can conclude that obtained magnetic nanoparticles can provide effective drug delivery to the tumor cells.

This work was supported by grants RFBR №13-04-01383 and RSCF №14-15-00698, №14-13-00731.

УДК 615.461:617-089.844

ЭВОЛЮЦИЯ ВЗГЛЯДОВ НА МАТЕРИАЛЫ, ПРЕДНАЗНАЧЕННЫЕ ДЛЯ ЗАМЕЩЕНИЯ КОСТНО-ХРЯЩЕВЫХ ДЕФЕКТОВ

Сергеева Н.С., Комлев В.С., Баринов С.М., Свиридова И.К., Кирсанова В.А., Шанский Я.Д., Федотов А.Ю.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный медицинский исследовательский центр имени П.А. Герцена» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

125284, Москва, 2-й Боткинский проезд, 3. E-mail: prognoz.06@mail.ru

Будут представлены собственные данные и обзор современных трендов в разработке материалов, тканеинженерных конструкций и способов их функционализации для реконструкции костно-хрящевых дефектов.

Ключевые слова: материалы для имплантации, функционализация, костные дефекты.

Костная ткань является своеобразным полимер-неорганическим композитом, инкрустированным клетками, поэтому создание биомиметических имплантационных материалов для органотипического восстановления зон костно-хрящевых дефектов требует, с одной стороны, органической и неорганической составляющих, а с другой – функционализации скаффолдов. В качестве органи-ческой составляющей (природного или синтетического происхождения) используют целый спектр белковых и углеводных полимеров: гидрогели на основе коллагена, желатина, производные гиалуроновой кислоты, полилактиды, полилактогликолиды, хитозаны и др.

Развитие технологий изготовления кальцийфосфатной керамики из нанопорошков дало возможность получать материалы с развитой поверхностью и выраженной способностью консолидироваться с окружающими тканями. Определенные успехи достигнуты в разработке инъецируемых форм керамики для замещения костно-хрящевых дефектов сложной конфигурации. Технологии быстрого прототипирования (3Д-печать) применительно к медико-биологическим задачам позволяют сегодня (пока в эксперименте) изготавливать скаффолды заданной формы, пористости с иерархией в клеточной организации.

В качестве альтернативы искусственных кальцийфосфатных материалов-скаффолдов начинают использоваться натуральные материалы, по своей архитектонике сходные с костной тканью, в частности, скелет натуральных кораллов и их аквакультур, ротанг и др.

Исторически первым подходом к функционализации скаффолдов было заселение их клетками (ММСК, хондроцитами, фибробластами) с формированием, таким образом, тканеинженерных конструкций. Для стимуляции регенеративных процессов в зоне дефекта поверхность скаффолда может быть обогащена нутриентами и аттрактантами для клеток, биологическими стимуляторами и сигнальными молекулами. Путем функционализации скаффолдов можно решать и специальные медицинские задачи, насыщая их поверхность противоопухолевыми препаратами, стероидами, анальгетиками, антибиотиками.

Таким образом, сегодня в доклинических медико-биологических испытаниях находится широкий спектр биомиметических материалов и тканеинженерных конструкций на их основе, что позволяет надеяться на решение ряда медицинских проблем.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки (соглашение № 14.604.21.0132 от 21 октября 2014 г.) и РФФИ (грант 13-03-12127).

УДК 615.461:617-089.844

EVOLUTION OF VIEWS ON MATERIALS FOR BONE AND CARTILAGE DEFECTS REPLACEMENT

Sergeeva N.S., Komlev V.S., Barinov S.M., Sviridova I.K., Kirsanova V.A., Shansky Ja.D., Fedotov A.Yu.

Herzen Federal Medical Research Center, Moscow, Russia

125284, Moscow, 2nd Botkinsky pass., 3. E-mail: prognoz.06@mail.ru

Resume: The original studies results and review of recent trends for production of materials and tissue-engineering constructions for bone-cartilage defects reconstruction and methods for their functionalization will be presented.

Keywords: Materials for implantation, functionalization, bone defects.

The original studies results and review of recent trends for production of materials for bone-cartilage defects reconstruction will be presented.

Bone tissue is a polymer-inorganic nanocomposite encrusted by cells. So, the fabrication of biomimetic implant materials for bone and cartilage defects organotypical reconstitution needs inorganic and organic components and their functionalization.

As organic (natural or synthetic) component a number of protein and hydrocarbonate polymers is used, such as collagen and gelatin hydrogels, hyaluronic acid derivatives, polylactides, polylactoglycolides, chitosanes et al.

The development of nanopowder calcium-phosphate ceramics and "cold" technology ceramics gives the possibility to produce materials with developed surface and expressed ability to consolidate with surrounding defect tissues. Defined successes of injectible ceramic forms technologies (for complex-formed bone-cartilage defects treatment) were gained. The rapid prototyping technologies (3D printing) allow to provide the scaffolds with defined form, porosity and hierarchical cell organization for biomedical application. The alternatives for calcium phosphate materials-scaffolds are the natural materials (e.g. natural corals, corals aquacultures skeleton, rattan) with similar (with bone tissue) architectonics.

Historically the first method of scaffolds functionalization was their colonization by cells (MMSC, chondrocytes, fibroblasts). The scaffold surface may be enriched by nutrients, cell attractants and signal molecules (e.g., TGF-β_1, PDGF BB, IGF, FGF, VEGF, BMP et al.), that leads to stimulation of regeneration processes in defect area. The special medical objectives can be resolved by means of scaffolds functionalization, for example, by saturation of their surface by anti-tumor drugs, steroids, analgesic drugs and antibiotics.

Thus, at the present time a wide spectrum of biomedical materials and tissue-engineering constructions are undergoing preclinical and clinical trials. It gives a hope to solve a number of medical problems.

This work was performed at financial support of Russian Ministry of Education and Science (consent N 14.604.21.0132 (21.10.2014)) and Russian Foundation for Basic Research (grant N 13-03-12127).

УДК 557.152.3, 538.975, 621.382.3

ДЕТЕКЦИЯ БЕЛКА D-NFATC1 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ С ПОМОЩЬЮ НАНОПРОВОЛОЧНОГО БИОСЕНСОРА С АПТАМЕРНЫМИ ЗОНДАМИ

Шумов И.Д.,[1] Иванов Ю.Д.,[1] Плешакова Т.О.,[1] Козлов А.Ф.,[1] Мальсагова К.А.,[1] Крохин Н. В.,[1] Кайшева А.Л.,[1] Попов В.П.,[2] Наумова О.В.,[2] Асеев А.Л.,[2] Латышев А. В.,[2] Татур В.Ю.,[3] Арчаков А.И.[1]

[1]*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», Москва, Россия,119121, Москва, ул. Погодинская, д. 10, стр. 8*
e-mail: shum230988@mail.ru

[2]*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физики полупроводников им. А.В. Ржанова Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия*

[3]*ООО «ЦАМАКС», Москва, Россия*

Показана возможность экспресс-регистрации белкового онкомаркера D-NFATc1 в сыворотке крови с помощью нанопроволочного биосенсора в режиме реального времени без дополнительных меток с использованием аптамеров в качестве биоспецифических зондов. Концентрационная чувствительность регистрации составила 2,5 × 10-^{14} М при времени анализа 10 мин.

Ключевые слова: аптамер; биосенсор; кремний-на-изоляторе; D-NFATc1; нанопроволоки.

Нанопроволочные биосенсоры позволяют проводить высокочувствительную экспресс-регистрацию белков в режиме реального времени без использования дополнительных меток. Однако, многократное использование нанопроволочных чипов реализуется, как правило, лишь в случае анализа очищенных белков в буферных растворах. При анализе сложных многокомпонентных биологических сред (например, сыворотки крови) существует проблема регенерации поверхности нанопроволок для многократного использования в связи с сильным влиянием неспецифической адсорбции компонентов сыворотки на эту поверхность. В настоящей работе показана возможность многократной регистрации белкового онкомаркера D-NFATc1 в сыворотке крови с чувствительностью 2,5 × 10-^{14} М. Время анализа составляло при этом 10 минут. Полученные результаты могут быть использованы при разработке новых высокочувствительных диагностических систем. Работа выполнена при поддержке субсидии по Соглашению № 14.576.21.0074 с Минобрнауки РФ.

NANOWIRE DETECTION OF D-NFATC1 PROTEIN IN THE SERUM USIND APTAMER PROBES

Shumov I.D.,[1] Ivanov Yu. D.,[1] Pleshakova T.O.,[1] Kozlov A.F.,[1] Malsagova K.A.[1], Krohin N. V.[1,1] Kaysheva A.L.,[1] Popov V.P.,[2] Naumova O.V.,[2] Aseev A.L.,[2] Latyshev A. V.,[2] Tatur V. Yu.,[3] Archakov A.I.[1]

[1]*Institute of biomedical chemistry, Moscow, Russia*
Moscow, Pogodinskaya st. 10, 119121 Russia
e-mail: shum230988@mail.ru
[2]*Rzhanov Institute of Semiconductor Physics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia*
[3]*TSAMAX Ltd, Moscow, Russia*

The ability of rapid label-free registration of D-NFATc1 oncomarker protein using aptamer-modified nanowire biosensor in real time is shown. The concentration sensitivity was 2,5 × 10-^{14} Mwhile the analysis time was 10 min.

Keywords: aptamer; biosensor; silicon-on-insulator; D-NFATc1; nanowires.

Nanowire biosensor enable highly sensitive label-free rapid registration of proteins in real time. However, repeated use of nanowire chips is realized, as a rule, only upon analysis of purified proteins in buffer solutions. Upon analysis of complex multi-component biological fluids (such as serum) there is a problem of regeneration of the sensor surface due to the high impact of non-specific adsorption of serum components onto this surface. In this work, the ability of repeated registration of D-NFATc1 oncomarker protein in serum with 2.5 × 10-^{14} M concentration sensitivity is shown. The analysis time was 10 min. The results obtained may be used in development of novel highly sensitive diagnostic systems. This work was supported by State Contract No 14.576.21.0074.

УДК 621.119

РЕГУЛЯЦИЯ ЭНДОГЕННЫХ СТВОЛОВЫХ И ПРОГЕНИТОРНЫХ КЛЕТОК – НОВЫЙ ПОДХОД В ЛЕЧЕНИИ ДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Дыгай А.М., Скурихин Е.Г., Першина О.В., Ермакова Н.Н., Хмелевская Е.С., Крупин В.А., Степанова И.Э.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга», Томск, Россия
643028, Томск, пр. Ленина, д. 3
e-mail: ovpershina@gmail.com

Обсуждаются различные возможности применения стволовых клеток для лечения дегенеративных заболеваний. Фармакологическая регуляция эндогенных стволовых и прогениторных клеток взрослого организма может быть перспективным подходом в лечении хронических заболеваний.

Ключевые слова: дегенеративные заболевания, избирательная регуляция эндогенных стволовых и прогениторных клеток

Клиническая практика большинства хронических заболеваний, сосредоточена, в первую очередь, на лечении осложнений и поддерживающей терапии. Фармакологическая регуляция эндогенных стволовых (СК) и прогениторных клеток взрослого организма может быть перспек-

тивным подходом в лечении многих заболеваний. Подход подразумевает наличие мишени – СК и/или прогениторная клетка, и лекарственных средств, избирательно влияющих на мишени. Наши экспериментальные исследования направлены на поиск СК и прогениторных клеток – потенциальных мишеней. Кроме этого, проводился скрининг соединений, способных изменять свойства СК и прогениторных клеток, и, тем самым, влиять на патогенез пневмофиброза.

Были показаны особенности распределения и свойства мезенхимальных и гемопоэтических СК, прогениторных гемопоэтических и фибробластных клеток, пан-гемопоэтических клеток, стволовых клеток бронхиол, предшественников гемангиогенеза и эндотелиальных клеток в костном мозге, крови и легких у линейных мышей при пневмофиброзе. Выявлена роль СК и прогениторных клеток в патогенезе заболеваний и регенерации тканей. Определены фармакологические средства, способные влиять на патогенез и регенерацию тканей за счет изменения свойств эндогенных стволовых и прогениторных клеток определенного класса.

REGULATION OF ENDOGENOUS STEM AND PROGENITOR CELLS: A NEW APPROACH FOR TREATMENT OF DEGENERATIVE DISEASES

Dygai A.M., Skurikhin E.G., Pershina O.V., Ermakova N.N., Khmelevskaya E.S., Krupin V.A., Stepanova I.E.

Federal State Scientific Institution "Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine named after ED Goldberg", Tomsk, Russia
643028, Tomsk, Lenin street, 3
E-mail: ovpershina@gmail.com

We discuss various possibilities use of stem cells for the degenerative diseases treatment. Pharmacological modulation of adult stem cells and progenitor cells may be effective approach in the treatment of chronic diseases.

Keywords: degenerative diseases, selective regulation of endogenous stem and progenitor cells.

Clinical practice of majority chronic diseases focused primarily on the treatment of complications and the maintenance therapy. Pharmacological modulation of adult stem cells and progenitor cells may be effective approach in the chronic diseases treatment. In our point of view stem cells or progenitor cells may be the target for drugs; we investigated drugs that selectively impact on the target. This experimental study was aimed at finding stem cells and progenitor cells which may be potential targets. We screened the compounds, which can change the properties of stem cells and progenitor cells, and thus can impact pathogenesis of pulmonary fibrosis. We investigated distribution and properties of mesenchymal and hematopoietic stem cells, progenitor hematopoietic cells, pan-hematopoietic cells, progenitor fibroblast cells, bronchial stem cells (cells Clara), progenitor hemangiogenesis and endothelial cells in various tissues and organs (bone marrow, blood and lung) from inbred mice with pneumofibrosis. It was shown role of the stem cells and progenitor cells in the pathogenesis of disease and tissue regeneration. We defined pharmacological agents which are able to influence on the pathogenesis and tissue regeneration by changing properties of endogenous stem and progenitor cells of certain class.

УДК 615.3:539.12 : 54657

ОЦЕНКА ЭФФЕКТОВ ДЕЙСТВИЯ СЕРЕБРОСОДЕРЖАЩЕГО НАНОБИОКОМПОЗИТА НА ОСНОВЕ ПРИРОДНОЙ ПОЛИМЕРНОЙ МАТРИЦЫ

Соседова Л.М., Титов Е.А., Новиков М.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Восточно-Сибирский научный центр экологии человека» СО РАМН, Ангарск, Россия

665827 Россия, Иркутская область, г. Ангарск, а/я 1170, e-mail: sosedlar@mail.ru

Получены экспериментальные данные о влияния нанобиокомпозита серебра, инкапсулированного на природной матрице-арабиногалактан на организм белых беспородных крыс при подостром введении. Установлено, что воздействие данного препарата вызывает набухание проводящих волокон в подкорковых структурах, расширение сосудов, разрыхление нейропиля и развитие периваскулярного отека, а также инициацию процесса апоптоза в клетках головного мозга.

Ключевые слова: серебро, нанобиокомпозит, головной мозг, апоптоз,

Мировой научно-технический задел в области наноиндустрии направлен на создание новых высокоэффективных диагностических и терапевтических уникальных наноразмерных средств за счет биоспецифических свойств «привязанных» к наночастицам полимеров, предназначенных для обеспечения специфической доставки и связывания наночастиц с биомишенями. Нанокомпозитные материалы, содержащие наночастицы серебра, обладают уникальными свойствами и являются перспективными для медицины. Перспективность широкого внедрения нанокомпозитных материалов на основе природного полимера – арабиногалактана, с инкапсулированным в матрицу наносеребром требует своевременного углубленного изучения ответной реакции организма, в связи с возможным риском здоровью людей, имеющих с ними непосредственный контакт. Целью нашего исследования явилось изучение структуры нервной ткани с оценкой экспрессии проапоптотического белка caspase 3 и апоптозингибирующего белка bsl-2 в нейронах коры головного мозга белых крыс при подостром пероральном введении нанобиокомпозита, содержащего наносеребро из расчета 100 мкг серебра в 0,5 мл физиологического раствора.

По результатам морфологических исследований в сенсомоторной зоне коры головного мозга белых крыс, получивших нанобиокомпозит, отмечался выраженный периваскулярный отек сосудов головного мозга, набухание проводящих волокон в подкорковых структурах, расширение сосудов и разрыхление нейропиля. В целом выявленные изменения характерны для метаболических сдвигов в структуре клеток и тканей, возникающих в ответ на проникновение чужеродного агента через гемато-энцефалический барьер. Гиперхроматоз клеток головного мозга, свидетельствующий об активации проапоптотического белка caspase 3 и белка-ингибитора апоптоза bcl-2 свидетельствует о развитии в нейронах апоптоза.

В целом полученные результаты позволяют заключить, что наночастицы серебра, инкапсулированные на природной полимерной матрице, проникают через гематоэнцефалический барьер и, депонируясь в ткани головного мозга, приводят к структурным нарушениям, а также являются модулятором апоптотического процесса.

EVALUATION OF THE EFFECTS SILVER-NANOBIOCOMPOSITES BASED ON NATURAL POLYMER MATRIX

L.M. Sosedova, E.A. Titov, M.A. Novikov,
East-Siberian Scientific Center of Human Ecology" SB RAMS,
Angarsk, Russia

World technological advance in the field of nanotechnology industry aims to create new high-performance diagnostic and therapeutic unique nanoscale funds through biospecific properties "attached" to nanoparticles polymers intended to provide specific delivery and binding of nanoparticles with biological targets. Nanocomposite materials containing silver nanoparticles have unique properties and are promising for medicine. The prospect of widespread introduction of nanocomposite materials based on natural polymer – arabinogalactan, encapsulated in a matrix of nanosilver is requires timely in-depth study of organism response, due to the possible risk to human health who have direct contact with them. The aim of our study was to examine the structure of nervous tissue with an estimate of the expression of proapoptotic protein caspase 3 and apoptos-ingibing bsl-2 protein in neurons of cerebral cortex of white rats in subacute oral administration nanobiocomposites containing nanosilver the rate of 100 g of silver in 0.5 ml saline.

Morphological studies in the sensorimotor cortex of white rats that received nanobiocompisite were showed the perivascular edema cerebral vessels, swelling of the conductive fibers in subcortical structures, vasodilatation and loosening of the neuropil. In general, the identified metabolic alterations characteristic changes in structure of cells and tissues that occur in response to the penetration of foreign agent through the blood-brain barrier. Giperhromatotic brain cells, indicating the activation of pro-apoptotic protein caspase 3 and protein inhibitor of apoptosis bsl-2 shows the development of neuronal apoptosis.

Overall, the results suggest that silver nanoparticles encapsulated in the natural polymer matrix, penetrate the blood-brain barrier, and depositing in tissues of the brain, leading to structural damage and are modulators of the apoptotic process.

УДК 544.653, 543.64

ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЯ И ПАТОГЕННОЙ АГРЕГАЦИИ БЕТА-АМИЛОИДА

Супрун Е.В., Хмелёва С.А., Радько С.П., Арчаков А.И., Шумянцева В.В.
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», Москва, Россия
Россия 119121, Москва, ул. Погодинская, 10/8, lenasuprun@mail.ru

Анализ конформационного состояния бета-амилоида основан на электрохимическом окислении остатка тирозина при потенциале около 0.6 В (отн. Ag/AgCl). При связывании бета-амилоида с ионами Zn(II) и Cu(II) и агрегации пептида величина сигнала снижается. Предложенный подход перспективен для отбора потенциальных лекарственных средств лечения болезни Альцгеймера.

Ключевые слова: бета-амилоид, тирозин, электрохимия, агрегация, медь, цинк.

Агрегация бета-амилоидного пептида (Абета) и двухвалентные ионы d-элементов, Zn(II) и Cu(II), играют важную роль в патогенезе болезни Альцгеймера. Электрохимические свойства белков активно применяют для решения биомедицинских задач [1]. Предложен оригинальный,

относительно недорогой и удобный в эксплуатации подход к определению конформационного состояния Абета с использованием одноразовых печатных графитовых электродов. Анализ основан на регистрации электрохимического сигнала окисления единственного остатка тирозина в десятой позиции полипептидной цепи при потенциале около 0.6 В (отн. Ag/AgCl). Электроокисление Абета – pH-зависимый, 2ē-процесс, сопровождающийся диффузией и адсорбцией пептида на поверхности электрода. Присутствие ионов Zn(II) и Cu(II), а также агрегация пептида приводят к снижению амплитуды пика окисления Абета, что связано с изменением доступности остатка тирозина для электрохимической реакции. Тирозин может служить электроактивной «меткой», чувствительной к концентрации пептида, металл-индуцированным конформационным изменениям и агрегации Абета.

Исследование поддержано Министерством науки и образования РФ (Соглашение № 14.604.21.0074, уникальный идентификатор RFMEFI60414X0074).

[1] Suprun E.V., Shumyantseva V.V., Archakov A.I.Protein Electrochemistry: Application in Medicine. A Review // Electrochim. Acta. 2014. Vol. 140. P. 72-82.

ELECTROCHEMICAL ANALYSIS OF ALZHGEIMER'S BETA-AMYLOID COMPLEXING AND PATHOGENIC AGGREGATION

Suprun E.V., Khmeleva S.A., Radko S.P., Archakov A.I., Shumyantseva V.V.
Institute of Biomedical Chemistry, Moscow, Russia
Pogodinskaya Street, 10/8, Moscow, 119121 Russia
lenasuprun@mail.ru

Analysis of the beta-amyloid conformational state is based on the tyrosine residue oxidation at the potential 0.6 V (vs. Ag/AgCl). Upon complexation with Zn(II) и Cu(II) ions and peptide aggregation, the oxidation signal decreases. The proposed approach appears perspective for screening of drug candidates for the treatment of Alzheimer's disease.

Keywords: amyloid-beta, tyrosine, electrochemistry, aggregation, zinc(II) ion, copper(II) ion.

Beta-amyloid peptide aggregation and divalent ions play important roles in Alzheimer's disease pathogenesis. Electrochemical properties of proteins are actively exploited in biomedicine [1]. A novel, relatively cheap, and easy-to-use approach to evaluate the beta-amyloid conformational state using carbon screen-printed electrodes is proposed. The assay is based on the registration of the oxidation signal of a single tyrosine residue in position 10 of the polypeptide chain at the potential of about 0.6 V (vs. Ag/AgCl). Beta-amyloid electrochemical oxidation is the pH-dependent, diffusion-controlled, 2ē-process which is the accompanied by the peptide adsorption on the electrode surface. The presence of Zn(II) and Cu(II) ions as well as beta-amyloid aggregation reduce an amplitude of the peptide oxidation peak which is associated with the accessibility of the tyrosine residue for electrochemical reaction. The tyrosine residue can serve as an electroactive 'label" sensitive to alterations in peptide concentration, metal-induced conformational changes, and beta-amyloid aggregation.

This work was financially supported by the Russian Ministry of Education and Science (Contract No. 14.604.21.0074, ID RFMEFI60414X0074).

[1] Suprun E.V., Shumyantseva V.V., Archakov A.I.Protein Electrochemistry: Application in Medicine. A Review // Electrochim. Acta. 2014. Vol. 140. P. 72-82.

УДК 577.114.7:577.352.2:616-006

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ЛИПОСОМ, НЕСУЩИХ УГЛЕВОДНЫЙ ЛИГАНД СЕЛЕКТИНОВ, С ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ СОСУДОВ КРОВИ

Водовозова Е.Л., Алексеева А.С., Кузнецова Н.Р., Бовин Н.В., Щегловитова О.Н., Степанова Е.В.
Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия
117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10
e-mail: elvod@lipids.ibch.ru

Получены стабильные 100-нм липосомы из природных фосфолипидов и липофильного пролекарства мелфалана, несущие углеводный лиганд селектинов SiaLe^X. Установлено их селективное действие на эндотелиальные клетки, активированные фактором некроза опухоли альфа (TNF-α).

Ключевые слова: направленная доставка лекарств; наноразмерные липосомы; Е-селектин; SiaLe^X; липофильное пролекарство мелфалана; эндоцитоз.

Разработаны стабильные 100-нм липосомы на основе природных фосфолипидов и липофильного пролекарства мелфалана, оснащенные лигандом селектинов – тетрасахаридом SiaLe^X. Селектины экспрессируются на эндотелиальных клетках в ответ на факторы воспаления. На модели карциномы легкого Льюис показан антиваскулярный эффект SiaLe^X-липосом, который приводил к усилению торможения роста опухоли, по сравнению с лечением липосомами без вектора [1]. Влияние введения SiaLe^X-лиганда на взаимодействие липосом с эндотелием изучено на эндотелиальных клетках пупочной вены человека. Связывание и поглощение липосом клетками, активированными TNF-α, росло пропорционально содержанию SiaLe^X; поглощение сопровождалось дестабилизацией мембраны липосом, необходимой для высвобождения пролекарства. Неактивированные клетки связывали лишь незначительное количество липосом вне зависимости от содержания SiaLe^X, причем липосомы оставались интактными длительное время (не менее 90 мин). Наши данные свидетельствуют о селективности действия SiaLe^X-липосом на активированные эндотелиальные клетки и потенциале внутриклеточной доставки липофильного пролекарства мелфалана.

[1] Kuznetsova N.R., Stepanova E.V., Peretolchina N.M., Khochenkov D.A., Boldyrev I.A., Bovin N.V., Vodovozova E.L.Targeting liposomes loaded with melphalan prodrug to tumour vasculature via the sialyl Lewis X selectin ligand//J. Drug Targeting 2014. Vol. 22. № 3. P. 242-250.

INTERACTIONS OF ANTITUMOR LIPOSOMES BEARING A CARBOHYDRATE SELECTIN LIGAND WITH VASCULAR ENDOTHELIAL CELLS

Vodovozova E.L., Alekseeva A.S., Kuznetsova N.R., Bovin N.V., Shcheglovitova O.N., Stepanova E.V.
Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, Moscow, Russia
117997, Moscow, Ul. Miklukho-Maklaya 16/10
e-mail: elvod@lipids.ibch.ru

Stable 100-nm liposomes from natural phospholipids and a lipophilic prodrug of melphalan, also equipped with a carbohydrate selectin ligand SiaLe^X were prepared. Their selective effect on the TNF-α activated endothelial cells was established.

Keywords: drug targeting; nanosized liposomes; E-selectin; SiaLe^X; melphalan lipophilic prodrug; endocytosis.

Stable 100-nm liposomes on basis of the natural phospholipids and a lipophilic prodrug of melphalan, also equipped with a tetrasaccharide selectin ligand SiaLe^X were designed. Selectins are expressed on the endothelial cells in response to inflammatory factors. We have shown antivascular effect of the SiaLe^X-liposomes that resulted in the increase of tumor growth inhibition as compared to the treatment with non-targeted liposomes in a Lewis lung carcinoma model [1]. The influence of SiaLe^X ligand introduction on the interactions of liposomes with endothelium was studied in the primary cultures of the human umbilical vein endothelial cells. Both binding and uptake of liposomes by the cells activated with TNF-α increased proportionally to the SiaLe^X content; the uptake was accompanied by destabilization of liposome membrane, which is necessary for the unloading of prodrug. Non-activated cells bound negligible amount of liposomes independently upon the content of SiaLe^X, and liposomes retained integrity for a long period of time (at least 90 min). Our data evidence the selective effect of SiaLe^X-formulations on activated endothelial cells and indicate their potential to intracellular delivery of melphalan lipophilic prodrug.

[1] Kuznetsova N.R., Stepanova E.V., Peretolchina N.M., Khochenkov D.A., Boldyrev I.A., Bovin N.V., Vodovozova E.L..Targeting liposomes loaded with melphalan prodrug to tumour vasculature via the sialyl Lewis X selectin ligand//J. Drug Targeting 2014. Vol. 22. № 3. P. 242-250.

УДК 615.099.07

ПОИСК МАРКЁРОВ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ CD^{2+} И CU^{2+}МЕТОДОМ ПРОТЕОМНОГО ПРОФИЛИРОВАНИЯ ПЕЧЕНИ И СЕРДЦА DANIO RERIO

Золотарёв К.В., Беляева Н.Ф., Михайлова М.В., Каширцева В.Н., Наход К.В., Наход В.И., Згода В.Г.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича»

Москва, Россия

119121 Москва, ул. Погодинская 10 стр. 8. E-mail: fireaxe@mail.ru

В данной работе взрослые рыбы Danio rerio подвергались воздействию сублетальными концентрациями и ПДКр.х. ионов Cd^{2+} и Cu^{2+}. По результатам протеомного профилирования печени и сердца были выбраны белки, содержание которых является концентрационно зависимым. Эти белки можно рассматривать как потенциальные маркёры токсического действия металлов.

Ключевые слова: токсическое действие, маркёры, тяжёлые металлы, протеомика.

Danio rerio – хорошо охарактеризованная модель позвоночных, которая благодаря сходству биохимических процессов с млекопитающими широко используется для изучения механизмов токсического действия различных веществ. Взрослые рыбы Danio rerio в течение 4 суток подвергались действию Cd^{2+} и Cu^{2+}, концентрации которых были равны ПДКр.х. (5 мкг/л для обоих ионов) и сублетальным концентрациям (6,4 мг/л для Cd^{2+} и 80 мкг/л для Cu^{2+}). Величины сублетальных концентраций были определены нами в ходе опытов по оценке острой токсичности. Исследование действия ионов тяжёлых металлов на протеом проводилось методом ВЭЖХ-масс-спектрометрии, который заключается в разделении пептидов гидролизованных трипсином белков Danio rerio методом обращённо-фазовой хроматографии с последующей их идентификацией с использованием масс-спектрометра Orbitrap Elite.

В печени, число белков, содержание которых с доверительной вероятностью 95% изменилось в 2 и более раза для любой из концентраций ионов металлов по сравнению с контролем, для Cd^{2+} составило 435, для Cu^{2+} – 98, из них совпадало 34 белка. В сердце, число изменённых белков составило 36 и 74 для Cd^{2+} и Cu^{2+} соответственно, из них 13 белков являлись общими. По изменению белков можно выявить общие тенденции токсического действия Cd^{2+} и Cu^{2+}: замедление энергетических процессов, биосинтеза пуриновых нуклеотидов, транскрипции и трансляции генов, везикулярного транспорта, активацию защитных механизмов и гидролиза. При действии Cd^{2+} наблюдалось уменьшение содержания Ca-зависимых белков, в то время под влиянием Cu^{2+} происходило увеличение содержания белков защитного восстановительного действия.

В качестве потенциальных маркёров токсического действия Cd^{2+} и Cu^{2+} могут быть выбраны следующие белки (см. табл.)

Таблица.

Белки – потенциальные маркёры токсического действия Cd^{2+} и Cu^{2+}.

<table>
<tr><th rowspan="2">Ткань</th><th colspan="2">Характеристика белка</th></tr>
<tr><th>Cd^{2+}</th><th>Cu^{2+}</th></tr>
<tr><td rowspan="7">печень</td><td>Sult2st3. Сульфотрансфераза 3 семейства 2, фермент защитного гидрофилизирующего действия</td><td>Sult2st3. Сульфотрансфераза, фермент защитного гидрофилизирующего действия</td></tr>
<tr><td>Pla2g12b. Секреторная фосфолипаза A2. Ca^{2+}-зависимый фермент гидролиза фосфолипидов</td><td rowspan="2">Eif2s1. Субъединица 1 фактора 2 инициации трансляции генов. Образует комплекс с ГТФ и инициаторной т-РНК.</td></tr>
<tr><td>Septin-6. Белок цитоскелета, участвующий в формировании филаментов при делении клеток.</td></tr>
<tr><td>Tmed10. Трансмембранный белок 10 с доменом emp24. Участвует в везикулярном транспорте в процессах секреции.</td><td rowspan="3">Stat3. Сигнальный белок – активатор транскрипции генов. Отвечает на действие цитокинов и факторов роста.</td></tr>
<tr><td>Noc2l. Ингибитор гистон-ацетилтрансферазы. Регулирует транскрипцию генов.</td></tr>
<tr><td>Hnrnpul1. Ядерный РНК-связывающий белок. Участвует в транспорте м-РНК.</td></tr>
<tr><td rowspan="3">сердце</td><td rowspan="3">Ndufb10. НАДН-дегидрогеназа (убихинон), субкомплекс β, субъединица 10. Компонент 1-го комплекса дыхательной цепи митохондрий.</td><td>Cct. Шаперонин класса II. Белок семейства шаперонов. Участвует в фолдинге белков.</td></tr>
<tr><td>Setb. Внутримембранный белок. Участвует в расхождении хромосом при делении клеток.</td></tr>
<tr><td>SelJ. Селенопротеин J. Белок антиоксидантного действия, содержащий остаток цистеина с атомом Se.</td></tr>
</table>

SEARCHING FOR MARKERS OF CD^{2+} AND CU^{2+}TOXIC ACTION USING PROTEOMIC PROFILING OF DANIO RERIO LIVER AND HEART

Konstantin V. Zolotarev, Natalya F. Belyaeva, Marina V. Mikhailova, Valentina N. Kashirtseva, Kirill V. Nakhod, Valeriya I. Nakhod, Victor G. Zgoda.
Institute of Biomedical Chemistry
Moscow, Russia
10-8 Pogodinskaya str. Moscow, 119121 Russia. E-mail: fireaxe@mail.ru

In this work adult Danio rerio were exposed to sublethal concentrations of Cd^{2+} and Cu^{2+}. Using the results of liver and heart proteomic profiling, the proteins with content depending on concentration of an ion were chosen. These proteins may be considered as potential markers of toxic action of the metals.

Key words: toxic action, makers, heavy metals, proteomics.

Danio rerio is a well-characterized vertebrate model, which is widely used for studying of different substances toxic action mechanisms due to similarity of its biochemical processes with those of mammals. During 4 days adult fishes were exposed to Cd^{2+} and Cu^{2+} which concentrations were equal to fish breeding TLV (5 µg/L for both ions) and NOEC (6,4 mg/L for Cd^{2+} and 80 µg/L for Cu^{2+}). We had defined the NOEC values using the acute toxicity tests. The heavy metals toxic action was studied using HPLC-mass-spectrometry method, which consists in separation of peptids from trypsin-hydrolyzed Danio rerio proteins with a reversed-phase chromatography followed by identification using Orbitrap Elite mass-spectrometer.

In the liver, the amount of ≥2-fold proteins (95% confidence level) for any ion concentration in comparison with the control was 435 for Cd^{2+} and 98 for Cu^{2+}, 34 of which coincided. In the heart, the amount of ≥2-fold proteins was 36 and 74 for Cd^{2+} and Cu^{2+} respectively, 13 of them coincided. After protein changes analysis we figured out common tendencies of Cd^{2+} and Cu^{2+} toxic action: decrease of catabolic processes, purine nucleotides biosynthesis, gene transcription and translation, vesicular transport; activation of protective mechanisms and hydrolysis. We observed decrease of Ca-dependent proteins content affected by Cd^{2+} as well as increase of protective reductive proteins content affected by Cu^{2+}.

The following proteins (see table) may be chosen as potential markers of Cd^{2+} and Cu^{2+} toxic action

Table.

Proteins as potential markers of Cd^{2+} and Cu^{2+} toxic action

Tissue	Protein characterization	
	Cd^{2+}	Cu^{2+}
печень	Sult2st3. Sulfotransferase 3 family 2, protective hydrophilyzing enzyme.	Sult2st3. Sulfotransferase 3 family 2, protective hydrophilyzing enzyme.
	Pla2g12b. Secretory phospholipase A2. Ca^{2+}-dependent enzyme of phospholipid hydrolysis.	Eif2s1. Subunit 1 of of gene translation initiation factor 2. It forms a complex with GTP and initiator tRNA.
	Septin-6. Cytoskeleton protein. It participates in cell division filament formation.	
	Tmed10. Transmembrane protein 10 with emp24 domain. It participates in vesicular transport during secretion processes.	Stat3. Signal protein, gene transcription activator. It responses to cytokines and growth factors action.
	Noc2l. Histone acetyltransferase inhibitor. It regulates gene transcription.	
	Hnrnpul1. Nuclear RNA-binding protein. It participates in mRNA transport.	
сердце	Ndufb10. NADH dehydrogenase (ubiquinon), subcomplex β, subunit 10. It is a component of the mitochondrial electron transport chain 1st complex.	Cct. Class II chaperonin, chaperone family protein. It takes part in protein folding.
		Setb. Integral membrane protein. It takes part in chromosome segregation during cell division.
		SelJ. Selenoprotein J, an antioxidant protein containing cystein with Se.

ПОСТЕРЫ
POSTERS

УДК 577.1.04;577.15.03

ВЛИЯНИЕ РЕГУЛЯТОРА РОСТА РАСТЕНИЙ МЕЛАФЕНА НА МЕМБРАННЫЕ БЕЛКИ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Алексеева О.М.[1], **Фаткуллина Л.Д.**[1], **Ким Ю.А.**[2]
[1]*Институт Биохимической физики РАН им. Н.М. Эмануэля Москва Россия*
[2]*Институт Биофизики клетки РАН Пущино Россия*
119334, Москва, ул. Косыгина, 4, ИБХФ РАН. olgavek@yandex.ru

Исследовали влияние регулятора роста растений мелафена – производного меламина и бисфосфиновой кислоты, на структуру мембранных белков, организацию мембраны целой клетки, а также на функционирование клеточных мембран на объектах животного происхождения.

Ключевые слова: мелафен, эритроциты, ДСК, микровязкость

В качестве объектов исследования были выбраны эритроциты – одна из первых мишеней при попадании биологически активного вещества в кровяное русло. Структуру мембраны при влиянии водных растворов мелафена в широком диапазоне концентраций (10^{-21}–10^{-2} М) исследовали методом ДСК на тенях эритроцитов, представляющих собой внешнюю мембрану и цитоскелет эритроцитов, с помощью осмотического шока освобожденных от гемоглобина Состав и строение структурных элементов мембраны эритроцитов характерны для многих клеток организма. Структурную организацию целостной мембраны эритроцитов с учетом и липидной, и белковой фазы характеризовали, методом измерения микровязкости с помощью ЭПР-спектроскопии 2-х спин-меченых зондов. Большие дозы мелафена уменьшали микровязкость бислоя и в поверхностной липидной области на глубине 2-4 Å, и в области прибелковых липидов – 4-8 Å. Микровязкость обеих областей мембраны эритроцитов в водных растворах мелафена при большой концентрации 10^{-3} М снижалась. В липидной области на глубине 2-4 Å снижалась максимально – до 25%. Функциональные изменения под действием водных растворов мелафена тестировали по гемолизу эритроцитов, спонтанному и индуцированному изменением ионной силы (добавлением NaCl) в среде. Мелафен во всем диапазоне концентраций (10^{-13}М – 10^{-3}М) не вызывал дополнительного гемолиза и не защищал от спонтанного. Измерения термостабильности белков, их взаимодействие с липидами, изменение проницаемости мембраны показали, что мелафен в малых концентрациях не оказывает значительного деструктурирующего воздействия на эритроциты. Мелафен в больших концентрациях изменяет структурную организацию белков мембран эритроцитов.

УДК 577.1.04;577.15.03

THE PLANT GOWTH REGULATOR – MELAFEN, INFLUENCE TO THE ANIMAL MEMBRANE BOUNDED PROTEINS

O.M. Alekseeva[1], **L.D. Fatkullina**[1], **Yu.A. Kim**[2]

[1]*Emanuel Institute of Biochemical Physics, RAS, Moscow, ul. Kosygina, 4, Moscow, 119334; E-mail: olgavek@yandex.ru*

[2]*Institute of Cell Biophysics, RAS, Pushchino, Moscow region.*

The influence of plant growth regulator Melafen (melamine salt of bis (oximethyl) phosphinic acid) was tested on the structural properties of animal membrane bounded proteins. Melafen was used as aqueous solutions at wide concentration range.

Keywords: Melafen; erythrocytes; DSC; microviscosity

The investigations of Melafen interactions with membrane bounded proteins at the erythrocyte's ghost by DSC did not reveal any noticeable changes of protein microdomains structural organization. The Melafen actions to the protein-lipid interrelationships were tested by registrations of the microviscosity of isolated native erythrocytes by electron spin resonance method (ESR) with introduction of spin-labeled probes to erythrocytes. Protein –lipid organization at the different depths of erythrocyte's membranes (2-4 Å; 4-8 Å). The microviscosity of both regions of erythrocyte membrane were tapered off, when large concentration 10^{-3} M of Melafen aqueous solutions. In lipid region at a depth of 2-4 Å was tapered off maximally – up to 25%. The applauding of spectral method for registration of hemolysis degree, allowed us to receive some data about Melafen influences to membrane resistance under the bed environment, when the hypo- and hyper-osmolarity existed. The general trend of increasing of erythrocytes hemolysis degree varied significantly by Melafen presence over a wide range of concentrations (10^{-9}–10^{-3} M). And these trends become so bigger under the increasing of environment osmolarity. But the Melafen addition in concentration 10^{-12} M and 10^{-11} M didn't change the general picture of erythrocytes hemolysis. We concluded that Melafen has not any destruction's influences to the membranes bounded proteins under the concentrations that activate the plant growth. But Melafen had influencing to the structural and functional properties of membrane bounded proteins when the bigger concentrations.

УДК 577.181

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА АРЕНИЦИНА-2 НА АКТИВНОСТЬ КОНВЕНЦИАЛЬНЫХ АНТИБИОТИКОВ ПРИ ИХ СОВМЕСТНОМ ПРИМЕНЕНИИ

Болосов И.А., Калашников А.А., Пантелеев П.В., Овчинникова Т.В.

Федеральное агентство научных организаций (ФАНО России) Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН), Москва, Россия

117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

e-mail: bolosoff@gmail.com

В ходе работы было исследовано совместное антимикробное действие β-шпилечного АМП ареницина-2 и шести конвенциальных антибиотиков, относящихся к различным структурным группам (ампициллин, тетрациклин, стрептомицин, хлорамфеникол, рифампицин и полимик-

син B). В ряде случаев было показано наличие синергического эффекта при совместном применении ареницина-2 и конвенциальных антибиотиков.

Ключевые слова: антимикробные пептиды, ареницин, синергизм.

В связи с широким применением антибиотиков распространение патогенных микроорганизмов, резистентных к антимикробным препаратам, стало приобретать массовый характер. Из-за этого классические антибиотики постепенно теряют свою эффективность. Один из возможных способов преодоления данной проблемы состоит в комбинированном использовании различных антимикробных соединений. За счет совместного использования антибиотиков, действующих на внутриклеточные мишени и обладающих мембранотропным механизмом действия, в ряде случаев удается снизить эффективную дозу и расширить спектр применения препаратов. Кроме того, за счет комбинированного использования антимикробных агентов может быть повышена эффективность работы препарата при полимикробной инфекции, уменьшена вероятность появления резистентных штаммов и снижена общая токсичность.

Ранее из целомоцитов морского кольчатого червя *Arenicola marina* нами были выделены два пептида, названные ареницинами. Пептиды обладают ярко выраженной антимикробной активностью в отношении грам-положительных и грам-отрицательных бактерий, а также дрожжеподобных и фитопатогенных грибов.

В ходе настоящей работы было исследовано совместное антимикробное действие рекомбинантного ареницина-2 и шести классических антибиотиков, относящихся к различным структурным группам (ампициллин, тетрациклин, стрептомицин, хлорамфеникол, рифампицин и полимиксин B). В качестве тест-культур использовались бактерии *Escherichia coli* C600, *Staphylococcus aureus* 209p и *Pseudomonas aeruginosa* PA01. Минимальные ингибирующие концентрации (MIC) определяли методом двойных серийных разведений в жидкой среде.

Оценку синергического эффекта проводили путем вычисления индекса долевых ингибирующих концентраций (FICI). $FICI = MIC_{a(b)}/MIC_a + MIC_{b(a)}/MIC_b$, где MIC_a и MIC_b – минимальные ингибирующие концентрации антибиотиков при индивидуальном применении, а $MIC_{a(b)}$ и $MIC_{b(a)}$ – минимальные ингибирующие концентрации каждого из веществ при совместном использовании. Значение $FICI \leq 0.5$ показывает, что вещества проявляют синергизм.

В ходе работы было показано наличие синергического эффекта при совместном применении ареницина-2 и некоторых из использованных конвенциальных антибиотиков (полимиксина B на тест-культуре *E. coli* C600; тетрациклина и рифампицина на тест-культуре St. aureus 209p; ампициллина, стрептомицина, хлорамфеникола и полимиксина B на тест-культуре Ps. aeruginosa PA01). Наиболее выраженный синергический эффект проявлялся в тестах на культуре St. aureus 209p.

Работа поддержана грантом Российского научного фонда (соглашение № 14-14-01036).

STUDY OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF CERTAIN COMBINATIONS OF THE PEPTIDE ARENICIN-2 WITH CONVENTIONAL ANTIBIOTICS

Bolosov I.A., Kalashnikov A.A., Panteleev P.V., Ovchinnikova T.V.
Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia.
117997, Moscow, ul. Miklukho-Maklaya, 16/10
e-mail: bolosoff@gmail.com

In this study we investigated antimicrobial effects of certain combinantions of the β-hairpin peptide arenicin-2 with six conventional antibiotics belonging to different structural groups (ampicillin, tetracycline, streptomycin, chloramphenicol, rifampicin, and polymyxin B). As a result, we revealed synergy between arenicin-2 and some of conventional antibiotics.

Keywords: antimicrobial peptides, arenicin, synergy, conventional antibiotics.

Widespread use of antibiotics has resulted in the development of drug-resistant pathogens Classic antibiotics are loosing their effectiveness against infections. One of the possible solution of the problem is antibiotics combination therapy. Simultaneous use of different antibiotics acting both on membranes and intracellular targets in some cases can reduce the effective dose and expand the spectrum of antibacterial activity of drugs. In addition, the combined use of antimicrobial agents can increase drug efficiency in fighting polymicrobial infections and reduce systemic toxicity.

Earlier, we isolated two peptides, designated arenicins, from coelomocytes of the marine polychaeta *Arenicola marina*. The peptides have antimicrobial activity against gram-positive and gram-negative bacteria and fungi.

In this study we investigated antimicrobial effects of certain combinations of the recombinant β-hairpin arenicin-2 with six conventional antibiotics belonging to different structural groups (ampicillin, tetracycline, streptomycin, chloramphenicol, rifampicin, and polymyxin B). *Escherichia coli* C600, *Staphylococcus aureus* 209p, and *Pseudomonas aeruginosa* PA01 were used as test bacterial cultures. Minimum inhibitory concentrations (MIC) were determined by twofold serial dilutions in a liquid medium.

The antimicrobial combinations were classified as synergistic, indifferent or antagonistic on the basis of the fractional inhibitory concentration index (FICI). FICI = $MIC_{a(b)}/MIC_a + MIC_{b(a)}/MIC_b$, where MIC_a and MIC_b – minimum inhibitory concentrations of individual substances, and $MIC_{a(b)}$ and $MIC_{b(a)}$ – minimum inhibitory concentrations of each antibiotic in a combination of them. The antimicrobial combinations were defined as synergistic if the FICI was ≤0.5.

Synergy was observed for certain combinations of arenicin-2 with conventional antibiotics (polymyxin B against *E. coli*; rifampicin and tetracycline against St. aureus; ampicillin, streptomycin, polymyxin B, and chloramphenicol against Ps. aeruginosa). The highest synergistic effect was observed against St. aureus.

This work was supported by the Russian Science Foundation (project No. 14-14-01036).

УДК 54.06

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО ПОЛЯ НА ХАРАКТЕРИСТИКИ РАСТВОРА КВАНТОВЫХ ТОЧЕК

Жаркова И.С., Дрозд Д.Д., Панкратов В.А., Соболев А.М., Маркина Н.Е., Маркин А.В., Горячева И.Ю.

Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия410012, Саратов, ул. Астраханская, 83e-mail: Zharkova_i.s@mail.ru

Исследовали воздействие электрического поля на водные растворы гидрофилизованныхКТ соструктурой ядро-оболочка (CdSe/CdZnS/ZnS) и отслеживали изменения таких параметров как гидродинамический (ГД) радиус стабилизированных КТ, их дзета-потенциал и интенсивность люминесценции.

Ключевые слова: квантовые точки, гидрофилизация, электрическое поле

КТ, получаемые методом высокотемпературного синтеза в органическом растворителе с проведением последующей гидрофилизации, являются перспективными биометками для применения в различных областях благодаря уникальным люминесцентным свойствам и небольшому размеру. Для гидрофилизации изначально гидрофобные КТ покрывают амфифильными молекулами, в том числе браш-полимерами, содержащими фрагменты полиэтиленгликоля (ПЭГ). Данный подход гидрофилизации позволяет максимально сохранять квантовый выход КТ, а также увеличивает стабильность КТ в широком диапазоне pH и ионной силы. В ряде работ, исследовано влияние электрического поля и прохождение электрического тока на различные характеристики КТ. В первую очередь эти работы относятся к области использования КТ в электронных устройствах, таких как солнечные батареи и фотодиоды.

В данной работе исследовали воздействие электрического поля на водные растворы гидрофилизованных КТ со структурой ядро-оболочка (CdSe/CdZnS/ZnS) и отслеживали изменения таких параметров как гидродинамический (ГД) радиус стабилизированных КТ, их дзета-потенциал и интенсивность люминесценции. ГД радиус и дзета-потенциал измеряли методом динамического рассеяния света, а люминесценции – методом конфокальной лазерной спектроскопии.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки (проект . 4.1708.2014/K).

THE EFFECT OF ELECTRIC FIELD ON THE CHARACTERISTICS OF QUANTUM DOTS SOLUTION

Zharkova I.S., Drozd D.D., Pankratov V.A., Sobolev A.M., Markina N.E., Markin A.V., Goryacheva I.Yu..

Saratov State University, Saratov, Russia410012 Saratov, Astrakhanskayastr, 83
e-mail: Zharkova_i.s@mail.ru

We investigated the effects of the electric field on water solutions of hydrophilized QDs with core-shell structure (CdSe/CdZnS/ZnS) and tracked changes of parameters such as hydrodynamic radius, zeta potential and the luminescence intensity of stabilized QDs.

Keywords: Quantum dots (QDs), hydrophilization, electric field.

QDs, obtained by high-temperature synthesis in an organic solvent are promising biolabels for use in various fields because of unique luminescent properties and small size. For a hydrophilization ini-

tially hydrophobic QDs were coated with amphiphilic molecules, including brush-polymers comprising fragments of polyethyleneglycol (PEG). This approach maximizes the retention of the quantum yield, and increases QDsstability in a wide range of pH and ionic strength.

Some studies investigated the influence of the electric field and the electric current on the different characteristics of QDs. Primarily, these works refer to the use of QDs in electronic devices such as photodiodes and solar cells.

In this paper we investigated the effects of the electric field on water solutions of hydrophilized QDs with core-shell structure (CdSe/CdZnS/ZnS) and tracked changes of parameters such as hydrodynamic radius, zeta potential and the luminescence intensity of stabilized QDs. Radius and zeta potential were measured by dynamic light scattering and luminescence – by confocal laser spectroscopy.

This work was supported by the Russian Ministry of Education and Science (project. 4.1708.2014 / K).

ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРЫ БЕТА-ЛАКТАМАЗ И МЕХАНИЗМОВ РЕГУЛЯЦИИ ИХ АКТИВНОСТИ

Григоренко В.Г.[1], **Андреева И.П.**[1], **Рубцова М.Ю.**[1], **Егоров А.М.**[1], **Daria Beshnova**[2], **Victor Lamzin**[2]

[1]*Кафедра химической энзимологии, Химический ф-т МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, 119992, Ленинские Горы д.1, стр.11*

[2]*European Molecular Biology Laboratory (EMBL), c/o DESY, Notkestrasse 85, 22603 Hamburg, Germany*

Устойчивость возбудителей инфекционных заболеваний к антибиотикам является серьезной проблемой во всем мире. Расширение международного сотрудничества и увеличение мобильности населения ускоряют распространение резистентных штаммов. В последние годы эта проблема стала еще более угрожающей в связи с распространением панрезистентных микроорганизмов, этой пробелеме посвящен доклад ВОЗ 2014 года [Antimicrobial Resistance Global Report on surveillance 2014 World Health Organization http://www.who.int/drugresistance/en/]. Быстрое развитие устойчивости даже к новым антибиотикам, а также длительность и высокая стоимость разработки ограничивают создание новых лекарственных средств.

Решением проблемы резистентности, обусловленной продукцией бета-лактамаз, является создание ингибиторов, которые способны необратимо связываться с их активным центром. Однако вследствие структурного разнообразия бета-лактамаз и их изменчивости эти ингибиторы также имеют ограниченное действие.

Целью настоящей работы является комплексное исследование различных мутантных форм бета-лактамаз, установление взаимного влияния мутаций на структурные особенности и каталитические параметры ферментов. Таким образом, данное исследование имеет не только фундаментальное значение для понимания механизмов каталитического действия бета-лактамаз, но и позволяет найти новые способы преодоления резистентности микроорганизмов к антибиотикам.

STRUCTURAL STUDIES OF REGULATION OF BETA-LACTAMASE ACTIVITY

Grigorenko V.G.[1], **Andreeva I.P.**[1], **Rubtsova M.Yu.**[1], **Egorov A.M.**[1], **Beshnova D.A.**[2], **Lamzin V.S.**[2]
[1]*Enzymology division, Department of Chemistry,*
M.V. Lomonosov Moscow State University,
Russia, Moscow, 119992, Leninskie Gory d. 1/11
[2]*European Molecular Biology Laboratory (EMBL), c/o DESY,*
Notkestrasse 85, 22603 Hamburg, Germany

Microbial resistance to antibiotics is a serious and growing threat to public health. In recent years, the problem has become even more alarming due to the dissemination of panresistant microorganisms, and it was stressed in the WHO report in 2014 [Antimicrobial Resistance Global Report on surveillance 2014 World Health Organization http://www.who.int/drugresistance/en /]. The rapid development of resistance even to new antibiotics, the creation of new drugs is strongly limited by long duration and high cost of development.

The most prevalent resistance mechanism is the production of bacterial enzymes beta-lactamases. These enzymes are evolving at high speed, they are highly mutable and have large structural variability. By present they form a huge family which includes representatives of 1300. This underlines the need for a comprehensive study of the structural features and mechanism of action of beta-lactamases.

Creating inhibitors which are capable to bind irreversibly in the active site may overcome the resistance. However, due to the structural diversity of beta-lactamases and their variability these inhibitors also have limited effect.

In this regard, there is need for new inhibitors for beta-lactamases, including allosteric inhibitors. To do this, the comprehensive study of the structure of beta-lactamases, as well as mechanisms for the regulation of their activity is actual. The work presented is based on a study of the various mutant forms of beta-lactamases, establishment of mutation combinations effect on the structural and catalytic parameters of enzymes. This will allow to create a new type of inhibitors, and will help to find new ways to overcome the resistance of microorganisms to antibiotics.

УДК 577.2

РАЗРАБОТКА БИОЧИПА ДЛЯ ПОЛУКОЛИЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКИ мРНК УЧАСТНИКОВ ВНУТРЕННЕГО И ВНЕШНЕГО ПУТЕЙ АПОПТОЗА

Князев Д.И., **Старикова В.Д.**, **Сахарнов Н.А.**, **Солнцев Л.А.**, **Уткин О.В.**
Федеральное бюджетное учреждение науки «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. БЛОХИНОЙ» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
603950, г. Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71
e-mail: dmitry-kn@yandex.ru

Апоптоз – фундаментальный биологический процесс, участвующий в поддержании тканевого гомеостаза. В нормальных, инфицированных вирусом и опухолевых клетках баланс в системе пролиферация/апоптоз определяется составом и уровнемсплайс-вариантов про- и антиапоптотических факторов. Целью работы явилось создание биочипа для оценкифлуктуации состава и уровня мРНК участников, вовлечённых в реализацию рецептор-опосредованного и митохондриального путей апоптоза.

Разработан алгоритм селекции зондов в системе Matlab (США) с пакетом расширений BioinformaticsToolbox и ParallelComputingToolbox. Требования к зондам: комплементарность

к местам соединения экзонов; длина 24-40 н.о.; $T_{пл}$ 63-68°C; содержание GC 30-70%; количество гомоповторов н.о. ≤5; зонд не должен образовывать шпильки с ΔG ниже -6 кДж/моль; зонд не должен полностью встречаться в соответствующем гене (максимальная степень сходства 60%); зонд должен быть уникальным, т.е. детектировать только определенную форму мРНК. Проведен анализ 185 генов ключевых участников апоптотического сигналинга. Общее число кандидатов в зонды исходно составляло 65374567. Для синтеза на биочипе отобрано по 7208 смысловыхи антисмысловых зондов, детектирующих 1134 сплайсированных изоформы мРНК. Синтез экспериментальных вариантов биочипа осуществлён на платформе CustomArray (США) с применением амидофосфитного метода. Квантификация сигнала гибридизации зондов и целевой мРНК проводилась с применением амперометрической технологии ElectraSense (США). Для увеличения чувствительности зондов в их состав с 3'-конца были внедрены спейсерные участки (для смысловых зондов поли-Т повторы длиной 6,10,14,18н.о.; для антисмысловых зондов – поли-А повторы аналогичной длины). Проведена оптимизация схемы пробоподготовки и условий гибридизации биочипов для снижения себестоимости исследования. Отобраны зонды с наилучшими показателями чувствительности и специфичности. На текущем этапе ведутся работы по оценке информативности использования биочипа для мониторинга функционального состояния клеток иммунной системы при герпесвирусной инфекции, раке яичников и раке тела матки.

MICRO ARRAY FOR SEMIQUANTITATIVE EVALUATION mRNA ENCODING PROTEINSINVOLVEDINEXTRINSICANDINTRINSICAPOPTOTIC PATH WAYS

KnyazevD.I., StarikovaV.D., SakharnovN.A., SolntcevL.A., UtkinO.V.
Federal State Scientific Establishment «Blokhina research institute of microbiology and epidemiology» of Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare
603950, Nizhny Novgorod, Malaya Yamskayast., 71
e-mail: dmitry-kn@yandex.ru

Apoptosis is the fundamental biological process involved in tissue homeostasis maintenance. In normal, virus-infected and tumor cells the balance between proliferation and apoptosis is determined by the levels and the repertoire of the pro- and antiapoptotic factors and their spliced forms. The aim of present work is development of the new microarray for evaluation of composition and levels' changes of mRNA encoding proteins involved in death-receptor-mediated and mitochondrial apoptotic pathways.

First, we developed the probe selection algorithm based on Mathlab system with Bioinformatics Toolbox and Parallel Computing Toolbox supplementary modules. Probe selection criteria included: targeting to exon junction; probe length 24-40 bp; T_m 63-68°C; GC content range 30-70%; maximal homopolymer length 5 bp; hairpin formation energy ΔG≥-6 kJ/mol; the highest continuous similarity between sequences of probes and their respective genes is 60%; uniqueness i.e. probe should detect 1 mRNA variant.185 genes encoding the key apoptotic signaling elements were analyzed. Input sequences number was 65,374,567. After selection procedures probe number was restricted to 14416 (7,208 in sense and antisense orientation). Targetm RNAinclude 1134 spliceisoforms. Probe oligonucleotides were synthesized by phosphoramidite method using CustomArray™ platform. Hybridization signal quantification was performed by ElectraSense technology. For probe sensitivity enhancement poly-T (probes in sense orientation) or poly-A (probes in antisense orientation) spacers (6-,10-,14-,18-bp) were embedded between 3'-end of probes and microarray surface. Sample preparation protocol was optimized for cost reduction. Probes with higher sensitivity and specificity have been selected

for final variant of the microarray. Currently estimation of microarray use informative eness is being conducted in context of immune cells functional state monitoring during herpes-virus infection, ovarian and uterine cancer.

УДК 577.1

НАПРАВЛЕННАЯ ДОСТАВКА ЛИПОСОМАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Колоскова О.О., Себякин Ю.Л.
Московский государственный университет тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия
c-221@yandex.ru

Синтезированы производные фолиевой кислоты для конструирования липосом направленного действия.

Ключевые слова: липосомы, адресная доставка, фолиевая кислота

В настоящее время исследования, относящиеся к проблеме направленного переноса в клетку биологически активных веществ (БАВ), поднялись на новый качественный уровень. В связи с этим, активно ведутся разработки методов избирательной доставки лекарственных веществ к месту их действия в организме.

Для противоопухолевой терапии привлекательными мишенями являются фолатные рецепторы, которые широко представлены на поверхности раковых клеток, причем их становится больше на поздних стадиях заболевания.

В данной работе предложено использовать реакцию 1,3-диполярного циклоприсоединения между компонентами, содержащими азидные и свободные терминальные алкиновые остатки. Она нашла применение в различных областях химии, однако особого внимания заслуживает ее использование для получения биоконъюгатов, поскольку и азиды, и алкины невосприимчивы к действию кислорода, реакция может проводится в широком температурном интервале, в большом спектре растворителей (включая воду) и значений pH (5–12).

Реакция между синтезированными компонентами проводилась в метаноле присутствии каталитического количества CuI (полученное производное затем использовали для модификации липосом) или в водном растворе липосом, содержащих в своем составе производное диэфира L-глутаминовой кислоты с терминальным алкиновым остатком.

Полученные по двум методами липосомы имели сходные физико-химические свойства: температура фазового перехода составляла 40°C, размер частиц оказался равным 130–140 нм, стабильность при хранении при комнатной температуре превышала 150 ч.

Таким образом, был разработан способ быстрой и удобной модификации поверхности сформированных и даже нагруженных терапевтическими агентами липосом векторами направленной доставки к фолатным рецепторам благодаря использованию реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения.

TARGETED DELIVERY OF LIPOSOMAL DRUGS

Koloskova O.O., Sebyakin Y.L.
Lomonosov Moscow State University of Fine Chemical Technology, Moscow, Russia
c-221@yandex.ru

Folic acid derivatives have been synthesized for the construction of targeted liposomes.
Keywords: liposomes targeted delivery, folic acid

Currently, research related to the problem of targeted delivery of biologically active substances (BAS) rose to a new level. In connection with this, methods are being actively developed for selective delivery of drugs to their site of action in the body.

For antitumor therapy folate receptors are attractive targets that are widely represented on the surface of cancer cells, and they become more represented in advanced disease.

In this work we proposed to use the reaction of 1,3-dipolar cycloaddition between components containing azide and alkyne-free terminal residues. It has found application in various fields of chemistry, however, is particularly noteworthy for its use of bioconjugates, and as the azides and alkynes impervious to oxygen, the reaction may be carried out in a wide temperature range, a large variety of solvents (including water) and basic pH (5–12).

The reaction was carried out between the synthesized components in methanol with the presence of catalytic amounts of CuI (resulting derivative was then used for modifying liposomes) or in an aqueous solution of liposomes containing diester derivative of L-glutamic acid with a terminal alkyne moiety.

The resulting two types of liposomes had similar physical and chemical properties: the phase transition temperature was 40°C, the particle size was found to be 130–140 nm, storage stability at room temperature of greater than 150 hours.

Thus, a method was developed for quick and easy modification of the liposome surface and even therapeutic agents loaded liposome with vectors targeting to folate receptor by using the 1,3-dipolar cycloaddition reaction.

УДК 577.112, 577.181

СРАВНЕНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ АРЕНИЦИНА, ГОМЕЗИНА И ТАХИПЛЕЗИНА

Кузьмин Д.В., Емельянова А.А., Калашникова М.Б., Пантелеев П.В., Баландин С.В., Овчинникова Т.В.
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН
117997, Москва, Миклухо-Маклая, 16/10
e-mail: denisk@list.ru

На панели опухолевых и нормальных клеточных линий человека был изучен терапевтический потенциал трех катионных β-шпилечных антимикробных пептидов арецицина-1, гомезина и тахиплезина I.

Ключевые слова: антимикробные пептиды, катионные β-шпилечные пептиды, цитотоксический эффект, противоопухолевая активность.

Антимикробные пептиды (АМП) – природные соединения, обладающие широким спектром биологической активности. Для некоторых АМП в экспериментах *in vitro* и *in vivo* показано наличие выраженного противоопухолевого действия. В данной работе был изучен цитотоксический эффект трех катионных β-шпилечных антимикробных пептидов: ареницина-1 из полихеты *Arenicola marina*, тахиплезина из мечехвоста *Tachypleus tridentatus* и гомезина из паука *Acanthoscurria gomesiana*. С помощью МТТ-теста была измерена величина цитотоксического эффекта и определены значения IC50 для каждого из трех пептидов на панели опухолевых и нормальных клеточных линий человека. Для определения специфичности цитотоксического эффекта изучаемых АМП был проведен гемолитический тест. Терапевтический потенциал АМП определяли путем сопоставления значений IC50 для различных клеточных линий. Было показано, что все три изучаемых АМП оказывают выраженный цитотоксический эффект, величина которого варьирует в зависимости от пептида и типа клеточной линии. Показано, что наибольшую опухолевую специфичность проявляет ареницин-1.

Работа поддержана грантом ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы» (соглашение № 14.604.21.0104, уникальный идентификатор RFMEFI60414X0104).

UDC 577.112, 577.181

COMPARATIVE EVALUATION OF CYTOTOXIC ACTIVITY OF ANTIMICROBIAL PEPTIDES ARENICIN, GOMESIN AND TACHYPLESIN

Kuzmin D.V., Emel'yanova A.A., Kalashnikova M.B., Panteleev P.V., Balandin S.V., Ovchinnikova T.V.

M.M. Shemyakin and Yu.A.Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, RAS, Moscow, Russia
117997, Moscow, Miklukho-Maklaya Street, 16/10
e-mail: denisk@list.ru

On different cancer and normal cell linesthe therapeutic potential of three cationic β-hairpinantimicrobial peptides: arenicin-1, gomesin, and tachyplesin I was assayed.

Keywords: antimicrobial peptides, cationic β-hairpin peptides, cytotoxic effect, anticancer activity.

Antimicrobial peptides (AMP) are naturally occurring molecules with a broad spectrum of biological activity. *In vivo* and *in vitro* studies revealed evident selective cytotoxicity of several AMP against cancer cells. In this work we investigated the cytotoxic effect of three cationic β-hairpin antimicrobial peptides: arenicin-1 from the polychaeta *Arenicola marina*, gomesin from the spider *Acanthoscurria gomesiana* and tachyplesin I from the horseshoe crabs *Tachypleus tridentatus*. Cytotoxic effect and IC50 value for every antimicrobial peptide were detected in cancer and normal human cell lines using MTT-test. The hemolytic test was used to estimate non-specific cytotoxicity of arenicin-1, gomesin, and tachyplesin I. Therapeutic potential of the peptides under investigation was evaluated by comparison of IC50 values for cancer and normal cell lines. It was shown that all the three antimicrobial peptides displayed cytotoxic activity that varied depending on the type of the AMP and cell line used. Arenicin-1 was the most selective AMP towards cancer cells.

The work was supported by the Federal Targeted Program «Research and Development in Priority Areas of Science and Technology Complex of Russia for 2014-2020" (agreement No.14.604.21.0104, identification code RFMEFI60414X0104).

УДК 57.083.22:578.22:62-9

МАСШТАБИРОВАНИЕ ПРОИЗВОДСТВА ПСЕВДОВИРУСНОГО ВЕКТОРА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ С ЦЕЛЬЮ ПРОВЕДЕНИЯ ДОКЛИНИЧЕСКИХ И КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Веселова К.М., Омельченко Д.О., Урусов Ф.А., Богословская Е.В., Глазкова Д.В.
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора,
111123, Москва, Россия, ул. Новогиреевская, д. 3а
e-mail: omdeno@gmail.com

Разработана платформа и оптимизированы условия для производства лентивирусных частиц, несущих целевые последовательности для генотерапии ВИЧ инфекции, в количестве достаточном для проведения доклинических и клинических испытаний препарата.

Ключевые слова: ВИЧ, производство лентивирусных частиц, генная терапия.

Введение. в нашей лаборатории была разработана генотерапевтическая лентивирусная конструкция, позволяющая защитить клетки человека от заражения ВИЧ. В данной работе были оптимизированы условия производства, очистки и концентрации суспензии лентивирусных частиц в количестве, достаточном для проведения доклинических и клинических испытаний.

Материалы и методы: лентивирусные частицы нарабатывали с помощью клеток продуцентов HEK293T на 10-слойных клеточных фабриках HyperFlask (Corning) варьируя параметры трансфекции и культивирования клеток. Концентрирование и очистку полученной суспензии лентивирусных частиц проводили с помощью тангенциальной проточной фильтрации (TFF). Титр определяли с помощью флуоресцентной проточной цитометрии (FACS) на трансдуцированных клетках линии SupT1.

Результаты. для получения лучшего титра были подобраны следующие параметры: концентрация реагента для трансфекции PEI (polyethylenimine), общее количество плазмид, соотношение PEI и плазмидных ДНК, плотность засева клеток, состав ростовой среды и оптимальное время сбора частиц. В результате был разработан протокол, который позволяет нарабатывать 5,6 л первичной суспензии лентивирусных частиц в неделю с титром не меньше $5*10^5$ ТЕ/мл с последующей очисткой и концентрированием до 10^9 ТЕ/мл, что достаточно для проведения необходимых испытаний.

УДК 57.083.22:578.22:62-9

SCALING UP PRODUCTION OF PSEUDOVIRAL VECTOR FOR ANTI-HIV GENE THERAPY AIMED FOR CONDUCTING PRE-CLINICAL AND CLINICAL TRIALS

Veselova K.M., Omelchenko D.O., Urusov F.A., Bogoslovskaya E.V., Glazkova D.V.
Federal Budget Institution of Science "Central Research Institute of Epidemiology" of The Federal Service on Customers' Rights Protection and Human Well-being Surveillance, 111123, Moscow, Russia, Novogireevskaya street, building 3a
e-mail: omdeno@gmail.com

We have developed a platform and optimized conditions for production of lentiviral particles, containing target sequences for anti-HIV gene therapy, in scale that is enough to conduct pre-clinical and clinical trials of our drug.

Keywords: HIV, lentiviral particles production, gene therapy.

Introduction. Lentiviral vector for anti-HIV gene therapy has been designed in our laboratory. In this study we have optimized parameters of production, purification and concentration of lentiviral particles in scale enough for conduction of preclinical and clinical trials.

Materials and methods. Lentiviral particles were produced in HEK293T cells using 10-layer culture HyperFlask (Corning) with various transfection parameters and cultivation conditions. Lentiviral particle suspension was purified and concentrated by tangential flow filtration (TFF). Infectious titer was determined by FACS analysis of transduced cells of SupT1 cell line.

Results. Concentration of transfection reagent PEI (polyethylenimine), concentration of plasmids, PEI/plasmid DNA ratio, cell culture density, growth medium recipe and optimal time for pseudoviral particle collection were determined to achieve the best infectious titer. We have created a protocol based on the results of our research that allows us to produce 5,6L of primary lentiviral suspension per week with a titer no less than $5*10^5$ TU/mL with further purification and concentration up to 10^9TU/mL which is enough for all necessary trials.

УДК 577.21; 615.06

МЕТАЛЛСВЯЗЫВАЮЩИЕ СВОЙСТВА N-КОНЦЕВОГО ДОМЕНА БЕЛКА CTR1 (NdCTR1)

Орлов Ю.А., Санькова Т.П., Пучкова Л.В.
Санкт-Петербургский государственный политехнический университет,
Санкт-Петербург, Россия
195251, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, 29
e-mail: orlov239@gmail.com

С целью изучения металлсвязывающих свойств NdCTR1, бактерии *E. coli* трансформированы рекомбинантной плазмидой, содержащей соответствующий фрагмент гена hCtr1. Показано, чтоклетки, экспрессирующиеNdCTR1, имеют повышенную способность аккумулировать металлы, и наличие этого белкавлияет на выживаемость бактерий, обработанных ионами серебра или меди.

Ключевые слова: метаболизм меди, высокоаффинный импортер меди CTR1, клонирование, выживаемость бактерий.

Для коррекции нарушений обмена меди, создания ее дефицита для растущих опухолей, повышения терапевтической эффективности и снижения токсичности противоопухолевых препаратов, используют абиогенные хелаты, имеющие, однако, тяжелые побочные эффекты [1; 2]. В работе изучены металлсвязывающие свойства NdCTR1.

Клонирован фрагмент гена hCtr1[3], кодирующий N-концевой домен белка hCTR1, высокоаффинного импортера меди, в экспрессирующем бактериальном векторе pGEX-4T-1. Тесты на выживаемость проводили титрованием клеток *E. coli*, содержащих NdCTR1, обработанных в течение различных промежутков времени 3.5 мкМ$AgNO_3$ или 80 мкМ$CuSO_4$. Концентрацию металла в клетках измеряли на атомно-абсорбционном спектрометре ZEEnit 650P. Сопоставление индекса выживаемости и динамики накопления металлов показывает, что клетки, экспрессирующие NdCTR1, одновременно с достоверно повышенной способностью аккумулировать как серебро, так и медь, демонстрируют повышенную устойчивость к длительному воздействию ионов серебра и сниженную жизнеспособность при обработке ионами меди, что позволяет считать NdCTR1 потенциально эффективным биогенным адсорбентомионовтяжелых металлов.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Juarez J.C. et al. Copper binding by tetrathiomolybdate attenuates angiogenesis and tumor cell proliferation through the inhibition of superoxide dismutase // Clin Cancer Res. 2006. V. 12. №16. P. 4974–4982.
2. Alvarez H.M.et al. Tetrathiomolybdate inhibits copper trafficking proteins through metal cluster formation. // Science. 2010. V. 327. № 5963.P. 331–334.
3. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/U83460

METALBINDING PROPERTIES OF CTR1 N-TERMINAL DOMAIN (NdCTR1).

Orlov Y.A., Sankova T.P., Puchkova L.V.
Saint-Petersburg state technical university, Saint-Petersburg, Russia
195221, Saint-Petersburg, Politechnicheskayast. 29
e-mail: orlov239@gmail.com

In order to study metalbinding properties of NdCTR1, *E. coli* cells were transformed with recombinant plasmid, containing the appropriate fragment of hCtr1gene. It has been shown that the cells, expressingNdCTR1, better accumulate heavy metal ions and the expression affects bacterial viability under their exposure to silver or copper ions.

Keywords: copper metabolism, high affinity copper importer CTR1, cloning, bacteria viability .

A biogenicchelators are used to correct metabolism of copper disorders, to create its deficiency for growing tumors, to improve the therapeuticefficacy and reduce the toxicity of anticancer drugs. However, they have severe side effects [1; 2]. In this research metalbinding properties of NdCTR1 were studied.

Fragment of hCTR1 gene [3], which codes N-terminal domain of human high affinity copper importer hCTR1, was cloned in bacterial expression vector pGEX-4T-1. Survival tests were carried out by titration of *E. coli* cells, synthetizing NdCTR1, after their different time-interval exposure to 3,5μM$AgNO_3$or 80 μM$CuSO_4$. Metal concentration in cells was measured byatomic absorption spectrometer ZEEnit 650P. Analysis of metal accumulation dynamics has shown that NdCTR1-expressing cells displayed increased copper and silver accumulation abilities. Simultaneously these cells demonstrated higher resistance to long-time silver ionsimpact, than cells without NdCTR1, and lower resistance to copper ions. All these facts allow us to consider NdCTR1 as potential effective biocompatiblead sorbent of heavy metals ions.

References:

1. Juarez J.C. et al. Copper binding by tetrathiomolybdate attenuates angiogenesis and tumor cell proliferation through the inhibition of superoxide dismutase // Clin Cancer Res. 2006. V. 12. №16. P. 4974–4982.
2. Alvarez H.M.et al. Tetrathiomolybdate inhibits copper trafficking proteins through metal cluster formation. // Science. 2010. V. 327. № 5963.P. 331–334.
3. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/U83460

УДК579.674

ВЛИЯНИЕ КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ ОТ ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ КЛЕТОК НА ВОССТАНОВЛЕНИЕ НЕКУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТОК ПРОБИОТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ

Пахомов Ю.Д., Бердюгина О.С., Блинкова Л.П.

ФГБНУ, Научно Исследовательский Институт Вакцин и Сывороток им. И.И. Мечникова ФАНО,

105064, Москва, Малый Казённый пер., 5а Москва, Россия.

E-mail: labpitsred@yandex.ru

Показано, что культуральные жидкости (КЖ) после выращивания клеток миеломы мыши (ММ) и клеток CHO стимулируют жизнеспособные некультивируемые клетки (ЖНК) из лиофилизированных пробиотиков, на основе *Bifidobacteriumbifidum* (BB) и *Lactobacillusacidophilus* (LA).

Ключевые слова: культуральная жидкость, эукариотические клетки, жизнеспособные некультивируемые пробиотические бактерии, восстановление

Введение. Фетальная сыворотка коров (ФСК) и пассаж через организм животного считаются наиболее эффективными факторами влияния эукариот на восстановление ЖНК микроорганизмов. Цель исследования – проверка возможности восстановления ЖНК из коммерческих лиофилизированных пробиотиков КЖ от эукариотических клеток CHO и ММ.

Материалы и методы: Для этого полужидкую среду Элликера (ЭЛ), обогащали добавками КЖ, на основе среды DMEM (1, 5, 10%) после 2 дней культивирования клеток ММ (контроли – DMEMи DMEMс 10% ФСК) или КЖ, на основе среды RPMI 1640 с 5% ФСК и 10μg/ml гентамицинапосле 7 дней культивирования клеток CHO (контроль – среда RPMI 1640 с теми же добавками).Контроль жизнеспособности бактерий в пробиотиках проводили в полужидкой среде ЭЛ без добавок. Посевы инкубировали в течение 7 дней при 30°C. Количество КОЕ/мл учитывали периодически, начиная с 24 часов. Общее число клеток/мл считали в камере Тома. Долю живых клеток в образцах определяли в люминесцентном микроскопе OPTON (Zeiss, Германия) после окрашивания набором люминесцентных красителей Live/Dead (Baclight™, увеличение 8×40). Количество ЖНК определяли по разнице значений КОЕ/мл и числа живых клеток.

Результаты: В популяции BB доля живых клеток составляла 81,48%, из них ЖНК – 99,62%. Для испытанных КЖ показана максимальное увеличение КОЕ/мл в 4,1 раза (при 1%CHOпо сравнению с контролем на среде ЭЛ без добавок). В препарате LAвыявлено 82,82% живых клеток, из которых 99,61 ЖНК. Максимальный реанимирующий эффект КЖ на ЖНК в препарате LA составил 2,24 раза (1% CHOили10% ММ).

Выводы: Эффект восстановления ЖНК в коммерческих препаратах BB и LA, зависел от типа эукариотных клеток и концентрации КЖ.

UDC: 579.674

INFLUENCE OF CULTURE LIQUID FROM EUKARYOTIC CULTURESCELLS ON RESUSCITATION OF VBNC PROBIOTIC BACTERIA

Yu.D. Pakhomov, O.S. Berdyugina, L.P. Blinkova
FSBSI "Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera",
105064 MaliyKazenniy per. 5a, Moscow, Russia.
E-mail: labpitsred@yandex.ru

Experimental data revealed that culture liquid (CL)after growing CHO and mouse myeloma cells stimulate VBNC cells from lyophilized probiotic preparations that contain *Bifidobacterium bifidum* (BB) и *Lactobacillus acidophilus* (LA).

Keywords: culture liquid, eukaryotic cells, viable but nonculturable probiotic bacteria, resuscitation

Introduction. Bovine fetal serum (BFS) and passage through animal organism are considered as the most effective factors of eukaryotes, promoting resuscitation of VBNC (Viable But Non Culturable) bacteria. The purpose of research was to check capability of CL from CHO eukaryotic cells (EC) and mouse myeloma (MM) to resuscitate VBNC cells from commercial lyophilized probiotics that contain BB or LA.

Materials and methods. For that semi-solid Elliker medium (EL) was supplemented with DMEM-based CL (1, 5, 10%) after 2 days of MM cells cultivation (controls – DMEM, DMEM with 10% BFS) or RPMI 1640 medium-based CL with 5% BFS and gentamicin (10 µg/ml) after 7 days of CHO cells cultivation (controls – RPMI 1640 with the same additives). Viability tests in probiotics were conducted in EL without supplements. All bacterial samples were incubated for 7days at 30°C. CFU/ml values were taken periodically, starting from first 24hrs of incubation. Total number of cells was counted in a counting chamber by means of Zeiss microscope (Germany). Portion of viable cells in population was defined with Live/Dead® dye kit (Baclight™) in luminescent microscope (OPTON, 8×40 times magnification). Number of VBNC cells was calculated as difference between amounts of viable cells and CFU/ml.

Results. BB population contained 82.48% viable cells of which 99.62% were VBNC. For tested CLs increase in colony forming activity was 4.1 times (1% of CHO compared to unsupplemented EL medium).In LA probiotic 82.82% cells were viable of which 99.61 were VBNC. Resuscitating effect of CLs in experiments on probiotic with LA was 2.24times (1% of CHO or 10% of MM).

Conclusion. Effect of resuscitation on VBNC cells of commercial lyophilized probiotics that contain BB or LA by CL depended, on the type of eukaryotic cells and concentration of CL.

УДК 544.576

ИЗУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ ГИДРОФИЛЬНЫХ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК

Панкратов В.А., Гайнбух А.В., Гофтман В.В., Горячева И.Ю.
Научный Исследовательский Саратовский Государственный Университет им. Н.Г. Чернышевского
410012 Саратов, ул. Астраханская, 83
e-mail: pankratov_vlad5@mail.ru

Были синтезированы гидрофобные квантовые точки (КТ) с различным цветом свечения в видимой области спектра. Для биоприменения КТ были гидрофилизованы методом покрытия амфифильным полимером и методом силанизации. Изучены и показаны свойства полученных гидрофильных биометок на основе КТ.

Ключевые слова: квантовые точки (КТ), гидрофилизация, амфифильный полимер, силанизация

Квантовые точки (КТ) представляют собой полупроводниковые нанокристаллы с уникальными оптическими свойствами. В отличие от широко используемых органических флуорофоров, КТ обладают широкой полосой поглощения и узкими и симметричными пиками испускания, что позволяет использовать их для мультипараметрического детектирования, в частности для визуализации биологических или химических процессов [1]; КТ также показывают высокую яркостью и несравнимую фотостабильностью, что позволяет использовать их в длительных экспериментах, например, при наблюдении за поведением тех или иных клеток (или компонентов клеток).

Классическим методом получения флуоресцентных КТ является высокотемпературный коллоидный синтез в высококипящем органическом растворителе в инертной атмосфере. Полученные таким методом частицы гидрофобны. Однако для биоприменения необходимыми условиями являются высокая яркость и коллоидная стабильность КТ в водных буферных растворах, а также наличие на поверхности функциональных групп, доступных для связывания с биологическими молекулами [2]. Для придания КТ гидрофильных свойств существует два подхода, один из которых подразумевает замену исходных гидрофобных лигандов на гидрофильные, а другой – покрытие исходных лигандов амфифильными молекулами.

Вариантом метода замены лигандов является силанизация, когда в роли замещающих лигандов выступают молекулы органосиланов, которые при гидролизе образуют вокруг КТ плотную, прозрачную, химически инертную гидрофильную оболочку [3]. А в качестве амфифильных молекул часто используют полимеры, содержащие гидрофобные звенья и фрагментыПЭГа, которые помимо гидрофильности придают КТ биосовместимые свойства. Оба вышеупомянутых метода применяли для синтезированных методом высокотемпературного коллоидного синтеза КТ структуры CdSe/CdS/ZnS и изучали стабильность полученных растворов в водных средах.

1. Goryacheva I. Yu., Lenain P., DeSaeger S. Nanosized labels for rapid immunotests.// Trends in Analytical Chemistry. 2013. Vol. 46. P. 30–43.

2. V. Biju, T. Itoh and M. Ishikawa. Delivering quantum dots to cells: bioconjugated quantum dots for targeted and nonspecific extracellular and intracellular imaging.// Chem. Soc. Rev. 2010.№ 39.P. 3031–3056.

3. Knopp D., Tang D., Niessner R. Bioanalytical applications of biomolecule-functionalized nanometer-sized doped silica particles.// AnalyticaChimicaActa. 2009. Vol. 647. P. 14–30.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, проект 14-13-00229.

STABILITY INVESTIGATION OF HYDROPHILIC QUANTUM DOTS

Pankratov V.A., Gainbuch A.V., Goftman V.V., GoryachevaI.Yu.
National Research Saratov State University
410012 Saratov, Astrachanskaya str., 83
e-mail: pankratov_vlad5@mail.ru

Quantum dots (QDs) with different emission color were synthesized and transferred to water by means of or silanization either amphiphilic polymer covering methods. Optical properties and stability of obtained hydrophilic QDs were investigated.

Keywords: quantum dots (QDs), hydrophilization, amphiphilic polymer, silanization.

Quantum dots (QDs) are semiconductor nanocrystals with unique optical properties. In comparison with widely used organic fluorophores QDs have wide absorption and narrow emission spectra. This fact allows to use them in visualization methods for multilabeling and multidetection [1]. Moreover high brightness and incomparable photostability of QDs can be used in long-term analysis.

There are different methods to produce QDs. One of the most convenient methods is colloidal synthesis in organic solvent which results in bright stable monodisperse hydrophobic QDs. But water solubility and functional groups available for conjugation are restricted for bioapplication of QDs [2]. There are 2 basic approaches for QDs hydrophilization: ligand-exchange method (including silanization) and covering with amphiphilic molecules (including polymers). Silica coating of QDs usually involves initial ligand exchange with silane molecules such as tetraethoxysilane (TEOS) to form nucleation sites on the QD surface followed by further shell growth by hydrolysis and condensation to form dense transparent stable shell on QDs surface [3]. Meanwhile covering with amphiphilic molecules (for example, polymers) retains initial hydrophobic ligands on QDs surface which leads tohigh quantum yields when usage of PEG-contained polymers increases biocompatibility of QDs and decrease their non-specific sorption.

Both methods mentioned above were applied to as-synthesized CdSe/CdS/ZnS QDs and optical and stability characteristics were received.

1. Goryacheva I. Yu., Lenain P., DeSaeger S. Nanosized labels for rapid immunotests.// Trends in Analytical Chemistry. 2013. Vol. 46. P. 30–43.

2. V. Biju, T. Itoh and M. Ishikawa. Delivering quantum dots to cells: bioconjugated quantum dots for targeted and nonspecific extracellular and intracellular imaging.// Chem. Soc. Rev. 2010.№ 39.P. 3031–3056.

3. Knopp D., Tang D., Niessner R. Bioanalytical applications of biomolecule-functionalized nanometer-sized doped silica particles.// AnalyticaChimicaActa. 2009. Vol. 647. P. 14–30.

The work was financially supported by Russian scientific foundation, project 14-13-00229.

УДК 577.112, 577.181

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ АНАЛОГА АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА ТАХИПЛЕЗИНА С ПОВЫШЕННОЙ СТАБИЛЬНОСТЬЮ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

Пантелеев П.В., Иванова Ю.Д., Овчинникова Т.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Россия, 117997, Москва, Миклухо-Маклая 16/10

e-mail: alarm14@gmail.com

С помощью методов направленного мутагенеза и гетерологической экспрессии в бактериальной системе получен ряд аналогов антимикробного пептида тахиплезина. В экспериментах *in vitro* показано, что один из полученных пептидов обладает более высокой устойчивостью к протеолитической деградации в сыворотке крови по сравнению с исходной молекулой.

Ключевые слова: антимикробные пептиды; тахиплезин; гетерологическая экспрессия; сыворотка крови.

Катионные антимикробные пептиды (АМП) – это ключевые и универсальные для большинства многоклеточных организмов компоненты системы врожденного иммунитета, вносящие существенный вклад в защиту от патогенных микроорганизмов. В последние годы АМП привлекают пристальное внимание исследователей в качестве альтернативных традиционным антибиотикам соединений благодаря способности быстро уничтожать широкий спектр мультирезистентных патогенов. Кроме того, мембранолитический механизм действия катионных АМП даёт основания предполагать меньшую вероятность возникновения резистентности патогенных микроорганизмов. К настоящему моменту АМП нашли применение в клинической практике лишь в качестве препаратов для наружного применения. Системное применение АМП возможно, однако в значительной степени затруднено из-за их протеолитической деградации и связывания с белками крови. На сегодняшний день разработаны несколько подходов для повышения стабильности АМП в присутствии сыворотки крови: введение в структуру АМП D-аминокислот, циклизация пептидного остова, защита N- и C-концевого аминокислотных остатков, а также стабилизация молекулы дисульфидными связями. Настоящая работа посвящена разработке биотехнологического способа получения таких соединений.

К числу наиболее активных и устойчивых к действию протеаз АМП животного происхождения относятся молекулы, образующие стабилизированную дисульфидными связями β-шпилечную структуру. В данной работе с помощью методов направленного мутагенеза и гетерологической экспрессии в бактериальной системе был получен ряд аналогов β-шпилечного АМП тахиплезина из подковообразного краба *Tachypleus tridentatus*. Исследование протеолитической деградации АМП проводилось путем их инкубации с разбавленной сывороткой крови человека. На начальном этапе методами высокоэффективной жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии в структуре тахиплезина были выявлены наиболее чувствительные к протеолизу пептидные связи. На основе полученных данных были получены и протестированы модифицированные аналоги тахиплезина. Показано, что высокая стабильность целевого АМП может быть достигнута путем защиты N-концевого лизина добавлением остатка пироглутаминовой кислоты, а также путем замены аргинина в положении 17. В результате был получен рекомбинантный аналог, обладающий вдвое меньшей антибактериальной активностью по сравнению с исходной молекулой, но устойчивый к деградации в сыворотке крови в течение 24 часов.

Работа поддержана грантом Российского научного фонда (соглашение № 14-50-00131).

UDC 577.112, 577.181

BIOTECHNOLOGICAL PRODUCTION OF ANTIMICROBIAL PEPTIDE TACHYPLESIN ANALOG WITH HIGH STABILITY IN SERUM

Panteleev P.V., Ivanova Yu.D., Ovchinnikova T.V.
Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Miklukho-Maklaya str. 16/10, 117997 Moscow, Russia
e-mail: alarm14@gmail.com

In this work we have obtained a set of analogs of β-hairpin antimicrobial peptide tachyplesin by directed mutagenesis followed by expression of the target molecules in bacterial cells. One of the analogs was significantly more stable in human serum *in vitro* in comparison with the original molecule.

Keywords: antimicrobial peptides; tachyplesin; heterological expression; blood serum.

Cationic antimicrobial peptides (AMP) are essential components of innate immune system of the majority of multicellular organisms. AMP substantially contribute to protection against pathogens. In recent years AMP attracted attention as possible alternatives to conventional antibiotics due to their rapid efficacy towards a broad range of multiresistant pathogens, the membranolytic mode of action and the consequent low rate of resistance development. Development of AMP for clinical use has thus far been limited to topical applications. Systemic administration is also possible but not practicable due to proteolytic degradation of AMP and their binding to blood proteins. Many design strategies have been employed to date to increase serum stability of AMP including modifications with unnatural amino acids such as D-isomer amino acids, head-to-tail backbone cyclization, N- and C-terminal capping, and stabilization of target molecules by disulfide bridges. Here we report biotechnological production of AMP analogs with high stability in serum.

Among the most potent and stable to proteolysis AMP of animal origin are peptides with β-hairpin structure stabilized by disulphide bonds. In this work we have obtained structural analogs of β-hairpin antimicrobial peptide tachyplesin from horseshoe crab *Tachypleus tridentatus* by directed mutagenesis followed by expression of the target molecules in bacterial cells. The proteolysis was performed by incubation of the peptides in diluted human serum. Initially we have determined the most susceptible to proteolysis peptide bonds in the original molecule with the use of high-performance liquid chromatography and mass spectrometry methods. Based on these data, several modified analogs were designed and tested. The increased stability was achieved by capping of the N-terminal lysine with pyroglutamic acid and replacing arginine at the position 17. As the result, we have obtained promising recombinant analog which was two-fold less active against tested bacterial pathogens than the original peptide but stable in human serum within 24 hours.

The work is supported by the Russian Science Foundation (the agreement No. 14-50-00131).

УДК 54.057

ДИЗАЙН И СИНТЕЗ КОМПОНЕНТОВ ЛИПОСОМ ПРОЛОНГИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ С ДИСУЛЬФИДНЫМ РАЗРЫВАЮЩИМСЯ ЛИНКЕРОМ

Сарычев Г.А., Буданова У.А., Себякин Ю.Л.

Московский государственный университет тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия.

119571, Москва, проспект Вернадского, д.86

Email: sarychevgregor@gmail.com

С целью увеличения времени активности липосольной дисперсии, в нашей лаборатории был разработан и осуществлен синтез модифицированного компонента липосомальных агрегатов следующего вида (Рис.1):

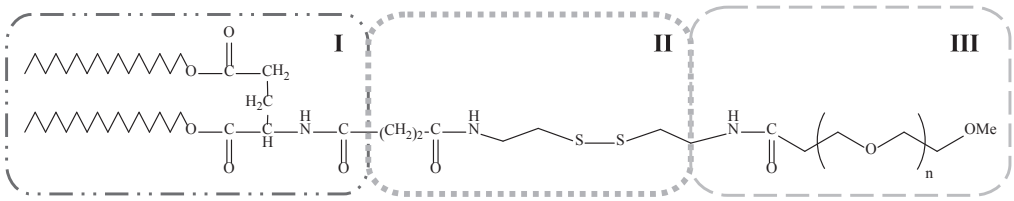


Рис. 1

Блок I представляет собой гидрофобный якорь, представленный дигексадециловым эфиром L-глутаминовой кислоты, модифицированный фрагментом янтарного ангидрида. Блок II – линкер на основе цистамина, используется для дистанцирования полярной головы, за счет разрыва дисульфидной связи в организме под действием глютатионов уменьшается токсичность. Блок III является полярной частью молекулы, для создания которой использовался окисленный остаток О-метилполиэтиленгликоля.

Ожидается, что включение данного соединения в липосомальный бислой, позволит пролонгировать стабильность образуемых агрегатов. Наличие линкера с дисульфидной связью обеспечит отщепление ПЭГа, и как следствие большую биодоступность переносмого липосомами активного агента.

Описанные результаты были получены в рамках выполнения государственного задания Минобрнауки России, номер проекта 4.128.2014/K.

UDC 54.057

DISIGHN AND SINTHESIS OF LIPOSOME'S COMPONENTS FOR LONG-ACTION WITH DISULFIDE CLEAVEBLE LINKER

Sarychev G.A., Budanova U.A., Sebyakin Y.L.
Lomonosov Moscow State University of Fine Chemical Technology,
Moscow, Russia. 119571, Moscow, prospect Vernadskogo, 86.
Email: sarychevgregor@gmail.com

To increase the time of activity of lysosomal dispersion in our laboratory was designed and synthesized a modified liposome unit's component of the following form (Fig.1):

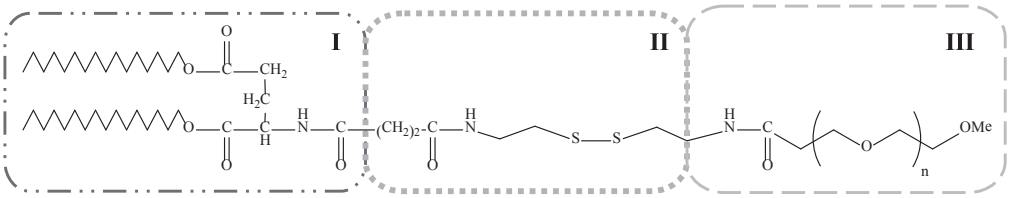


Fig. 1

Block I is hydrophobic domain, formed by L-glutamic acid dihexadecil ester, was modified by succinic anhydride fragment. Block II – linker based on cystamine, was used for polar head group's distancing, with cleaving of disulfide bond in body, affected by glutationes, toxicity would be reduced. Block III is a polar head group of molecule, was obtained by O-methyl etilenglicol oxidation.

Expected, that including of this compound into liposomal bilayer, allow to roll stability of formed units, PEG removal is provided by disulfide linker, that will increase bioavailability of contained in liposomes drug agent.

These results were obtained in the framework of the state order of the Russian Ministry Of Education, project number 4.128.2014/K.

УДК 535.71

ПОЯВЛЕНИЕ УПОРЯДОЧЕННОСТИ МЕМБРАН В ЛИПОСОМАХ ПОД ДЕЙСТВИЕМ НАНОДИСПЕРСНОГО ПОРОШКА ЖЕЛЕЗА

Шаталова О.В., Фаткуллина Л.Д., Кривандин А.В., Голощапов А.Н., Бурлакова Е.Б.
ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия
119334, Москва, ул. Косыгина, 4.
e-mail: shatalova@sky.shph.ras.ru

Исследовано действие нанодисперсного порошка железа на мембраны липосом методом малоуглового рентгеновского рассеяния. Установлено, что нанодисперсный порошок железа способен приводить к упорядочению мембран в липосомах. Этот результат является прямым доказательством действия наночастиц железа на липидные мембраны.

Ключевые слова: нанодисперсный порошок железа, липидные мембраны, липосомы, малоугловое рентгеновское рассеяние

Для разработки методов оценки безопасности действия наночастиц металлов на организм человека и животных крайне важно детальное изучение действия наночастиц металлов на клеточные мембраны. В этой работе методом малоуглового рентгеновского рассеяния исследовано

действие нанодисперсного порошка железа на липосомы, сформированные из яичного фосфатидилхолина. Нанодисперсный порошок железа был получен методом гетерофазного взаимодействия и охарактеризован при помощи рентеновской порошковой дифрактометрии (α-Fe со средним размером кристаллитов ~30 нм). При инкубации суспензии липосом из яичного фосфатидилхолина, не имеющих изначально упорядоченной укладки мембран, с нанодисперсным порошком железа в течение нескольких суток на кривой малоуглового рентгеновского рассеяния появляется дифракционный максимум, который свидетельствует о формировании в суспензии липосом упорядоченной многослойной структуры из липидных мембран с периодом укладки мембран ~7 нм. В отсутствие нанодисперсного порошка железа в контрольной суспензии липосом формирования таких упорядоченных многослойных мембранных структур не наблюдается. Полученные результаты являются прямым доказательством действия наночастиц железа на липидные мембраны. По-видимому, такое действие нанодисперсного порошка железа объясняется изменением сил взаимодействия липидных мембран в суспензии в результате изменения поверхностного заряда мембран под действием ионов, поступающих в суспензию в присутствии нанодисперсного порошка железа.

UDK 535.71

ARISING OF MEMBRANE ORDERING IN LIPOSOMES UNDER THE ACTION OF NANODISPERSED IRON POWDER

O.V. Shatalova, L.D. Fatkullina, A.V. Krivandin, A.N. Goloschapov, E.B. Burlakova
Emanuel Institute of Biochemical Physics RAS, Moscow, Russia
4 Kosygin Street, Moscow, 119334
e-mail: shatalova@sky.shph.ras.ru

The action of nanodispersed iron powder on the membranes of liposomes was studied by the method of small-angle X-ray scattering. It was established that nanodispersed iron powder is able to induce membrane ordering in lipodmes. This result is an evidence of the action of iron nanoparticles on lipid membranes.

Keywords: nanodispersed iron powder, lipid membranes, liposomes, small-angle X-ray scattering.

To develop the methods of assessment of the safety of the action of metal nanoparticles on the human body and animals the detailed study of the action of metal nanoparticles on cell membranes is extremely important. In this work the action of nanodispersed iron powder on liposomes prepared from egg phosphatidylcholine was studied by small-angle X-ray scattering. The nanodispersed iron powder was obtained by the method of heterophase interaction and was characterized by X-ray powder diffractometry (α-Fe with average crystal size ~30 nm). During incubation of the suspension of egg phosphatidylcholine liposomes, which initially had no membranes ordered stacking, with iron nanodispersed powder the diffraction peak on the small-angle X-ray scattering curve appeared within several days, which indicates the formation of an ordered lipid membrane multilayer structure in liposome suspension with membrane stacking period ~ 7 nm. In the absence of the nanodispersed iron powder in a control liposome suspension the formation of such ordered membrane multilayer structures was not observed. The result obtained is a direct proof of the action of iron nanoparticles on the lipid membranes. Apparently such action of nanodispersed iron powder may be explained by the changing of intermembrane interaction forces in liposome suspension resulting from the changes in the membrane surface charge by ions emerging in suspension from nanodispersed iron powder.

УДК 576.522

ТЕТРАМЕРНЫЙ БЕЛОК, СПОСОБНЫЙ К СЕЛЕКТИВНОМУ УЗНАВАНИЮ КЛЕТОК МЕЛАНОМЫ ЧЕЛОВЕКА

Сыркина М.С.[1,2]***, Рубцов М.А.**[1]**, Вейко В.П.**[2]

[1]*МГУ имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия;119899, Москва, Ленинские Горы, 1/12*

[2]*Институт биохимии им. А.Н.Баха РАН, Москва, Россия;*

119071, Москва, Ленинский проспект, 33, корп. 2

**e-mail: krimsy@yandex.ru*

Получен тетрамерный белок SR15, обладающий способностью связывать интегриновые рецепторы αvβ1, αvβ3, αvβ5, αvβ8, αvβ6 и α5β1 на поверхности клеток меланомы человека (MeWo) и снижать пролиферативную активность таких клеток.

Ключевые слова: меланома, интегрин, RGD, стрептавидин

Участие молекул клеточной адгезии в процессе инвазии метастазирующих опухолей в окружающие ткани активно исследуется в настоящее время. Известно, что повышенная инвазивность и способность к метастазированию, характерные для меланомы на стадии вертикального роста, опосредованы специфическими интегриновыми рецепторами. Некоторые типы интегринов, гиперэкспрессирующиеся в клетках меланомы с высоким метастатическим потенциалом и имеющих низкий уровень экспрессии в нормальных меланоцитах, могут использоваться в качестве мишеней при создании противомеланомных препаратов и диагностических средств. Среди таких интегринов – рецепторы, узнающие трипептид RGD.

Нами был получен экспрессиионный вектор, аналогичный конструкциям, описанным в [1, 2]. Данный вектор обеспечивает продукцию в клетках *E. coli* стрептавидина, слитого с RGD-содержащим пептидом (SR15). Была продемонстрирована способность такого белка к селективному связыванию интегринов αvβ1, αvβ3, αvβ5, αvβ8, αvβ6 и α5β1 на поверхности меланомных клеток человека (MeWo).

Изображения клеток линии MeWo, фиксированных после инкубации с FITC-меченым белком SR15, полученные методом конфокальной микроскопии, позволили детектировать светящиеся точки на мембране и в компартменте, типичном для расположения эндосом. Из литературных данных известно, что активированные рецепторы проходят эндоцитоз с последующим рециклингом [3]. Таким образом, наблюдаемая интернализация, возможно, возникала вследствие активации интегриновых рецепторов, связавших лиганд.

С помощью теста XTT было установлено, что белок SR15 в концентрации 0,0015 мкМ снижает пролиферативную активность клеток линии MeWo на 15% [4].

Работа выполнена при частичном финансировании из средств ГК 14.N08.12.0009 (Министерство образования и науки РФ), гранта РФФИ 13–04–01875

Ссылки:

1. Syrkina M.S., Shirokov D., Rubtsov M., Kadyrova E.L., Veiko V.P., Manuvera V.A.Preparation and functional evaluation of RGD-modified streptavidin targeting to integrin-expressing melanoma cells.// Protein Eng Des Sel. 2013. Vol. 26. № 2. P. 143–150

2. Сыркина М.С., Рубцов М.А., Широков Д.А., Вейко В.П., Попов В.О.Слитый белок, специфически узнающий меланомные клетки. // Патент РФ № RU 2012150079 A

3. Arjonen A., Alanko J., Veltel S., Ivaska J. Distinct Recycling of Active and Inactive β1 Integrins. // Traffic. – 2012. Vol. 13. P. 610–625

4. Syrkina M.S., Rubtsov M., Shirokov D., Veiko V.P.RGD-modified streptavidin selectively binds to and inhibits growth of cancer cells.// FEBS Journal. 281, C. 501–501

RGD-MODIFIED STREPTAVIDIN SELECTIVELY BINDS TO AND INHIBITS GROWTH OF CANCER CELLS

Syrkina M.S.[1,2]*, **Rubtsov M.A.**[1], **Veiko V.P.**[2]
[1]*Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation*
Leninskie Gory, 1/12, 119899, Moscow
[2]*A.N.Bakh Institute of Biochemistry RAS, Moscow, Russian Federation*
Leninsky prospekt, 33/2, 119071, Moscow
**e-mail: krimsy@yandex.ru*

A tetrameric protein SR15 with an ability to decrease the proliferation rate of melanoma cells (MeWo) has been constructed. This effect results from the selective binding of SR15 with integrin receptors αvβ1, αvβ3, αvβ5, αvβ8, αvβ6 and α5β1 which are presented on the surface of such cells.

Keywords: melanoma, integrin, RGD, streptavidin

Nowadays the important role of cell adhesion molecules in invasion of metastatic tumor in surrounding tissues is well known. In particular the increased invasiveness and metastasizing that is typical for vertically growing melanoma is known to be mediated by specific integrins. So, several integrins which are overexpressed in melanoma cells with high metastatic potential and exhibits low expression level in normal melanocytes used to be an attractive targets for melanoma diagnostics and therapy. Among such promising targets there are integrins which recognize the RGD peptide sequence.

An expression vector analogous to constructs described in [1, 2] has been constructed. This vector provides the production of the streptavidin fused with RGD-bearing peptide (SR15) in *E. coli*. This protein was demonstrated to bind selectively to integrins αvβ1, αvβ3, αvβ5, αvβ8, αvβ6 and α5β1 on the surface of human melanoma cells (MeWo).

Confocal fluorescent imaging of MeWo cells, fixed after incubation with FITC-labeled SR15 enables to detect luminous spots on the membrane and in the compartment which is typical for endosome location. Internalization observed might be caused by activation of the integrin receptors after binding with ligand. It's known that activated receptors undergo endocytosis with the following recycling [3].

An influence of different concentrations of SR15 on cell viability was estimated by XTT-test. It was demonstrated that incubation of MeWo in the presence of 0,0015 lM SR15 leads to decrease in proliferation rate (up to 15%).

This work is partially supported by: RFBR grant 13–04–01875 and MSERF grant 14.N08.12.0009.

References:

1. Syrkina M.S., Shirokov D., Rubtsov M., Kadyrova E.L., Veiko V.P., Manuvera V.A.Preparation and functional evaluation of RGD-modified streptavidin targeting to integrin-expressing melanoma cells.// Protein Eng Des Sel. 2013. Vol. 26. № 2. P. 143–150
2. Сыркина М.С., Рубцов М.А., Широков Д.А., Вейко В.П., Попов В.О.Слитый белок, специфически узнающий меланомные клетки. // Патент РФ № RU 2012150079 A
3. Arjonen A., Alanko J., Veltel S., Ivaska J. Distinct Recycling of Active and Inactive β1 Integrins. // Traffic. 2012. Vol. 13. P. 610–625
4. Syrkina M.S., Rubtsov M., Shirokov D., Veiko V.P.RGD-modified streptavidin selectively binds to and inhibits growth of cancer cells.// FEBS Journal. 281, C. 501–501

ПОЛУЧЕНИЕ АКТИВНОГО ПОСЕВНОГО МАТЕРИАЛА *STREPTOMYCES LAVENDULAE* С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЛАБОРАТОРНОГО ШЕЙКЕРА CERTOMAT®

Умнова О.А., Булдакова Т.В., Колодязная В.А., Яковлева Е.П.
ГБОУ ВПО Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия, Санкт-Петербург, Россия 197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14
E-mail: olga.umnova@pharminnotech.com

Технология получения фермента холестеролоксидазы осуществляется в два этапа: выращивание посевного материала и ферментация. Предлагается проводить процесс выращивания посевного материала на современном оборудовании – лабораторном шейкереCERTOMAT® CTplus (SartoriusAG) взамен устаревшей технологии на качалочной платформе в термостатируемых условиях.

Ключевые слова: ферментация, холестеролоксидаза, посевной материал, качалочная платформа, лабораторный шейкер.

В настоящее время диагностические тест-системы нашли широкое применение в медицинской практике. С помощью них осуществляют анализ содержания холестерина в сыворотке или плазме крови. Одним из компонентов такой тест-системы является фермент холестеролоксидаза, который катализирует окисление холестерина и относится к классу оксидоредуктаз.

В промышленности фермент холестеролоксидазу получают микробным синтезом[1]. На кафедре биотехнологии СПХФА для проведения процесса биосинтеза используют культуру микроорганизма Streptomyceslavendulae.

Одним из существенных условий успешного проведения процесса культивирования продуцента является получение активного посевного материала. Ранее посевной материал выращивался в качалочных колбах на 750 мл с использованием качалочной платформы в термостатируемой комнате, температура в которой поддерживалась с помощью радиатора. Показано, что культура при глубинной ферментации в условиях качалочных колб образует ферментс уровнем активности достаточным для егопоследующего выделения[2]. Однако такой метод выращивания посевного материала имеет ряд существенных недостатков.

Главным недостатком является невозможность регулирования параметров культивирования продуцента. Это исключает достижимость проведения процесса в стандартных условиях[3]. Таким образом, значительно затрудняется масштабирование[4]процесса ферментации с качалочных колб в лабораторный биореакторBiostatAplus[5], что является следующим этапом исследования.

Помимо этого, существенными недостатками качалочной платформы можно считать ее высокий уровень износа и отсутствие на рынке качалочных колб, которые сняты с производства. Этот факт ставит под сомнение возможность в дальнейшем проводить исследования с использованием данного устройства.

Для решения всех проблем на стадии выращивания посевного материала предлагается использовать лабораторный шейкер CERTOMAT®CTplus[6]. Использование шейкера значительно упрощает задачу, поскольку система полностью автоматизирована. Возможен полный контроль параметров процесса, что позволяет подобрать наиболее оптимальные условия получения посевного материала, а именно объем питательной среды, время культивирования, температуру, влажность, количество оборотов вращения платформы[7].

Получение активного стандартного посевного материала продуцента холестеролоксидазы Streptomyceslavendulae является необходимым условием для проведения процесса биосинтеза фермента с использованием пилотной установки в лаборатории[8].

Список литературы:

1. Richmond W. Preparation and Properties of a Cholesterol Oxidase from Nocardia sp. and its Application to the Enzymatic Assay of Total Cholesterol in Serum /Richmond W. // CLINICAL CHEMISTRY, Vol.19, No. 12, 1973. – P. 1350–1356.

2. Стребулаева Е.А. Поддерживающий отбор для выбора активного клона Streptomyceslavendulae – продуцента фермента // Е.А. Стребулаева, Т.В. Булдакова // Сборник материалов IV Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего», Санкт-Петербург 14–15 апреля 2014 г. – СПб.: СПХФА, 2014. С. 217–221.

3. Бирюков В.В. Основы промышленной биотехнологии. – М.: КолосС, 2004. – 296 с.: ил. – (Учебники и пособия для студентов высш. учеб. заведений).

4. Бирюков В.В. Оптимизация периодических процессов микробиологического синтеза // Кантере В.М. – М.: Наука, 1985. – 296 с.

5. Умнова О.А. Оптимизация процесса культивирования продуцента холестеролоксидазы Streptomyceslavendulae в условиях лабораторной пилотной установки BiostatAplus // О.А. Умнова, Д.С. Степанин, Т.В. Булдакова // Сборник материалов IV Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего», Санкт-Петербург 14–15 апреля 2014 г. – СПб.: СПХФА, 2014. С. 347–349.

6. Бугрова В.А. Стандартизация параметров культивирования S. lavendulae // В.А. Бугрова, Е.А. Стребулаева, Т.В. Булдакова, В.А. Колодязная, Е.П. Яковлева // Материалы Международной научно-практической конференции «Биотехнология и качество жизни», Москва 18–20 марта 2014 г. – М.: ЗАО «Экспо-биохим-технологии», РХТУ им. Д.И. Менделеева, 2014. С. 125–127.

7. Яковлева Е.П. Использование современного оборудования компании SartoriusStedim-Biotech в учебном процессе и научных исследованиях // Е.П. Яковлева, В.А. Колодязная, Н.В. Котова, О.В. Топкова, Т.В. Булдакова, А.Н. Серкова // Сборник материалов учебно-методической конференции «Инновации в подготовке кадров для фармацевтической отрасли», Санкт-Петербург, 25 марта 2014 г. – СПб.: СПХФА, 2014. С. 171–174.

8. Колодязная В.А. Инновационные подходы к оптимизации процесса биосинтеза холестеролоксидазы // В.А. Колодязная, Т.В. Булдакова, В.А. Бугрова, Е.П. Яковлева // Сборник материалов II Всероссийскойнаучно-практической конференции с международным участием «Инновации в здоровье нации», Санкт-Петербург 17 ноября 2014 г. – СПб.: СПХФА, 2014. С. 395–399.

9. Кантере В.М. Теоретические основы технологии микробиологических производств: Учебник и учеб. Пособия для студентов высш. учеб. Заведений. – М.: Агропромиздат, 1990. – 271с.

10. Тихонов И.В. Биотехнология: Учебник / Рубан Е.А.– СПб.: ГИОРД, 2005. – 792с.

THE PRODUCTION ACTIVE INOCULUM STREPTOMYCES LAVENDULAE USING LABORATORY SHAKER CERTOMAT®

Umnova O.A., Buldakova T.V., Kolodyaznaya V.A., Jakovleva E.P.

St. Petersburg State Chemical-Pharmaceutical Academy of Ministry of Health of Russia, ProfessoraPopovast., 14A, post code 197376

E-mail: olga.umnova@pharminnotech.com

Nowadays diagnostic test-systems are widely used in medical practice. The amount of cholesterol in the blood plasma or serum can be measured with the help of such tests. This cholesterol screening

tests consist the cholesterol oxidase enzyme as a component, which catalyzes the oxidation of cholesterol and belongs to the family of oxidoreductases.

The cholesterol oxidaseenzyme is produced industrially by microbiological synthesis. At the Department of Biotechnology SPCPA to carry out cholesterol oxidase production use *Streptomyces lavendulae*strain.

One of significant conditions of successful cultivation process is to produce an active inoculum. Previously inoculum was grown in 750 ml flasks on a shaker platform in the thermostatically controlled room, where temperature was maintained by means of a radiator. It is shown that the culture during submerged fermentation in shake flasks produced enzyme that is activity enough for the following its isolation. However, this method of inoculums production has some considerable draw backs.

The fist and most significant disadvantage of this method is no way to control the parameters of cultivation process. It excludes the possibility of realization process in standard conditions. There fore, it becomes more difficult to scale up fermentation process from shake flasks to a laboratory bioreactor Biostat Aplus, that is the next stage of the investigation.

In addition, substantial short comings of shaker platform can be considered its high level of deterioration and lack of shake flasks on the market, which are removed from production. This fact casts doubt on the possibility in the future to conduct research using this device.

To solve all the problems at the stage of inoculum production are encouraged to use laboratory shaker CERTOMAT® CTplus. Using the shaker simplifies the problem, because the system is fully automated. It is possible to control process parameters, that allows to choose the most optimal inoculum growth conditions, in fact the volume of the culture medium, cultivation time, temperature, humidity, quantity of turns of the rotating platform.

The production active standard inoculum of cholesterol oxidase producer *Streptomyces lavendulae* is a necessary condition for carrying out process of enzyme biosynthesis of with use of pilot scale bioreac

УДК 577.114.7

ДЕНДРИМЕРОПОДОБНЫЕ НЕОГЛИКОКОНЪЮГАТЫ С ОСТАТКАМИ α-D-МАННОЗЫ ДЛЯ ИНГИБИРОВАНИЯ АДГЕЗИИ ЛЕКТИНОВ FimH

Щелик И.С., Шуина Е.Д., Шепелевич В. В., Магасумова А.И., Гостёнин В.Б., Курочкина Н.А., Себякин Ю.Л.

Московский государственный университет тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

119571, Москва, пр. Вернадского, д. 86

e-mail: c-221@yandex.ru

Важным для инициации различных инфекционных заболеваний является адгезия патогенных организмов в ткани хозяина. Во многих системах она опосредована лектинами – фимбриями, экспонированными на поверхности инфекционных микроорганизмов, которые связываются с помощью комплементарных углеводов на поверхности ткани хозяина.

Наиболее хорошо охарактеризованными являются фимбрии I типа, которые способны связываться со звеньями α-D-маннозы в структуре гликолипидов на поверхности эукариотических клеток разнообразных типов. Специфические лектины на их концах, называемые FimH непосредственно обеспечивают прикрепление к гликолипидному рецептору. Фимбрии I типа являются критическими вирулентными факторами уропатогенной кишечной палочки и широко

распространены среди энтеробактерий. Множество различных маннозидов и конъюгатов маннозы, были получены и протестированы как ингибиторы бактериальной адгезии опосредованной фимбриями I типа, преимущественно *in vitro*.

В нашей лаборатории были получены маннозосодержащие дендримероподобные соединения с различными линкерами и разветвляющими компонентами для изучения возможности предотвращать связывание фимбрий I типа с клетками организма.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 14-04-01557)

UDC 577.114.7

ANALOGUES OF DENDRIMERIC NEOGLYCOCONJUGATES WITH α-D-MANNOSE RESIDUES FOR INHIBITION LECTIN FimH ADHESION

Shchelik I.S., Shuina E.D., Shepelevich V.V., Magasumova A.I., Gostenin V.B., Kurochkina N.A., Sebyakin U.L.

Lomonosov Moscow State University of Fine Chemical Technologies, Moscow, Russia
119571, Moscow, Vernadskogo av., 86
e-mail: c-221@yandex.ru

The adhesion of pathogenic organisms in the host tissue is important for the initiation of various infectious diseases. In many systems it is mediated by lectins – pili, exposed on the surface of infectious microorganisms, which are binding to the host tissue surface via complementary carbohydrates.

The Type I is the most well-characterized type of pili that is capable of binding to α-D-mannose unit in a structure of glycolipids on the surface of eukaryotic cells of different types. The attachment to a glycolipid receptor is provided by specific lectins on their ends, called FimH. Type I pili are critical virulence factors of uropathogenic *E. coli* and there are widespread among enteric bacterium. Many different mannosides and α-D-mannose conjugates were prepared and tested as inhibitors of bacterial adhesion mediated by type I pili, predominantly *in vitro*.

Mannose-containing analogues of dendrimeric compounds with different linkers and branching components were obtained in our laboratory to explore the ability to prevent the binding of type I pili with body cells.

This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research (grant № 14-04-01557)

УДК 577.21

МИКРО РНК ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ОПУХОЛЕВОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ ЭКСПРЕССИИ ТРАНСГЕНА ПРИ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ

Шепелев М.В., Вихрева П.Н., Коробко И.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии гена Российской академии наук
Москва, Россия, 119334, ул. Вавилова, д. 34/5
e-mail: mshepelev@mail.ru

Для повышения опухолевой специфичности экспрессии терапевтических трансгенов при генной терапии злокачественных новообразований был использован метод, основанный на использовании в генетической конструкции сайтов узнавания микроРНК с дифференциальной экспрессией в опухолевых клетках и нормальных тканях. Были предложены критерии для вы-

бора оптимальных микроРНК для использования их сайтов узнавания в экспрессионных кассетах для целей генной терапии опухолей.

Ключевые слова: микроРНК; генная терапия опухолей; терапевтический трансген; рак легкого; люцифераза.

Одной из важнейших задач при разработке генно-терапевтических подходов к лечению онкологических заболеваний является обеспечение опухолевой специфичности экспрессии терапевтического трансгена с сохранением ее адекватного абсолютного уровня в опухолевых клетках-мишенях. Нами была исследована возможность повышения опухолевой специфичности экспрессии трансгена в клетках немелкоклеточного рака легких (НМКРЛ), основанная на использовании в генетической конструкции сайтов узнавания микроРНК, дифференциально экспрессирующихся в опухолевых клетках и нормальных тканях. На основании опубликованных данных и результатов анализа экспрессии микроРНК в клеточных линиях рака легкого человека и в нормальных клетках бронхиального эпителия для исследования были выбраны микроРНК let-7-a, miR-34-a и miR-138-2, характеризующиеся сниженной экспрессией в опухолевых клетках. Нами был проведен анализ влияния введения двух, четырех или шести сайтов узнавания этих микроРНК в 3'-нетранслируемую область транскрипта репортерного гена люциферазы на уровень его активности в клетках линий НМКРЛ. В результате было установлено, что одно лишь снижение уровня микроРНК в опухолевых клетках не является достаточным критерием для выбора микроРНК для обеспечения функциональности экспрессионной кассеты по совокупности уровня экспрессии трансгена и специфичности экспрессии в опухолевых клетках. Помимо относительного снижения уровня микроРНК в опухолевых клетках, существенным фактором является абсолютный уровень микроРНК, который обуславливает абсолютный уровень экспрессии трансгена. На основании полученных данных предложены критерии для выбора оптимальных микроРНК для использования сайтов их узнавания в экспрессионных кассетах для целей генной терапии опухолей. Результаты работы открывают перспективы персонализации генно-терапевтических противоопухолевых препаратов на основании индивидуальных особенностей опухоли, позволяя увеличивать эффективность воздействия и минимизировать побочные эффекты генно-терапевтических схем лечения онкологических заболеваний.

UDC 577.21

MICRO RNAs AS A TOOL TO PROVIDE TUMOR-SPECIFIC TRANSGENE EXPRESSION FOR CANCER GENE THERAPY

Shepelev M.V., Vikhreva P.N., Korobko I.V.
Institute of Gene Biology, Russian Academy of Sciences
Moscow, Russia, 119334, Vavilova Str, 34/5
e-mail: mshepelev@mail.ru

To improve tumor specificity of therapeutic transgene expression, we introduced recognition sequences of microRNAs with differential expression in cancer and normal cells into genetic constructs for cancer gene therapy. We proposed criteria for choosing optimal microRNAs whose recognition sequences could be efficiently used in expression cassettes for cancer gene therapy.

Keywords: microRNA; cancer gene therapy; therapeutic transgene; lung cancer; luciferase.

One of the main challenges upon development of gene therapy approaches to cancer therapy is to provide tumor-specific expression of therapeutic transgene. At the same time, it is crucial to maintain transgene expression at the appropriate level in cancer cells. Here we used an approach based on usage of microRNAs with differential expression in non-small cell lung cancer (NSCLC) cell lines and normal cells, and introduced microRNA recognition sequences into genetic constructs for cancer gene therapy. Based on published data and analysis of microRNA expression in human lung cancer cell lines and normal bronchial epithelia cells, we chose microRNAs let-7-a, miR-34-a and miR-138-2 that were downregulated in cancer cell lines. We introduced two, four or six microRNA reconition sites into 3'-untranslated region of luciferase reporter gene transcript and measured reporter gene activity in NSCLC cell lines. We found that the downregulation of microRNA alone is not a sufficient criterion for optimal microRNA selection to provide both tumor specific expression and appropriate transgene expression level. Besides suppression of particular microRNA in cancer cells, its absolute expression level is also of importance as it determines the absolute transgene expression level. Our data allowed us to propose criteria for choosing the optimal microRNAs whose recognition sequences could be used in expression cassettes for cancer gene therapy. Our data point the way towards personalization of cancer gene therapy which is based on individual features of tumors, thus allowing to increase the efficacy of treatment and to minimize side effects of cancer gene therapy.

УДК 616.8-091.931.

НЕЙРИТ-ИНГИБИРУЮЩИЙ ЭФФЕКТ ПЛАЗМЫ КРОВИ БОЛЬНЫХ СПИНАЛЬНОЙ МЫШЕЧНОЙ АТРОФИЕЙ

Соколова М.Г.[1]**, Пеннияйнен В.А.**[2]

[1]*ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И.Мечникова» Минздрав России, Санкт-Петербург, Россия191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д.41*

[2]*ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия, г. Санкт-Петербург, наб. Макарова д.6*

e-mail: sokolova.m08@mail.ru

Изучено действие сыворотки крови больных спинальная мышечная атрофия (СМА) 2 типа на рост нейритов сенсорных ганглиев 10–12 дневных куриных эмбрионов в органотипической культуре ткани. Выявлено, что сыворотка крови больных СМА 2 типа ингибирует рост нейритов сенсорных нейронов спинальных ганглиев.

Ключевые слова: спинальная мышечная атрофия (СМА) 2 типа; органотипическая культура ткани; спрутинг, ингибирующий эффект.

Введение. Изучение плазмы крови больных СМА в органотипической культуре ткани может уточнить патогенез этого заболевания и расширить терапевтические возможности лечения СМА. СМА 2 типа – наследственное заболевание, характеризующееся дегенеративным изменением в альфа-мотонейронах передних рогов спинного мозга и проявляется слабостью проксимальной мускулатуры, парезами, дыхательной недостаточностью и ранней смертностью. **Цель исследования:** изучить действие сыворотки крови больных СМА 2 типа на рост нейритов сенсорных ганглиев 10–12 дневных куриных эмбрионов в органотипической культуре ткани. **Материалы и методы:** Исследования проведены на 500 эксплантатах сенсорных ганглиев 10–12-дневных куриных эмбрионов, культивируемых в чашках Петри на подложках из коллагена в CO2-инкубаторе («Sanyo», Япония) в течение 3-х суток при 36,5°C и 5% CO2. Контрольные эксплантаты культивировали в питательной среде стандартного состава. В экспериментальных

чашках в культуральную среду добавляли сыворотку крови больных СМА 2 типа. Для визуализации объектов использовали микроскоп «AxioObserver Z1» («CarlZeiss», Германия) и программу ImageJ. Для количественной оценки роста эксплантатов использовали морфометрический критерий индекс площади (ИП), который рассчитывали как отношение площади эксплантата к площади центральной зоны. Контрольное значение ИП принимали за 100%. Результаты и обсуждение: сыворотка крови 5 больных СМА 2 типа была исследована в широком диапазоне разведений (1:100–1:2). В разведениях 1:2, 1:10, 1:50 сыворотка больных полностью блокировала рост нейритов сенсорных ганглиев. При добавлении в культуральную среду сыворотки крови в разведении 1:70 наблюдали достоверное нейрит-ингибирующее действие. ИП исследуемых эксплантатов был ниже контрольных значений в среднем на 25%. При дальнейшем разведении сыворотка крови на рост нейритов не имела влияния.

Вывод. проведенное исследование показало, что сыворотка крови больных СМА 2 типа ингибирует рост нейритов сенсорных нейронов спинальных ганглиев.

NEURIT-INHIBITORY EFFECT OF BLOOD PLASMA OF PATIENTS WITH SPINAL MUSCULAR ATROPHY

Sokolova M.G.[1], Penniyaynen V.A.[2]

[1]*North-West State Medical University n.a. I.I. Mechnikov, 191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д.41*

[2]*FSBU Institute of physiology n.a. I.P. Pavlov of RASSaint Petersburg.наб. Макарова д.6*

sokolova.m08@mail.ru

The study of blood plasma of patients with SMA in organotypic tissue culture. The performed research has shown that blood serum of patients with type 2 SMA inhibits growth of neurites of sensory neurons of spinal ganglia.

Keywords: Type 2 spinal muscle atrophy (SMA), organotypic tissue culture, blood serum, neurite inhibitory effect.

Introduction. The study of blood plasma of patients with SMA in organotypic tissue culture may clarify the pathogenesis of this disease and to expand the therapeutic treatment of SMA. Spinal muscle atrophy (SMA) of type 2 is an autosomal-recessive disease defined by a degenerative change in alpha-motor neurons of anterior horns. The disease is manifested in weakness of proximal muscles, pareses, respiratory disturbance and early death. **Research purpose:** Study of impact of blood serum of patients with 2 type SMA on growth of sensory ganglion neurites of 10–12-day old chicken embryos in an organotypic tissue culture.

Materials and methods. The research was performed on 500 explants of sensory ganglia of 10–12-day old chicken embryos incubated in Petri dishes on collagen substrates in a CO^2 incubator («Sanyo», Japan) within 3 days at 36,5°C and 5% of CO^2. In experimental dishes, blood serum of patients with 2 type SMA was added in the cultural medium. To visualize objects, microscope «Axio Observer Zl» («Carl Zeiss», Germany) and program ImageJ were used. For quantitative assessment of explant growth, morphometric criterion of area index (AI) was used, which was computed as explant area to central zone area ratio. AI control value was accepted as 100%.

Resuts and discussion: Blood serum of 12 patients with type 2 SMA was researched in a wide range of dilution (1:100–1:2). In dilutions 1:2, 1:10, 1:50 the serum of patients blocked completely the growth of sensory ganglion neurites. When adding in cultural medium blood serum in dilution 1:70, a positive neurite inhibitory effect was observed. AI of the examined explants was circa 25% below

the control values. Further dilution of the serum had practically no effect on the growth of neurites. The conducted studies have shown that blood serum of the patients with type 2 SMA dose-dependently inhibits the growth of neurites of the sensory neurons of the spinal ganglia.

Summary: The performed research has shown that blood serum of patients with type 2 SMA inhibits growth of neurites of sensory neurons of spinal ganglia.

577.15

ХИТОПЭГИЛИРОВАНИЕ КАК НОВЫЙ ПОДХОД К УЛУЧШЕНИЮ КАТАЛИТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ И ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ СВОЙСТВ L-АСПАРАГИНАЗЫ *ERWINIA CAROTOVORA*

Суховерков К.В.[1], **Соколов Н.Н.**[2], **Абакумова О.Ю.**[2], **Кудряшова Е.В.**[1]
[1]*МГУ имени М.В. Ломоносова, Химический факультет,*
Москва, Ленинские горы, д. 1-3, 119991;
[2]*НИИ биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича,*
Москва, ул. Погодинская д. 10-8, 119121, г. Москва, Россия
suhowerkov@yandex.ru

Разработан новый подход к улучшению биокаталитических свойств ферментов основанный на образовании конъюгатов L-аспарагиназы и ПЭГ-хитозана (хитоПЭГилирование). Показано, что хитоПЭГилирование увеличивает каталитическую активность L-аспарагиназы, а также противоопухолевую активность фермента в экспериментах на клетках.

Разработан новый подход к регуляции каталитических свойств ферментов, используемых в медицинской практике, который основан на образовании ковалентных конъюгатов фермента с разветвленными сополимерами хитозана (хитоПЭГилирование). Эффективность метода исследовали на примере нового рекомбинантного препарата L-аспарагиназы из *Erwinia carotovora* (EwA). Данный препарат является иммунологически отличным от используемых в медицинской практике препаратов L-аспарагиназы из *E. coli*, что определяет перспективы его использования в качестве альтернативы при развитии гиперчувствительности к препарату из *E. coli* в результате длительного лечения или при индивидуальной непереносимости первичного препарата. Полиэлектролитная природа ПЭГ-хитозанов способствует их многоточечному электростатическому взаимодействию с поверхностью белка, что позволяет модулировать каталитические свойства фермента, в том числе за счет сдвига pH оптимума активности фермента в область физиологических значений pH. Оптимизация молекулярной архитектуры и состава конъюгатов приводит к увеличению в 4–6 раз каталитической эффективности фермента (k_{cat}/K_m) в отношении аспарагина при физиологических условиях. Напротив, L-глутаминазная активность, которая отвечает за побочные эффекты при применении L-аспарагиназных препаратов, в случае конъюгатов снижена в 4–5 раз по сравнению с нативным ферментом. Показано, что конъюгирование повышает термостабильность фермента, снижая его константу инактивации в 2 раза. В опытах *in vitro* показано, что конъюгаты EwA с ПЭГ-хитозаном проявляют более высокую противоопухолевую активность (на 20–40%) по сравнению с нативным ферментом в отношении клеток хронического миелоидного лейкоза человека K562, клеток аденокарциномы молочной железы MCF7, и не приводит к достоверным изменениям в цитостатической активности в отношении клеток лимфомы Беркитта Raji и клеток Т-клеточного острого лимфобластного лейкоза человека Jurkat. При этом следует отметить, что удельная активность фермента в конъюгатах в 4–6 раз выше, т.е. при той же дозе (в МЕ) в препарате содержится в 4–6

раз меньше белка, чем в случае нативного фермента, что значительно снижает иммуногенность препарата. Полученные результаты открывают перспективы получения L-аспарагиназных препаратов с улучшенными биокаталитическими свойствами.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 14-04-00325Аб гранта Правительства РФ № 11G34.31.0004 и программы развития МГУ

CHITOPEGYLATION – A NEW APPROACH FOR IMPROVEMENT OF BIOCATALYTIC AND ANTITUMOR PROPERTIES OF L-ASPARAGINASE FROM *ERWINIA CAROTOVORA*

Sukhoverkov K.V.[1], **Sokolov N.N.**[2], **Abakumova O.J.**[2], **Kudryashova E.V.**[1]
[1]*Lomonosov MSU, Chemical Department: Moscow, Leninskye gory, 1/3, 119991;*
[2]*Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry: Moscow Pogodinskaya st. 10/8 119121*
Moscow, Russia
suhowerkov@yandex.ru

L-asparaginase from Erwinia carotovora (EwA) conjugation with new branched co-polymers of charged polysaccharides and PEG (ChitoPEGylation) improves catalytic efficiency (k_{cat}/K_m) with the factor of 4–6 at physiological conditions. The method suggested can be particularly effective when pH-optimum of the enzyme is substantially different from physiological pH value. The potential application of this approach for enhancing the pharmacological properties of therapeutic enzymes is assessed.

Conjugation with new branched co-polymers, PEG-chitosan, was suggested to improve therapeutic properties of L-asparaginase from *Erwinia carotovora* (EwA). This enzyme is immunologically different from commonly used in oncotherapy L-asparaginase from *E. coli* (EcA). This makes EwA a good alternative to EcA in the case of hypersensibility due to prolonged therapy course or individual intolerance. Composition of EwA conjugates with PEG-chitosan co-polymers was optimized for maximal catalytic efficiency (k_{cat}/K_m) at physiological conditions, yielding an improvement by the factor of 4–6 in comparison with native enzyme. This effect is mainly attributed to the shift of otherwise unfavorable pH activity profile towards physiological values. Catalytic activity of EwA-PEG-chitosan conjugates with L-glutamine, which is known to be responsible for side effects, appears 4–5 times lower as compared to the native enzyme. The thermostability of EwA conjugates has also been considerably improved (by the factor of two). In cell assays EwA-PEG-chitosan conjugates demonstrate 20–40% increased cytostatic activity against human myeloid leukemia K562 cells and human breast adenocarcinoma cells MCF7, while the activity against Burkitt lymphoma Raji cells and human acute lymphoid leukemia Jurkat cells is generally at the same level with native enzyme added in the same IU dose. Taking into account the higher IU/mg activity of the conjugates, it is understood that similar therapeutic effect is achievable with 4–6 times lower amount of enzyme (in mg), suggesting a promising approach to reduce immunogenicity.

Therefore, ChitoPEGylation can be considered as a perspective approach for the development of improved forms of therapeutic enzymes, especially when their pH-optima are substantially different from physiological pH.

*This wor*k *was supporte*d *by RFB*R grant 14-04-00325A, grant *of Governmen*t *of Russsia*n Federation № 11G34.31.0004 and the program of development of MSU

УДК 57.024

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОСУДОРОЖНОЙ ТЕРАПИИ НА КОГНИТИВНЫЕ ФУНКЦИИ КРЫС ПРИ ДЕПРЕССИВНО-ПОДОБНОМ РАССТРОЙСТВЕ

Ушакова В.М., Морозова А.Ю., Зубков Е.А., Юсубалиева Г.М., Иноземцев А.Н., Чехонин В.П.
Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;
Государственный научный центр социальной и судебной психиатрии им. В.П. Сербского Минздрава России, Москва, Россия
109341, Москва, ул. Перерва, д.39, кв.4
e-mail: scobelevavm@gmail.com

Исследовано влияние электросудорожной терапии (ЭСТ) на когнитивные функции крыс с депрессивно-подобным расстройством, смоделированным методом ультразвукового воздействия. Обнаружено увеличение поведенческих показателей, связанных с памятью, и усиление нейрогенеза после применения ЭСТ.

Ключевые слова: электросудорожная терапия, модель депрессии, память, нейрогенез

В настоящее время депрессия является достаточно распространенным заболеванием во всем мире. Одним из методов лечения депрессии является электросудорожная терапия (ЭСТ). ЭСТ обеспечивает эффективное восстановление состояния пациентов, увеличивает выработку медиаторов и нейротрофических факторов и усиливает нейрогенез (Segi-Nishada, 2011). Однако было показано, что в некоторых случаях терапия оказывает временное негативное влияние на память, что может ограничить ее применение в широкой клинической практике (Artunes et al., 2009). В работе мы попытались оценить влияние ЭСТ на когнитивные функции крыс с депрессивно-подобным расстройством, а также аспекты механизма терапевтического воздействия ЭСТ. Моделирование депрессии осуществлялось при помощи УЗ-воздействия (25–45 кГц) на протяжении 21 дня, ЭСТ применялась регулярно в течение 10 дней. В поведенческих тестах распознавания объектов и водного лабиринта Морриса было показано увеличение показателей, отражающих след памяти у крыс после ЭСТ. Также было показано усиление нейрогенеза в области гиппокампа и префронтальной коры. Было зафиксировано усиление фракционной анизотропии трактов, проходящих через мозолистое тело у крыс после ЭСТ.

Таким образом, применение ЭСТ оказало нормализующее действие на когнитивные функции крыс с депрессивно-подобным расстройством, вызванным ультразвуковым воздействием.

Список литературы:

1. Artunes P.B., Rosa M.A., Belmonte-de-Abreu P.S., Lobato M.I.R., Fleck M.P.Electroconvulsive therapy in major depression: current aspects // Rev. Bras. Psiquiatr. 2009. № 31. P.26–33;
2. Segi-Nishida E. Exploration of new molecular mechanisms for antidepressant action of electroconvulsive seizure // Biol. Pharm. Bull. 2011. Vol.34. №7.P.939-944.

UDC 57.024

THE EFFECT OF ELECTROCONVULSIVE THERAPY ON COGNITIVE FUNCTION IN RATS WITH DEPRESSIVE-LIKE DISORDER

V.M. Ushakova, A.U. Morozova, E.A. Zubkov, G.M. Yusubalieva, A.N. Inozemtsev, V.P. Chekhonin
Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia; Serbsky State Scientific Center for Social and Forensic Psychiatry, Moscow, Russia
109341, Moscow, Pererva str.,39,4
e-mail: scobelevavm@gmail.com

The effect of electroconvulsive therapy (ECT) on cognitive function in rats with depressive-like disorder modeled by ultrasound exposure was investigated. The increase of the behavioral indicators associated with memory and induced neurogenesis after ECT were revealed.

Keywords: electroconvulsive therapy, depression model, memory, neurogenesis

Nowadays depression is one of the most common disorders worldwide. Electroconvulsive therapy (ECT) is one of the treatments for depression. ECT provides effective remission rate, increases neurotransmitter and neurotrophic factors production and induces neurogenesis (Segi-Nishada, 2011). However it was demonstrated that in some cases treatment exerted a temporary negative effect on memory, which may confine its application in clinical practice (Artunes et al., 2009). In this study we aim to evaluate the effect of ECT on cognitive function in rats with depressive-like disorder and to determine the aspects of ECT therapeutic action. For depression modeling rats were exposed to ultrasound (25–45 kHz) for 21 days, ECT was conducted regularly during 10 days. After ECT in object recognition test and Morris water maze test the increase of the behavioral indicators associated with memory was shown. Also the induction of neurogenesis in the area of hippocampus and prefrontal cortex was demonstrated. The increase of fractional anisotrophy of tracts passing through corpus callosum was revealed.

Thus ECT produced normalizing effect on cognitive function in rats with depressive-like disorder.

References:

1. Artunes P.B., Rosa M.A., Belmonte-de-Abreu P.S., Lobato M.I.R., Fleck M.P.Electroconvulsive therapy in major depression: current aspects // Rev. Bras. Psiquiatr. 2009. № 31. P.26–33;
2. Segi-Nishida E. Exploration of new molecular mechanisms for antidepressant action of electroconvulsive seizure // Biol. Pharm. Bull. 2011. Vol.34. №7.P.939-944.

УДК 547.917

ВЫДЕЛЕНИЕ, СТРУКТУРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ФУКОЗИЛИРОВАННЫХ ХОНДРОИТИНСУЛЬФАТОВ ИЗ ДВУХ ВИДОВ МОРСКИХ ОГУРЦОВ

Устюжанина Н.Е., Билан М.И., Усов А.И., Нифантьев Н.Э.
Федеральное бюджетное учреждение науки Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, 119991, Москва, Ленинский проспект, 47
Факс. +7(499)-1358784
e-mail: ustnad@gmail.com

Выделены фукоизилированные хондроитинсульфаты из 2 видов морских огурцов Дальневосточного региона. Проведена структурная характеристика полисахаридов с исполь-

зованием химических и физико-химических методов, изучена антикоагулянтная и антитромботическая активность биополимеров.

Ключевые слова: полисахариды, фукозилированные хондроитин-сульфаты, выделение, структура, биологические свойства.

Фукозилированные хондроитинсульфаты (ФХС), выделяемые из морских беспозвоночных, вызывают интерес благодаря проявляемой ими биологической активности, такой как антикоагулянтная, антитромбротическая, противовоспалительная, иммуностимулирующая и другие [1, 2]. Полисахариды такого типа, выделенные из разных видов морских животных, различаются строением и спектром биологической активности. Нами были выделены ФХС из двух видов морских огурцов Дальневосточного региона Stichopusjaponicus и Cucumariajaponica. С использованием химических и физико-химических методов была проведена предварительная структурная характеристика полисахаридов: установлен моносахаридный состав, содержание сульфатных групп, строение боковых заместителей. Была изучена антикоагулянтная и антитромботическая активность полученных биополимеров в экспериментах invitro. Было показано, что ФХС различаются строением боковых заместителей и обладают разным профилем биологической активности.

Литература

1. Pomin V.H.Holothurian Fucosylated Chondroitin Sulfate//Marine Drugs. 2014. Vol. 12. P. 232–254.

2. MyronP., SiddiqueeS., Al Azad, S. Fucosylated chondroitin sulfate diversity in sea cucumbers: A review//Carbohydr. Polym. 2014. Vol. 112. P. 173–178.

Благодарности

Работа выполнена при поддержке Российского Научного Фонда (грант № 14-13-01325).

УДК 547.917

ISOLATION, STRUCTURAL CHARACTERIZATION AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF FUCOSYLATEDCHONDROITINSULFATES FROM TWO SPECIES OF SEA CUCUMBERS

UstyuzhaninaN.E., Bilan M.I., Usov A.I., Nifantiev N.E.

N.D. Zelinsky Institute ofOrganic Chemistry, 119991, Moscow, Leninskiyprospect, 47

Fax. +7(499)-1358784

e-mail: ustnad@gmail.com

Fucosylated chondroitin sulfates were isolated from two species of sea cucumbers of Far Eastern region. Structural characterization of the polysaccharides was performed with the use of chemical and physicochemical methods. Anticoagulant and antithrombotic activities of the biopolymers were studied.

Keywords: polysaccharides, fucosylatedchondroitin-sulfate, isolation, structure, biological properties.

Fucosylated chondroitin sulfates (FCS) isolated from sea invertebrates attract attention due to their biological activity such as anticoagulant, antithrombotic, anti-inflammatory, immunostimulatory and others [1, 2]. These polysaccharides from different species of animals vary in structure and biological properties. We have isolated FCS from two species of sea cucumbers of Far Eastern region StichopusjaponicusandCucumariajaponica. Structural characterization of the polysaccharides was performed with the use of chemical and physicochemical methods, which led to determine monosac-

charide and sulfate content, structure of branches. Anticoagulant and antithrombotic activities of the biopolymers were studied in experiments *in vitro*. It was shown, that FCS possessed of different structure and profile of biological activity.

References

1. Pomin V.H.Holothurian Fucosylated Chondroitin Sulfate//Marine Drugs. 2014. Vol. 12. P. 232–254.
2. MyronP., SiddiqueeS., Al Azad, S. Fucosylated chondroitin sulfate diversity in sea cucumbers: A review//Carbohydr. Polym. 2014. Vol. 112. P. 173–178.

Acknowledgments

This work was supported by Russian Scientific Foundation (grant № 14-13-01325).

УДК 577.2, 615.277.3

НОВЫЙ ГИБРИДНЫЙ ОПУХОЛЬ-СПЕЦИФИЧЕСКИЙ ПРОМОТОР ДЛЯ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ РАКА

Вихрева П.Н., Шепелев М.В., Коробко И.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии гена Российской академии наук

Россия, Москва 119334, ул. Вавилова 34/5

e-mail: polina266@gmail.com

Создан новый гибридный промотор ARE-*hTERT* для использования в противоопухолевых генно-терапевтических препаратах, характеризующийся улучшенными свойствами в части своей активности и специфичности по отношению к опухолевым клеткам.

Ключевые слова: опухоль-специфические промоторы, генно-терапевтические препараты, ARE-элементы, промотор гена *hTERT*

Сегодня разработка противоопухолевых препаратов, основанных на принципах генной терапии, является актуальной задачей, над решением которой работают во многих лабораториях в мире. Одним из основных свойств, которыми должны обладать противоопухолевые генно-терапевтические препараты, является специфичность их воздействия на опухолевые клетки. Данная задача может решаться за счет различных подходов, однако использование для этих целей опухоль-специфических промоторов остается одним из основных способов обеспечения активности генно-терапевтического начала только в опухолевых клетках. На сегодняшний день описан ряд промоторов, обладающих такими свойствами в отношении специфических типов или широкого спектра опухолей. Однако их опухолевая специфичность не является абсолютной, и, помимо этого, такие промоторы, как правило, характеризуются слабой транскрипционной активностью, негативно влияя на эффективность генно-терапевтических препаратов. Таким образом, дальнейшее увеличение опухолевой специфичности с одновременным увеличением активности промотора является актуальной на сегодня задачей.

Одной из особенностей опухолевых клеток является частая активация транскрипционного фактора Nrf2, обеспечивающего клеточный ответ на оксидативный стресс, происходящая в результате мутаций или из-за часто присущего опухолевым клеткам повышенному уровню оксидантов. Аберрантная активация Nrf2 может использоваться для обеспечения опухолевой специфичности транскрипции с помощью цис-действующих элементов для фактора Nfr2, так называемых ARE-элементов. Действительно, ранее была продемонстрирована возможность использования такого подхода для генной терапии опухолей, основанная на применении ARE-

элементов в комбинации с минимальным промотором. Нами была исследована возможность оптимизации этого подхода за счет использования свойств ARE-элементов и промотора, обладающего самого по себе опухолевой специфичностью, что должно повысить активность промотора в опухолевых клетках и улучшить специфичность. В качестве опухоль-специфичного промотора был выбран промотор гена *hTERT*, обладающий активностью в широком спектре опухолевых клеток. Нами была определена оптимальная компоновка промотора и показана увеличенная активность гибридного промотора ARE-*hTERT* в опухолевых клетках, которая в отсутствии в них высокого базального уровня активации Nrf2 также может быть стимулирована химическим индуктором клеточного оксидативного стресса. Существенно отметить, что, в отличие от ранее описанных модификаций промотора гена *hTERT*, направленных на увеличение его активности, использование ARE-элементов не приводило к усилению активности промотора в неопухолевых клетках. Поскольку многие противоопухолевые препараты и воздействия являются индукторами оксидативного стресса, их совместное использование в комбинированной схеме генной терапии может позволить достичь синергетического противоопухолевого эффекта за счет дополнительной активации гибридного опухоль-специфического промотора. Таким образом, нами создан новый гибридный промотор для использования в противоопухолевых генно-терапевтических препаратах, характеризующийся улучшенными свойствами в части своей активности и специфичности по отношению к опухолевым клеткам.

УДК 577.2, 615.277.3

NEW HYBRID TUMOR-SPECIFIC PROMOTER FOR CANCER GENE THERAPY

Vikhreva P.N., Shepelev M.V., Korobko I.V.
Institute of gene Biology, Russian Academy of Sciences
119334, Russia, Moscow, Vavilov str. 34/5
e-mail: polina266@gmail.com

A novel tumor-specific hybrid promoter ARE-*hTERT* for cancer gene therapy has been constructed. The promoter is characterized by improved activity and selectivity for cancer cells.

Keywords: tumor-specific promoter, cancer gene therapy, ARE element, *hTERT* gene promoter

Today, development of anti-tumor drugs based on gene therapy principles remains an actual task. One of the major benefits of anti-tumor gene-therapeutic drugs is the specificity of their effect on tumor cells which can be approached by different ways, among those the use of tumor-specific promoters remains a major tool to achieve tumor specificity. To date several tumor-specific promoters have been described but their tumor specificity is far from being absolute. In addition, these promoters generally demonstrate low transcriptional activity that negatively influences performance of cancer gene therapy schemes. Thus, further increase of tumor specificity combined with an increase in activity of promoters for cancer gene therapy remains an actual issue.

One of the features of tumor cells is the activation of transcriptional factor Nrf2, which ensures cellular response to oxidative stress, reasoned by either mutations or increased level of oxidizing agents frequently observed in tumor cells. Aberrant activation of Nfr2 can be used to ensure tumor specificity of transcription with the help of cis-acting elements for Nrf2, so called ARE elements. Indeed, earlier it has been demonstrated that ARE elements confer tumor specificity of transcription when coupled with minimal promoter. We have investigated the possibility of optimization of this approach by combining ARE elements and promoter which intrinsic tumor specificity. Together, ARE elements and tumor-specific promoter should increase overall promoter activity in tumor cells and

improve its specificity. *hTERT* gene promoter was used as a tumor-specific promoter which is known to be active in wide range of tumor cells. We have determined optimal design of the hybrid promoter and showed that it has increased activity in tumor cells, which in case of low basal level of Nrf2 activity can be boosted by chemical inductor of oxidative stress. It is essential to mention that unlike previously described modifications of the *hTERT* promoter aiming to improve its activity, the use of ARE elements didn't lead to increased activity in non-tumor cells. Since many anti-tumor drugs and interventions appear to induce oxidative stress, their use in combination with gene therapy scheme might allow reaching the synergetic effect through additional activation of hybrid tumor-specific promoter. Thus we have constructed a new hybrid promoter that can be used in anti-tumor gene-therapy drugs and is characterized with the improved activity and tumor specificity.

УДК 577.15.

ПРИМЕНЕНИЕ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ ДЛЯ ДОСТАВКИ И УПРАВЛЯЕМОГО ВЫСВОБОЖДЕНИЯ ЛЕКАРСТВ

Власова К.Ю., Абакумов М.А., Вишварсао Х., Сокольски М., Нуколова Н.В., Мажуга А.Г., Головин Ю.И., Клячко Н.Л., Кабанов А.В.
Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия
119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1, стр. 3
e-mail: vlasova_k.y@mail.ru

Получены нанокомплекы и липосомы/мицеллы на основе магнитных наночастиц, содержащие биоактивные молекулы (фермент супероксиддисмутаза 1 и доксорубицин). Показано, при действии низкочастотного переменного магнитного поля (ПМП) на полученные системы происходит механическое вращение частиц и разупорядочивание нанокомплекса и липосомы, что можно использовать для управляемого высвобождения лекарства.

Ключевые слова: магнитные наночастицы; низкочастотное магнитное поле, наномедицина, доставка и высвобождение лекарства.

В данной работе мы пытаемся разработать новый метод высвобождения лекарства посредством МНЧ под действием низкочастотного ПМП, в условиях которого преобладает релаксация по Брауну, заключающаяся в механическом вращении МНЧ.

Были синтезированы МНЧ магнетита с диаметром ядра 7-12 нм. МНЧ были покрыты блок-сополимером полилизина и полиэтиленгликоля с последующей электростатической адсорбцией супероксиддисмутазы 1 (СОД1). Липосомы получали следующим образом: раствор МНЧ, фосфатидилхолина в хлороформе высушили, пленку диспергировали в ДВ, обработали ультразвуком и загрузили доксорубицин. МНЧ с СОД1 формируют кластеры со средним диаметром 112 ± 5 нм и ζ-потенциалом 12 ± 3 мВ. После воздействия низкочастотного ПМП наблюдалось изменение активности иммобилизованного фермента и гидродинамического размера кластеров. Центрифугирование суспензии после воздействия ПМП привело к увеличению положительного заряда кластеров и изменению концентрации фермента по сравнению с контрольным образцом без ПМП, подтвердив десорбцию отрицательно заряженного фермента. Диаметр загруженных доксорубицином магнитных липосом 160 ± 10 нм и полидисперность (PDI) 0,25 ± 0,07. Липосомы стабильны в ДВ и PBS при pH = 7,4 и 37°C. После действия ПМП диаметр липосом увеличился до 190 ± 6 нм и PDI до 0,38 ± 0,05. Возможно, произошло разрушение и / или реорганизация липидного бислоя, что влияет на высвобождение препарата. Исследование проводились при поддержке RSF-14-13-00731 и K1-2014-022 грантами.

УДК 577.15.

APPLICATION OF MAGNETIC NANOPARTICLES FOR CONTROLLED DELIVERY OF DRUGS

Vlasova K.Yu, Abakumov M.A., Wishwarsao H., Sokolsky M., Nukolova N.V., Majouga A.G., Golovin Y.I., Klyachko N.L., Kabanov A.V.
Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia
119991, Moscow, Leninskie goru 1/3
e-mail: vlasova_k.y@mail.ru

Nanocomplexes and liposomes/micelles with magnetic nanoparticles (MNPs), containing drugs molecules (superoxiddismutase 1 and doxorubicin), were obtained. Under low frequency AC magnetic field exposure MNPs mechanically rotate and destroy the nanosystem, that can be used for control drug release.

Keywords: magnetic nanoparticles; low frequency magnetic field, nanomedicine, drug delivery and control release.

In this work we try to develop a new method to improve drug release from MNPs under super low frequency MF. We suppose that under low frequency MF exposures the Brown's relaxation dominates and MNPs rotation could occur leading to conformation changes and release of bioactive molecules immobilized on MNPs surface.

We have synthesized MNPs of magnetite with magnetic core diameter 7-12 nm . The MNPs were coated with block-copolymer of polylysine and polyethylene glycol. Superoxide dismutase 1 (SOD1) was electrostatically adsorbed on the surface of the clusters. Liposomes were prepared as follow: MNPs, phosphatidylcholine was dispersed in chloroform, dried to get film, then dispersed in distillated water, sonicated and doxorubicin was loaded. Enzyme coated MNPs formed nanosized clusters with intensity average diameter of 112±5 nm and zeta potential 12±3 mV. After low frequency AC MF exposure we observed change of immobilized enzyme activity and hydrodynamic size of clusters. Centrifugation of the nanosuspension after AC MF exposures resulted in increase of positive charge of clusters and change in enzyme concentration in comparison with control sample without MF, thus confirming desorption of negatively charged enzyme from the positively charged surface of MNPs. Dox loaded magnetic liposomes had average diameter of 160±10 nm and polydispersity index (PDI) 0.25±0.07. Liposomes were stable in DW and PBS at pH=7.4 at 37°C during a week. After MF application (10 min of exposure, 50 Hz, 230 mT) diameter of liposomes raised to 190±6 nm and PDI was 0.38±0.05. We explain this by destroying and/or reorganization of lipid bilayer, that leads to changes in release of drug in comparison with control without MF exposure. Investigation was supported by RSF-14-13-00731 grant, K1-2014-022 grant.

СТРУКТУРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ЛИЗОЦИМА С КАППА КАРРАГИНАНОМ

Журавлева И.Л.[1], Антонов Ю.А.
Институт Биохимической Физики им. Н.М. Эмануэля, Российской Академии Наук.
Ул. Косыгина 4. 119334 Москва, Российская Федерация

Белки взаимодействуют с природными и синтетическими полиэлектролитами, приводя к образованию растворимых комплексов и комплексных коацерватов. Практическая значимость этих взаимодействий состоит в возможной иммобилизации и стабилизации ферментов в поли-

электролитных комплексах, и модификации сродства белок-субстрат. В данной работе методами турбодиметрии, динамического светорассеяния, оптической, конфокальной и электронной микроскопии, кругового дихроизма и флуоресцентной спектроскопии изучено взаимодействие основного белка-лизоцима (молекулярная масса »14.4 kDa) с отрицательно заряженным сульфатированным полисахаридом-каппа каррагинаном (kCG). Лизоцим образует интерполимерные комплексы ckCG в буферных растворах при pH 7.0 и ионной силе 0.05. Взаимодействие приводит к образованию больших (несколько микрон в диаметре) анизотропных комплексных частиц с максимальным выходом при весовом соотношении kCG/лизоцим, q = 0.25-0.36, в зависимости от ионной силы смеси. Установлено, что независимо от величины q, молекулы лизоцима распределяются внутри комплексных частиц неравномерно. Фиксация лизоциман akCG происходит с образованием бляшки между биополимерами. Взаимодействие имеет преимущественно электростатический характер, приводя к значительному возрастанию спиральности kCG и заметной пертурбации локальной третичной структуры лизоцима.

STRUCTURAL INVESTIGATION OF THE INTERACTION OF LYSOZYME WITH KAPPA CARRAGEENAN

I.L.Zhuravleva, Y.A.Antonov,
N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics, RussianAcademy of Sciences,
Kosigin Str. 4. 119334Moscow, Russia

Proteins interact strongly with natural and synthetic polyelectrolytes lead to theformation of soluble complexes and complexcoacervates. The practical consequences of these interactions may include immobilizationor stabilization of enzymes in polyelectrolytecomplexes and the modification of protein-substrate affinity. This work studies interactions between lysozyme, a globular basic protein characterized by MW of approx.14.4 kDa, and the negatively charged sulfatedkappa carrageenan (kCG) using turbidimetry, dynamic light scattering, optical, confocal and Cryo-SEM microscopy, circular dichroism, and fluorescence, spectroscopies. Lysozyme forms interpolymeric complexes with kCG in the buffer solutions (pH 7.0, ionic strength 0.05). Interaction leads to formation of large (few μm in size) anisotropic complex particles with the maximal yield at the kCG/lysozyme weight ratio, q = 0.25-0.36 depending on the ionic strength. It was established that independently on the q values lysozymes molecules distributes inside complex particles non-uniformly. Fixation of lysozyme molecules with the kCG body takes place with formation of plaque between biopolymers. Interaction is mainly electrostatic leading to significant increase in content of the helix structure of kCG and an appreciable perturbation the local tertiary structure of lysozyme.

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

УДК 577.112, 577.181

ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО АНАЛОГА БЕТА-ШПИЛЕЧНОГО АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА ТАНАТИНА

Баландин С.В.[1], Пантелеев П.В., Шереметьева Э.В., Овчинникова Т.В.
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук
117997, Российская Федерация, Москва, ГСП-7, улица Миклухо-Маклая, 16/10
[1]*arenicin@mail.ru*

Разработана система гетерологической экспрессии и технология очистки бета-шпилечного пептида танатина – потенциального антимикробного и противоопухолевого лекарственного средства.

Ключевые слова: антимикробные пептиды, противоопухолевые пептиды, танатин, бета-шпилечная структура, гетерологическая экспрессия.

Среди нескольких тысяч известных природных антимикробных пептидов сравнительно немногие способны проявлять свою активность в наномолярных и низких микромолярных концентрациях. К их числу относятся катионные амфифильные пептиды, имеющие структуру бета-шпильки и стабилизированные 1–4 внутримолекулярными дисульфидными связями. В настоящее время, в связи с нарастанием проблемы лекарственной резистентности по отношению к конвенциальным лекарственным средствам, активно исследуется возможность использования антмикробных пептидов для противоинфекционной и противоопухолевой терапии. Танатин – бета-шпилечный антимикробный пептид, содержащий одну дисульфидную связь, выделенный из клопа *Podisus maculiventris* и подавляющий рост широкого спектра микроорганизмов, в том числе, ряда мультирезистентных штаммов. Пептид не имеет значительной гомологии с другими защитными пептидами насекомых, однако близок по первичной и пространственной структуре к антимикробным пептидам из кожных секретов лягушек рода Rana. Танатин не проявляет гемолитической активности в концентрациях, которые на порядок превышают минимальные ингибирующие в отношении бактерий, что свидетельствует о высокой селективности действия. Отсутствие существенной цитотоксической активности в отношении нормальных клеток человека и удовлетворительные показатели стабильности в плазме крови позволяют рассматривать этот пептид в качестве прототипа для разработки новых лекарственных препаратов.

С целью проведения структурно-функциональных исследований танатина и создания его аналогов с повышенным терапевтическим индексом и устойчивостью к протеолизу нами был создан набор генно-инженерных конструкций, позволяющих получать данный пептид как в клетках *E. coli*, так и в бесклеточной среде. В работе использована система экспрессии под контролем промотора бактериофага T7. Разработанный способ очистки обеспечивает возможность быстрого получения и скрининга мутантных вариантов исследуемого пептида.

Работа поддержана грантом Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых (МК-6023.2014.4).

UDC 577.112, 577.181

PRODUCTION OF THE RECOMBINANT ANALOG OF BETA-HAIRPIN ANTIMICROBIAL PEPTIDE THANATIN

Balandin S.V.*, Panteleev P.V., Sheremeteva E.V., Ovchinnikova T.V.
Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences
Miklukho-Maklaya str., 16/10, 117997, Moscow, Russia
**arenicin@mail.ru*

Heterologous gene expression system and purification method have been developed for production of beta-hairpin peptide thanatin – a potential antimicrobial and antitumor drug.

Keywords: antimicrobial peptides, antitumor peptides, thanatin, beta-haipin structure, heterologous expression.

Among several thousand known natural antimicrobial peptides only a minor part demonstrates biological activity in nanomolar and low micromolar concentration range. These include cationic amphiphilic peptides having beta-hairpin structure stabilized by 1–4 intramolecular disulfide bonds. Due to the growing problem of drug resistance to conventional drugs, the perspectives of use of antimicrobial peptides for anti-infective and antitumor therapy are being investigated actively. Thanatin is a beta-hairpin antimicrobial peptide isolated from hemipteran *Podisus maculiventris*. It was shown to contain one disulfide bond and inhibit the growth of a broad spectrum of microorganisms including several multiresistant strains. The peptide has no significant homology with other host defense peptides of insects, but its primary and spatial structures are close to those of antimicrobial peptides found in skin secretion of frogs of the genus Rana. Thanatin displays no hemolytic activity at concentrations which are ten times higher than its minimal inhibitory concentrations against bacteria, indicating a high selectivity of action. The absence of significant cytotoxicity against normal human cells along with a satisfactory stability in plasma allow us to consider this peptide as a prototype for development of novel drugs.

For the purpose of structural and functional studies of thanatin and in order to create new analogs with enhanced therapeutic indices and proteolytic stability we have designed a set of genetic constructs allowing to synthesize this peptide in *E. coli* cells as well as in cell-free environment. In our work we have used the bacteriophage T7 promoter-based expression system. The developed expression and purification method allows rapid preparation and activity screening of mutant variants of investigated peptide.

The work was supported by the President grant for young Russian scientists (МК-6023.2014.4).

577.114

ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ ЛИПОСОМ, МОДИФИЦИРОВАННЫХ РАЗВЕТВЛЁННЫМИ ГЛИКОКОНЪЮГАТАМИ

Буданова У.А., Стрижевская Д.А., Гурьева Л.Ю., Щелик И.С., Себякин Ю.Л.
Московский государственный университет тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия, 119571, Москва, пр. Вернадского, д. 86
e-mail: c-221@yandex.ru
Липосомы, средства доставки БАС, гликоконъюгаты

Известно, что клетки печени, а также некоторые виды опухолей отличаются повышенным уровнем экспрессии белков, обладающих способностью связываться с высокой степенью аф-

финности с терминальными остатками D-галактозы в составе различных конъюгатов и комплексов. К числу таких специфичных белков относятся асиалогликопротеиновые рецепторы и галектины. Модификация средств доставки БАС олигосахаридами и их производными, содержащими концевые галактозильные фрагменты, способствует приданию им адресных свойств и позволяет создавать на их основе перспективные средства диагностики и лечения различных заболеваний.

Изучены физико-химические свойства смешанных липидных дисперсий; исследована специфичность взаимодействия везикул, модифицированных углеводами, с галактозосвязывающим лектином клещевины RCA1. Для липосом, модифицированных разветвлённым гликокнъюгатом с терминальными остатками D-галактозы, определена зависимость степени связывания с рецептором от содержания гликолипида в частицах. Показано, что оптимальное содержание синтезированных веществ в композиции составило 5%.

Средний размер липидных дисперсий, содержащих мультивалентные гликоконъюгаты после обработки ультразвуком составляет 150 нм.

Методом спектрофотометрии была изучена стабильность новых углеводсодержащих липидных дисперсий во времени. Показано, что смешанные везикулы на основе липотрипептидов стабильны на протяжении недели.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 13-04-00841).

577.114

STUDY PROPERTIES OF LIPOSOME MODIFIED WITH BRANCHED GLYCOCONJUGATES

Budanova U.A., Strijevskaja D.A., Gur'eva L.Yu, Shchelik I.S., Sebyakin Yu.L.

Lomonosov Moscow University of Fine Chemical Technology, 119571 Moscow, Russia, prospect Vernadskogo 86

e-mail: c-221@yandex.ru

Liposomes, drug delivery systems, glycoconjugates

It is known that the liver cells, as well as some of the types of tumors are notable for increased level of proteins expression, having the ability to bind to the terminal D-galactose residues in the various conjugates and complexes with high affinity. These include specific proteins, which are asialoglycoprotein receptors and galectin. Modification of drug delivery systems with oligosaccharides and their derivatives, containing terminal galactosyl moieties gives targeted properties and it allows to create advanced tools for diagnostic and treatment of various diseases.

Physico-chemical properties of the mixed lipid dispersions have been explored; the specificity of the vesicles interaction, modified of the carbohydrates, with galactose-binding castor lectin RCA 1 has been investigated. For liposomes modified with branched glycoconjugate with terminal D-galactose residues, it has been defined the dependence of the degree of binding to a receptor on the content of the glycolipid in the particles. It is shown that the optimum amount of the synthesized compounds in the composition was 5%.

The average size of lipid dispersions containing multivalent glycoconjugates after sonication is 150 nm.

The stability of the new carbohydrate lipid dispersions was studied in time using spectrometry method. It is shown that the mixed vesicles based on lipotripeptides is stability for a week.

This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research (grant № № 13-04-00841)

УДК 615.38:616.37

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ПРОЦЕДУРЫ ГЕМОДИАЛИЗА ДЛЯ ПАЦИЕНТОВ С ИНСУЛИНОЗАВИСИМЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Быковская Е.Ю., Жуковская В.А., Жуковский Ю.Г., Кузнецова Л.П., Никитина Е.Р., Сочилина Е.Е.

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН Санкт-Петербург. E-mail: zhuk@iephb.ru

В последние годы для лечения хронической почечной недостаточности всё более широко стали использовать гемодиализ. Автоматические гемодиализаторы выпускаются во многих странах мира. В стационарных условиях пациента укладывают на специальную медицинскую кровать и через фистулу подключают к гемодиализатору. Длительность гемодиализа обычно составляет 4-5 часов, процесс ведётся непрерывно. Циркулирующая кровь пациента в приборе отделена от диализирующего раствора полупроницаемой мембраной, через микропоры которой из крови пациента в диализирующий раствор переходят низкомолекулярные вещества-шлаки (мочевина и др.) и низкомолекулярные вещества полезные для организма (глюкоза и др.), высокомолекулярные вещества (белки и др.) остаются в крови. У пациентов, с инсулинозависимым сахарным диабетом, после введения им инсулина концентрация глюкозы в крови низкая, а в процессе гемодиализа она становится ещё меньше и может достигнуть нижнего порога. В таких случаях происходит обильное потоотделение, наступают обмороки, потери равновесия при ходьбе и при сидении и другие более серьёзные осложнения. Для предупреждения таких нежелательных последствий мы рекомендуем давать пить по 2 глотка крепкого сладкого чая через каждый час гемодиализа. Такая процедура повышает безопасность диализа и позволяет пациенту самостоятельно покинуть стационар без потерь равновесия или падений.

UDC 615.38:616.37

IMPROVEMENT OF PROCEDURE OF THE HEMODIALYSIS FOR PATIENTS WITH THE ACHRESTIC DIABETES

Bykovskaja E.Yu., Zhukovskaya V.A., Zhukovskij Yu.G., Kuznetsova L.P., Nikitina E.R., Sochilina E.E.

Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistryof the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg; e-mail: lpkuz@iephb.ru

Last years for the treatment of chronic nephritic insufficiency more and more widely began to use a hemodialysis. Automatic hemodialyzers are manufacture in many countries of the world. In stationary conditions of the patient lay down on a special medical bed and through a fistula connect to hemodialyzer. Duration of a hemodialysis usually makes 4-5 hours, process is conducted continuously. Circulating blood of the patient in the device is insulated from a dialysis solution by a semi permeable membrane through micro pores which from the patient blood in a dialysis solution pass low-molecular substances-slags (urea, etc.) and low-molecular substances useful to an organism (glucose, etc.), but high-molecular substances (fibers, etc.) remain in blood. At patients, with an achrestic diabetes, after introduction of insulin by it, concentration of glucose in blood low, and in the course of a hemodialysis it becomes even less and can reach the bottom threshold. In such cases an abundant sweating occurs, faints come, balance losses at walking and at sitting and other more serious complications. For the prevention of such undesirable consequences we recommend to allow to drink on 2 drinks

of strong sweet tea in each hour of hemodialysis. Such procedure raises safety of a dialysis and allows the patient to leave independently a hospital lost-free balance or falling.

УДК 617-3

ВОССТАНОВИТЕЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ АРТРОСКОПИИ КОЛЕННОГО СУСТАВА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГИМНАСТИЧЕСКИХ БРУСЬЕВ

Быковская Е.Ю., Жуковская В.А., Жуковский Ю.Г., Кузнецова Л.П., Никитина Е.Р., Сочилина Е.Е.

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
Санкт-Петербург. E-mail: zhuk@iephb.ru

Восстановительная терапия артроскопии коленного сустава с помощью параллельных брусьев, на которых дополнительно закреплено кресло.

Ключевые слова: артроскопия, коленный сустав, восстановительная терапия, параллельные брусья, закреплённое кресло

Причиной боли и дискомфорта в коленном суставе могут стать повреждения, изнашивание, слабость или возрастные изменения. Артроскопия является эффективным способом диагностики и определения лечения коленного сустава, позволяет вернуться к нормальному и активному образу жизни без особого дискомфорта.

Двигательная реабилитация после артроскопии коленного сустава может быть разделена на три этапа: восстановление контроля мышц ноги и отказ от костылей, восстановление двигательной функции колена и силы и возвращение к нормальной деятельности. Время, отведенное на каждый этап, зависит от конкретного пациента, его общего состояния и процесса реабилитации после операции. В течение первого этапа упражнения в параллельных брусьях с опорой на руки помогают пациенту восстановить баланс и координацию и являются важной частью программы физиотерапии после артроскопии. Пациенты должны ходить с опорой на руки, пока у них не появится хороший контроль мускулатуры ноги, и они смогут переносить вес на колено без особого дискомфорта.

В связи с особенностями, обучение хождению должно проводиться строго индивидуально. Во время занятий боязнь падения является причиной развития сильного утомления, которое бывает непропорционально усилию. Усталость, возникающая во время занятий, приводит к вынужденным остановкам для пациента. Недостатками параллельных брусьев является сложность перехода пациента от упражнений на брусьях к сиденью для отдыха: самостоятельно пройти от брусьев к сиденью для отдыха он не может и поэтому для пациента приходится оказывать физическую помощь со стороны одного или двух физиотерапевтов (по его сопровождению или переносу на руках).

Мы предлагаем использовать устройство, которое выполнено на основе параллельных брусьев, на которых дополнительно закреплено кресло, предназначенное для отдыха пациента в перерывах между циклами физиотерапии на брусьях. При использовании устройства пациент начинает выполнять на параллельных брусьях заданные упражнения в ходьбе с поддержкой за брусья, при необходимости отдыха пациент перемещается внутри брусьев к креслу-сиденью, садиться в него и пристёгивается к нему страховочным ремнём. В отличие от известных устройств, предлагаемый способ позволяет намного облегчить переход пациента от упражнений на брусьях к сиденью (креслу) для отдыха, сохранить больше сил на тренировочные упражнения в ходьбе, повысить эффективность, безопасность и комфортность, а также умень-

шить трудоёмкость и сложность физиотерапии. Для проведения физиотерапевтических процедур с использованием предлагаемого комбинированного устройства необходим лишь один тренер-терапевт, а не более, как в способах аналогах. При этом безопасность для пациента не уменьшается, а возрастает (при выполнении простой страховки со стороны тренера, исключены случаи падения и ударов пациента об пол или о брусья). Пациент чувствует себя не только более безопасно, но и более комфортно, эффективность обучения и/или реабилитации возрастает, т.е. они достигаются в более короткие сроки (обычно в несколько раз, в зависимости от тяжести заболевания).

UDC 617-3

REGENERATIVE THERAPY OF ARTHROSCOPIA A KNEE JOINT WITH USE OF GYMNASTIC BARS

Zhukovskaya V.A., Zhukovskiy Yu.G., Kuznetsova L.P., Nikitina E.R., Sochilina E.E., Bykovskaya E.Yu.
Sechenov Institute of Evolutionary physiology and biochemistry of RAS, St-Petersburg.
E-mail: zhuk@iephb.ru

The regenerative therapy of the arthroscopia a knee joint by means of parallel bars on which the armchair is in addition fixed.

Keywords: the arthroscopia, a knee joint, the regenerative therapy, the parallel bars, the fixed armchair

Damages, wear process, weakness or age changes can become the pain and discomfort reason in a knee joint. The arthroscopia is effective way of diagnostics and definition of treatment of a knee joint, allows to return to a normal and active way of life without special discomfort.

Impellent rehabilitation after the arthroscopia a knee joint can be divided into three stages: restoration of the control of muscles of a foot and refusal of crutches, restoration of impellent function of a knee and force and returning to normal activity. Time which has been taken away on each stage, depends on the concrete patient, its general condition and process of rehabilitation after operation. During the first stage of exercise in parallel bars with a support on hands help the patient to restore balance and coordination and are the important part of the program of physiotherapy after the arthroscopia. Patients should go with a support on hands while they will not have a good control of muscles of a foot, and they can transfer weight on a knee without special discomfort.

In connection with features, training to circulation should be spent strictly individually. During employment fear falling is the reason of development of strong exhaustion which happens is disproportionate to effort. The weariness arising during employment, leads to the compelled stops for the patient. Lacks of parallel bars is complexity of transition of the patient from exercises on bars to a seat for rest: Independently pass from bars to a seat for rest it cannot and consequently for the patient it is necessary to render the physical help from one or two physiatrists (on its support or carrying over on hands).

We offer to use the device which is executed on the basis of parallel bars on which the armchair intended for rest of the patient in breaks between cycles of physiotherapy on bars is in addition fixed. At use of the device the patient starts to carry out on parallel bars the set exercises in walking with support for bars, in need of rest the patient moves in bars to an armchair-seat, sits down in it and is fastened to it by a safety belt.

Unlike the known devices, the offered way allows to facilitate much more transition of the patient from exercises on bars to a seat (armchair) for rest, to keep more forces on training exercises in walking, to raise efficiency, safety and comfort, and also to reduce labour input and complexity of physiotherapy. One trainer-therapist is necessary for carrying out of physiotherapeutic procedures with use of the offered combined device, instead of more, as in ways analogues only. Thus safety for the patient does not decrease, and increases (at performance of the simple insurance from the trainer, cases of falling and blows of the patient about a floor or about bars) are excluded. The patient feels not only it is more safe, but also is more comfortable, the learning efficiency and-or rehabilitations increases, i.e. they are reached in shorter terms (usually several times, depending on weight of disease).

УДК 617.3:159.9

ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ДЦП-ДЕТЕЙ ПУТЕМ УЛУЧШЕНИЯ ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ИХ РОДИТЕЛЕЙ И ВОСПИТАТЕЛЕЙ

Быковская Е.Ю., Кузнецова Л.П., Никитина Е.Р., Сочилина Е.Е.
Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург. E-mail: zhuk@iephb.ru

Эффективность реабилитационных мероприятий по восстановлению ДЦП-ребёнка зависит не только от компенсаторных возможностей его организма, комплекса лечебных и педагогических мероприятий с участием специалистов, но и от точности выполнения рекомендаций и степени адекватности участия в этом процессе родителей или опекунов.

В последнее время существенно возрос уровень пассивной агрессии среди родственников таких детей. Воспитание в семье ДЦП-ребёнка провоцирует защитные, приспособительные перестройки поведения среди его окружения. Можно выделить несколько факторов, которые способствуют развитию пассивно-агрессивного поведения: один из самых важных факторов – это степень тяжести заболевания ребенка, перспективы выздоровления которого туманны; не менее важный фактор уход из семьи отца или матери; а так же вынужденная потеря любимой работы; отчуждение друзей; сужение или полная потеря сферы личных интересов (хобби, чтения, занятий спортом, развлечений); компьютерная и другие виды зависимости. Пассивно-агрессивное поведение в своем развитии так же проходит несколько этапов и связано с приятием или неприятием ДЦП-ребенка.

Родители ДЦП-детей с негативным отношением к квалификации и авторитету врачей могут, некоторое время, скрывать свой гнев. Но возникает период, когда остальные – здоровые дети уже научились сидеть и ходить, а их ребенок нет, и становится очевидным их сильное отставание в психическом и двигательном развитии. Запас подсознательного гнева все более нарастает, поскольку общение с другими родителями, имеющими и больных и здоровых детей, так и специалистами, активно участвующими в реабилитации ребенка, всегда сопровождается для них неприятными и раздражающими моментами.

С течением времени у людей с пассивно-агрессивными чертами находятся причины для гнева, настоящие или воображаемые. Обычно подавлять свой гнев они могут не более двух лет, но затем гнев начинает находить подсознательные способы для своего выражения, не отдавая себе отчета в том, что делают. На смену вежливости приходит раздражительность, желание наказать всех тех, кто на протяжении всего периода жизни ребенка участвовал в его судьбе, лечении, реабилитации, обучении. С такими людьми становится трудно общаться. В конце концов, они становятся настолько некоммуникабельными, что многие специалисты отказываются с ними работать, а это плохо сказывается на здоровье и развитии их детей.

Мы предлагаем дополнительно проводить в рамках «Онтогенетической системы формирования двигательных действий при детском церебральном параличе» комплекс мероприятий на улучшение психоэмоционального состояния родителей или опекунов ДЦП-детей, который включает в себя следующие этапы.

1.Исследование специфики мотивационно-потребностной сферы личности по мотивационной индукции Ж.Нюттена [1] и методике «20 ответов на вопрос «Кто Я?» М.Куна [2].

2. Мероприятия по созданию Собственного «Круга удовольствий», которые включают лекции и практические занятия.

3. Обучение (проведение чтений, бесед, лекций).

4. Оздоровительно-физкультурные занятия, направленные на снятие эмоционального и мышечного напряжения, включающие в себя элементы танца, растяжки, йоги, аутотренинга, общения.

5. Текущий (1 раз в три месяца) и итоговый (через год) контроль психоэмоционального состояния.

6. При необходимости консультации специалистов: психологов, неврологов, терапевтов, психиатров и др..

Для исследования были отобраны 12 женщин (в возрасте от 23 до 38 лет) осуществляющих уход и воспитание ДЦП-детей (в возрасте от 5 до 36 месяцев). Группы были сформированы методом «парного дизайна» так, чтобы контрольная и экспериментальная группы были похожими по составу испытуемых. В каждой группе было по 6 женщин, имеющих одного ДЦП –ребенка. В контрольной и экспериментальной группах проводили индивидуальные занятия с ДЦП-детьми, применяли фиксационный массаж и онтогенетическую гимнастику.

В экспериментальной группе, дополнительно, предложили мамам участвовать в комплексе мероприятий по улучшению психоэмоционального состояния. Через две недели в экспериментальной группе: отмечалось улучшение настроения и состояния здоровья у 5 женщин (83,3%) и 6 детей (100%), желание заниматься с ребенком дома у 6 женщин (100%), двигательная активность повысилась у 6 детей (100%), положительно изменилось отношение к болезни ребенка у 6 женщин (100%).

В контрольной группе отмечалось улучшение настроения и состояния здоровья у 1 женщины (16,67%) и 4 детей (66,67%), желание заниматься с ребенком дома у 2 женщин (33,33%), двигательная активность повысилась у 4 детей (66,67%), положительно изменилось отношение к болезни ребенка у 2 женщин (33,33%).

Таким образом, предлагаемый нами комплекс мероприятий для родителей или опекунов ДЦП-детей не только способствует улучшению их психоэмоционального состояния (улучшает настроение и состояние психосоматического здоровья, положительно влияет на их отношение к болезни ребенка), но и сдерживает развитие агрессивного поведения. Способствует внедрению, через родителя или опекуна, физических и других упражнений, массажа в обычный режим дня ДЦП-ребенка, улучшая комфортность его жизни и тем самым способствуя повышению эффективности лечения ДЦП-детей.

1. Нюттен Ж. Мотивация, действие и перспектива будущего // Под ред. Д.А. Леонтьева. – М.: Смысл, 2004. – 608 с.

2. Кун М., Макпартленд Т. Эмпирические исследования установок личности на себя // Современная зарубежная социальная психология. Тексты. М.: Изд-во МГУ, 1984. С. 180-187.

UDC 617.3:159.9

INCREASE OF EFFICIENCY OF TREATMENT ChCP-CHILDREN BY IMPROVEMENT OF A PSYCHOEMOTIONAL CONDITION OF THEIR PARENTS AND TUTORS

Bykovskaja E.Yu., Kuznetsova L.P., Nikitina E.R., Sochilina E.E.
Sechenov Institute of Evolutionary physiology and biochemistry of RAS, St-Petersburg
E-mail: zhuk@iephb.ru

Efficiency of rehabilitation actions for restoration of the ChCP-child depends not only from compensator possibilities of its organism and the complex of medical and pedagogical actions with participation of experts, but also on accuracy of performance of recommendations and degree of adequacy of participation in this process of parents or trustees

Recently, level of passive aggression among relatives of such children has essentially increased. Education in family of the ChCP-child provokes protective, adaptive reorganizations of behaviour among its environment. It is possible to allocate some factors which promote development of is passive-aggressive behaviour: one of the most important factors is severity level of disease of the child, prospect of recover which are foggy; not less important factor leaving from a family of the father or mother; and as the compelled loss of favourite work; alienation of friends; narrowing or full loss of sphere of personal interests (a hobby, readings, playing sports, entertainments); computer and other kinds of dependence. The passively-aggressive behaviour in the development as passes some stages and is connected with acceptance or aversion of the ChCP-child.

Parents of ChCP-children with an uncooperative altitude to qualification and authority of doctors can, some time, hide the anger. But there is a period when the others – healthy children – have already learnt to sit and go, and their child is not present, and there is obvious their strong backlog in mental and impellent development. The stock of subconscious anger more and more accrues, as dialogue with other parents having as sick and healthy children, and the experts actively participating in rehabilitation of the child, is always accompanied for them by the unpleasant and irritating moments.

Eventually people with is passive-aggressive lines have reasons for anger, present or imagined. Usually suppress the anger they can no more than two years, but then the anger starts to find subconscious ways for the expression, not giving itself of the report that do. On politeness change irritability, desire to punish all those who throughout all period of a life of the child participated in its destiny, treatment, rehabilitation, training comes.

It becomes difficult to communicate with such people. Eventually, they become so uncommunicative, that many experts refuse to work with them, and it badly affects on health and development of their children.

We have suggested to spend in addition in frameworks «Ontogenetichesky system of formation of impellent actions at a children's cerebral paralysis» a complex of actions on improvement of a psychoemotional condition of parents or trustees of ChCP-children which includes following stages.

1. The specificity research motivatsionno-potrebnostnoj spheres of the person by Z.Njuttena's motivational induction [1] and a technique «20 answers to a question
« Who I? » M.Kuna [2].
2. Actions for creation Own «the Circle of pleasures» which include lectures and a practical training.
3. Training (carrying out of readings, conversations, lectures).
4. Improvingly – the sports employment directed on removal of emotional and muscular pressure, including elements of dance, an extension, yoga, auto-training, dialogue.
5. Flowing (1 time in three months) and the total control (in a year) a psychoemotional condition.

6. In need of consultation of experts: psychologists, neurologists, therapists, psychiatrists and et al.

For research 12 women (at the age from 23 till 38 years) carrying out leaving and education ChCP-children (at the age from 5 till 36 months) have been selected. Groups have been generated by a method of "pair design» so that, control and experimental groups were similar on structure of examinees. In each group was on 6 women having one ChCP-child. In control and experimental groups conducted individual lessons with ChCP-children, applied the fixation massage and the ontogenetic gymnastics.

In experimental group, in addition, have suggested mums to participate in a complex of actions for improvement of a psychoemotional condition. In two weeks in experimental group: improvement of mood and a state of health at 5 women (83,3%) and 6 children (100%), desire to be engaged with the child of the house at 6 women (100%) was marked, impellent activity has raised at 6 children (100%), the relation to illness of the child at 6 women (100%) has positively changed.

In control group improvement of mood and a state of health at 1 woman (16,67%) and 4 children (66,67%), desire to be engaged with the child of the house at 2 women (33,33%) was marked, impellent activity has raised at 4 children (66,67%), the relation to illness of the child at 2 women (33,33%) has positively changed.

Thus, the complex of actions offered by us for parents or trustees of ChCP-children not only promotes improvement of their psychoemotional condition (improves mood and a condition of psychosomatic health, positively influences their relation to illness of the child), constrains development of aggressive behaviour. Promotes introduction, through the parent or the trustee, physical and other exercises, massage in a usual mode of day of the ChCP-childr, improving comfort of his life and by that promoting increase of efficiency of treatment ChCP-children.

1. Нюттен Ж. Мотивация, действие и перспектива будущего // Под ред. Д.А. Леонтьева. – М.: Смысл, 2004. – 608 с.

2. 1. Кун М., Макпартленд Т. Эмпирические исследования установок личности на себя // Современная зарубежная социальная психология. Тексты. М.: Изд-во МГУ, 1984. С. 180-187.

УДК 577.15.08+577.152.231

ПРИМЕНЕНИЕ ФЕРМЕНТМИКРОТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ТРАНСАЦИЛАЗНОЙ И ГИДРОЛАЗНОЙ АКТИВНОСТИ В БЕЛОМ И СЕРОМ ВЕЩЕСТВЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС

Грибанов Г.А.[1], Миняев М.В.[2], Колдунов В.В.

[1]*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение ВПО Тверской государственный университет, Россия, г. Тверь, ул. Желябова, 33.*
E-mail: naukoved@tversu.ru

[2] *Государственное бюджетное образовательное учреждение ВПО Тверская Государственная медицинская академия Министерства здравоохранения и социального развития России, mmb_77@mail. Ru*

С помощью разработанной нами ранее высокочувствительной энзиматической методики (ферментмикротонкослойная хроматография, ФМТСХ) изучены особенности локализации лецитин-холестерол-ацилтрансферазы (ЛХАТ), холестеролэстеразы (ХЭ) в гомогенатах белого и серого вещества головного мозга крыс. В белом веществе выявлена относительно высокая активность ЛХАТ, в сером – более выражена активность ХЭ.

Ключевые слова: ферментмикротонкослойная хроматография, новые энзиматические технологии, лецитин-холестерол-ацилтрансфераза (ЛХАТ), холестеролэстераза (ХЭ), белое и серое вещество мозга.

В настоящее время среди технических возможностей определения активности многих ферментов липидомной сети тканей и органов большое значение приобретают хроматографические технологии, включая микротонкослойную хроматографию (МТСХ). Определения активности ферментов липидного обмена всегда были затруднительными, особенно, в связи с необходимостью создания в малом объеме пробы развитой поверхности раздела фаз (липид-вода) (1). Ранее нами (2) были разработаны методические подходы к определению ацилгидролаз, в частности, в отношении эфиров холестерина (ЭХ). Развитая поверхность раздела фаз липид-вода создавалась путем предварительного распределения липидов тонким слоем по поверхности частиц силикагеля на стартовой точке хроматографической пластинки с последующим нанесением буферного раствора (pH 7,2) и источника фермента. Инкубацию микропластинок (50 × 75 мм) проводили в камере оригинальной конструкции [2] в течение 2 ч при температуре 37°С В данном исследовании микроколичества субстратов (холестерин, Х и фосфолипиды, ФЛ) и продуктов лецитин-холестерол-ацилтрансферазной (ЛХАТ) реакции определяли после хроматографического разделения методом сжигания с H_2SO_4 (3). В качестве источника фермента использовали гомогенаты белого и серого вещества головного мозга белых крыс. В белом веществе головного мозга крыс была обнаружена ЛХАТ активность, составившая 250±29 мкг/мг·ч по приросту ЭХ и снижению количества ФЛ. Аналогичная активность обнаружена и в клеточных линиях нейроглиальных клеток мозга (4). В сером веществе ЛХАТ активность отсутствовала, или была ниже порога чувствительности метода, но при статистическом анализе прироста и убыли компонентов реакции была выявлена гидролазная по отношению к ЭХ активность, составляющая 71±25 мкг/мг·ч. Предполагается, что гидролазная активность серого вещества принадлежит холестеролэстеразе [5]. Применение новых энзиматических технологий и полученные с их помощью данные приводят к необходимости пересмотра и переосмысления многих ранее полученных экспериментальных данных о механизмах количественных перестроек липидомов разных органов, тканей, ультраструктур и дает новые возможности для объяснения сложных метаболических взаимодействий их липидного компонента. В белом веществе головного мозга крыс метаболические взаимоотношения в системе фосфолипиды (ФЛ) – холестерин (Х) – эфиры холестерина (ЭХ) соответствуют формуле ФЛ=> Х=> ЭХ. В сером веществе головного мозга крыс их взаимоотношения иные: ФЛ <= ЭХ=> Х.

Список литературы

1. Брокерхоф Х., Дженсен Р. Липолитические ферменты: – М.: Мир, 1978, 396 с.
2. Грибанов Г.А., Миняев М.В. – Вопросы медицинской химии, 1992, Т. 38, №2, С. 59–61.
3. Грибанов Г.А., Сергеев С.А.Вопросы медицинской химии, 1975, №6, С. 652–654.
4. Collet X., Francone O., Besnard F., Fielding C.J. Secretion of lecithin: cholesterol acyltransferase by brain neuroglial cell lines // Biochemical and Biophysical Research Communications. 1999. V. 258. No. 1. P. 73–76.
5. Morinaga N., Maeda A., Mizuno T., Bunya M., Sugihara S., Sugihara A. Synthesis of fatty acid sterol esters using cholesterol esterase from Trichoderma sp. AS59 // Enzyme and Microbial Technology. 2011. V. 48. No. 6-7. P. 498-504.

APPLICATION OF A ENZYMETHINLAYER CHROMATOGRAPHY FOR DETECTION OF TRANSACYLASE AND HYDROLASE ACTIVITY IN WHITE AND GRAY SUBSTANCE OF A BRAIN OF RATS

Gribanov G. A[1]., Minyaev M.V.[2], Koldunov V.V.
[1]*Federal public budgetary educational HPE institution Russia, Tver state university, Tver, Zhelyabov St., 33. E-mail: naukoved@tversu.,*
[2]*Public budgetary HPE Tverskaya educational institution State medical academy of the Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation, mmb_77@mail. Ru*

By means of earlier highly sensitive enzymatic technique developed by us (a enzymethinlayer chromatography, ETLC) peculiarity of localization of a lecitin-cholesterol-acyltransferase (LCHAT), a cholesterolesterase (CHE) in the gomogenate of white and gray substance a brain of rats are studied. In white substance rather high activity of LCHAT is revealed, in gray – activity of CHE is more expressed.

Keywords: enzymethinlayer chromatography, new enzimatic technologies, l lecitin-cholesterol-acyltransferase (LCHAT), cholesterolesterase (CHE), white and gray substance of a brain.

At present among technical capabilities of determination of activity of many enzymes of a lipidome network of tissues and bodies the great value is got by chromatography technologies, including a microthin layer chromatography (MTLC). Determination of activity of enzymes of a lipid exchange always there were difficult, especially, due to the need creations in the small volume of test of the developed interface of phases (lipid water) (1). Earlier we (2) developed methodical approaches to definition acylhydrolise, in particular, concerning the cholesterol ether (CHEt). The developed interface of phases a lipid water was created by preliminary distribution of lipids by a thin layer on a surface of particles of silica gel on a starting point of a chromatographyc plate with the following bring buffer solution (pH 7,2) and an enzyme source. The incubation of microplates (50 × 75 mm) was carried out in the camera of an original design [2] during 2 h at a temperature of 37°C. In present investigation microquantity of substrate (cholesterol, CH and phospholipids, PHL) and products of LCHAT reaction determined after chromatographyc division by a burning method with H_2SO_4 (3). As a source of enzyme used homogenate of white and gray substance of a brain of white rats. In white substance of a brain of rats LCHAT the activity which made 250±29 mkg/mg • h a increase CHE and to decrease in quantity of phospholipids (PHL) was found . Similar activity is found and in cellular lines of neuroglial cells of a brain (4). In gray substance LCHAT activity was absent, or was below a threshold of sensitivity of a method, but in the statistical analysis of a gain and decrease of components of reaction was revealed hydrolase in relation to CHEt activity making 71±25 mkg/mg • h. It is supposed that hydrolase activity of gray substance belongs to a cholesterolesterase [5]. Application new the enzymatic of technologies and the data obtained with their help result in need of revision and reconsideration of many earlier obtained experimental data about mechanisms of quantitative reorganizations of lipidom of different bodies, cells, ultrastructures and gives new opportunities for an explanation of difficult metabolic interactions of their lipid component. In white substance of a brain of rats metabolic relationship in system phospholipids (PHL) – cholesterol (CH) – the cholesterol ether (CHEt) corresponds to formula : PHL => CH => CHEt. In gray substance of a brain of rats of their relationship others: PHL <= CHEt => CH .

List of references

1. Brokerkhof X., Jensen of R. Lipolytic enzymes: – M., World, 1978, 396 P.
2. Gribanov G.A., Minyaev M.V.Questions of medical chemistry. -1992, -vol. 38, No. 2, – P. 59–61.

3. Gribanov G.A., Sergeyev S.A.Questions of medical chemistry. -1975, – No. 6, – P. 652–654.
4. Collet X., Francone O., Besnard F., Fielding C.J. Secretion of lecithin: cholesterol acyltransferase by brain neuroglial cell lines. //Biochemical and Biophysical Research Communications. 1999. – vol. – 258. – No. 1. P. 73–76.
5. Morinaga N., Maeda A., Mizuno T., Bunya M., Sugihara S., Sugihara A. Synthesis of fatty acid sterol esters using cholesterol esterase from Trichoderma sp. AS59. //Enzyme and Microbial Technology. 2011. – vol . 48. – No. 6-7. P. 498-504.

УДК 602.6.615.373

НЕЙРОПРОТЕКТИВНЫЙ ЭФФЕКТ КАРБАМИЛИРОВАННОГО ЭРИТРОПОЕТИНА И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ

Калинина Т.И.[1], Черемных А.М[1]., Юрин В.Л.[1], Романова Г.А.[2], Шакова Ф.М.[2]
[1]*Федеральное государственное унитарное предприятие Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов, ФГУП «ГосНИИгенетика», Москва, Россия, 117545, 1-Дорожный Проезд, д. 1*
[2]*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение НИИ общей патологии и патофизиологии РАН, ФГБНУ „НИИОПП" РАН, Россия, Москва, 125315, Балтийская ул.,8*
e-mail: tatyana.i.kalinina@googlemail.com

Разработана методика и получены карбамилированные формы гибридных белков на основе эритропоэтина: EPO, EPO-TR, EPO-Fc. Полученные белковые препараты не содержали агрегированных форм и не обладали эритропоэтической биоактивностью. На модели двустороннего фототромбоза сосудов префронтальной коры головного мозга крыс показано, что гибридные белки обладают ноотропной и нейропротективной активностью.

Ключевые слова: карбамилирование; гибридные белки; рекомбинантный Epo; Epo-Fc; Epo-TR; ишемия мозга; фототромбоз.

В последние годы было показано, что эритропоэтин (EPO) помимо участия в эритропоэзе обладает нейропротекторным действием. С использованием этой функции EPO связываются перспективы лечения таких распространенных патологий как инсульты и хронические нейродегенеративные болезни (Паркинсона, Альцгеймера). Для проявления нейропротекторных эффектов терапевтические дозы EPO в организме должны быть существенно выше, чем для проявления классической гемопоэтической активности. Основные проблемы создания и применения препаратов связаны с «выключением» гемопоэтической активности и оптимизацией нейропротекторной/анти-апоптозной функции EPO за счет пролонгации фармакокинетических свойств.

С этой целью нами были получены варианты генно-инженерных гибридов EPO с Fc-фрагментами иммуноглобулинов человека и фрагментом человеческого гликопептида MUC 1-(TR), несущего дополнительные сайты О-гликозилирования. Анализ фармакокинетических свойств показал, что полученные гибридные белки обладают пролонгированным временем полужизни (в 2–2,5раза) по сравнению со стандартным EPO.

Была разработана методика карбамилирования, позволяющая получить препараты белков, не обладающих эритропоэтической активностью, но сохраняющих нейропротекторные свойства. При использовании разработанного протокола степень модификации белков, составляла более 90%. Полученные препараты карбамилированных белков (EPO, EPO-TR и EPO-Fc) не содержали агрегированных форм и не обладали эритропоэтической биоактивностью, что было показано по отсутствию способности инициировать пролиферацию клеток UT-7/epo. Результаты,

полученные нами на модели очагового ишемического повреждения – двусторонний фототромбоз сосудов префронтальной коры головного мозга крыс, показали достоверное сохранение выработанного до ишемии навыка и уменьшение объема повреждения, что указывает на ноотропное и нейропротекторное действие использованных гибридных белков. Интересно, что существенно лучшие результаты по нейропротекции были достигнуты при инъекции крысам карбамилированной формы EPO-TR, которая впервые использовалась для снижения степени нейродегенерации. Полученные рекомбинантные EPO-производные могут в перспективе рассматриваться в качестве нейропротекторных белков для создания терапевтических препаратов, обладающих пролонгированным действием.

THE NEUROPROTECTIVE EFFECT OF CARBAMYLATED ERYTHROPOIETIN AND ITS DERIVATES

Kalinina T.I.[1], Cheremnych A.M.[1], Yurin V.L.[1], Romanova G.A.[2], Shakova F.M.[2]
[1]*State Research Institute of Genetics and Selection of Industrial Microorganisms GosNIIGenetika, 1-th Dorozhny, 1, Moscow, Russia.*
[2]*Institute of General pathology and Pathophysiology Russian Academia of Medical Science, Baltijskaya, 8, Moscow, Russia.*
e-mail: tatyana.i.kalinina@googlemail.com

By the established procedure we synthesized carbamylated erythropoietin (EPO) and EPO fusion protein: EPO, EPO-TR, EPO-Fc. The resulting carbamylated erythropoietin and derivates do not contain aggregated forms and exhibit no erythropoietic activity. With the model of a bilateral focal ischemic infarction of the rat prefrontal cortex, our study indicates that fusion proteins display neuroprotection and anti-amnestic activity.

Keywords: carbamylation; fusion proteins; recombinant Epo; Epo-Fc; Epo-TR; ischemic brain injury ; photochemical thrombosis.

Besides its established function in erythropoiesis, erythropoietin (EPO) is currently also appreciated for its neuroprotective effects. New treatment strategies with erythropoietin offer exciting opportunities to prevent the onset and progression common pathologies such as stroke and chronic neurodegenerative diseases (Parkinson's, Alzheimer's). To display the neuroprotective effects of EPO, the therapeutic dose should be substantially higher than that required for classical hematopoietic activity. The main problem here is to create the drug without hematopoietic activity but with optimized neuroprotective/anti-apoptotic function using prolongation of its pharmacokinetic properties.

To this end, the recombinant erythropoietin and erythropoietin fusion proteins with modified Fc fragments and EPO fusion protein containing TR domain from glycoprotein MUC1-(TR) were produced. TR-domain has additional sites for O-glycosilation. Analysis of pharmacokinetic properties revealed that both the *in vitro* potency and half-life in circulation of EPO bearing TR or Fc fragments were significantly longer (in 2–2,5 times) compared to the standard EPO.

A carbamylation technique was established. The resulting carbamylated erythropoietin and derivates exhibit no erythropoietic activity, but retains the neuroprotective properties. The degree of protein modification using this protocol was greater than 90%. These carbamylated proteins (EPO, EPO-TR and EPO-Fc) have no aggregated forms and lack erythropoietic bioactivity that was shown by the absence of the ability to initiate the proliferation of UT-7 cells/epo.

Treatment of rats with EPO and EPO fusion proteins after photothrombosis of cortex resulted in restoration of passive avoidance response and diminished volume of ischemic damage. Interestingly, our

study indicates that EPO-Fc and EPO-TR display neuroprotection and anti-amnestic activity, while EPO-TR demonstrates prolonged activity. Thus, these recombinant EPO-fusion proteins offer a number of exciting avenues to develop novel therapeutic drug with prolonged effect.

УДК 577.29

НАСЛЕДСТВЕННАЯ «ТАЙВАНЬСКАЯ» МУТАЦИЯ D7H БЕТА-АМИЛОИДА ВЛИЯЕТ НА ЕГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С ИОНАМИ ЦИНКА И НЕЙРОТОКСИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Куликова А.А.,[1] **Митькевич В.А.,**[1] **Кечко О.И.,**[1] **Мезенцев Ю.В.,**[1,2] **Иванов А.С.,**[2] **Козин С.А.,**[1] **Макаров А.А.**[1]

[1]*Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва, Россия*

119991, Москва, ул. Вавилова, д.32

[2]*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», Москва, Россия*

119435, Москва, ул. Погодинская, д. 10, стр. 8

e-mail: kulikovaaa@gmail.com

Ключевые слова: болезнь Альцгеймера, бета-амилоид, цинк, димеризация, мутация, агрегация, цитотоксичность.

Согласно «амилоидной гипотезе» агрегация бета-амилоидного пептида (Aβ) лежит в основе развития болезни Альцгеймера. Молекулярный механизм агрегации Aβ остается неясным. Важную роль в этом процессе играют ионы цинка. Наличие модификаций в металл-связывающем домене Aβ(1–16) существенно влияет на агрегационные и токсические свойства Aβ(1–42). Недавно была выявлена новая, так называемая «тайваньская» мутация D7H в Aβ(1–16), способствующая формированию токсичных агрегатов Aβ. Мы охарактеризовали взаимодействие Aβ(1–16), содержащего замену D7H ($Aβ(1–16)_{D7H}$), с ионами цинка, а также цитотоксические свойства полноразмерной формы Aβ(1–42) с этой мутацией. С помощью изотермической калориметрии титрования мы установили, что в отличие от нативной формы Aβ(1–16), которая связывает один ион цинка, $Aβ(1–16)_{D7H}$ имеет два сайта взаимодействия с ионами цинка, причем с первым сайтом связывается один ион Zn^{2+}, а со вторым – два иона Zn^{2+}. Используя метод спектроскопии поверхностного плазмонного резонанса было показано, что $Aβ(1–16)_{D7H}$ не образует гомодимеры, однако образует высокоафинные стабильные гетеродимеры с Aβ(1–16) в присутствии ионов цинка. Были охарактеризованы цитотоксические свойства $Aβ(1–42)_{D7H}$ на нейрональных клетках человека NSC-*hTERT*, клетках нейробластомы SK-N-SH и микроглии A-172. Показано, что пептид $Aβ(1–42)_{D7H}$ оказывает более выраженное цитотоксическое действие на клетки NSC-*hTERT* и SK-N-SH, чем нативный Aβ(1–42), вызывая в них апоптоз. Наиболее выраженный токсичный эффект пептид $Aβ(1–42)_{D7H}$ оказывает на клетки NSC-*hTERT*, в то время как клетки микроглии A-172 были практически не чувствительны к действию данного пептида, что является свидетельством его селективного действия на нейрональные клетки. Таким образом, Aβ, несущий мутацию D7H, может модулировать патогенную олигомеризацию интактного Aβ и усиливать его нейротоксические свойства.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 14-24-00100).

FAMILIAL "TAIWANESE" D7H MUTATION OF AMYLOID BETA AFFECTS ITS INTERACTION WITH ZINC IONS AND NEUROTOXIC PROPERTIES

Kulikova A.A.[1], **Mitkevich V.A.**[1], **Kechko O.I.**[1], **Mezentsev Y.V.**[1,2], **Ivanov A.S.**[1,2], **Kozin S.A.**[1,2], **Makarov A.A.**[1]
[1]*Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*
Vavilov street 32, 119991 Moscow, Russia
[2]*Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russia*
Pogodinskaya street 10, 119832 Moscow, Russia.
e-mail: kulikovaaa@gmail.com

According to the "amyloid cascade hypothesis" aggregation of beta-amyloid peptide (Aβ) is the key event in the development of Alzheimer's disease. The molecular mechanism of Aβ aggregation remains unknown. Zinc ions play an important role in this process. Moreover modifications of the metal binding domain of Aβ(1–16) significantly affect the aggregation properties and toxicity of full-length Aβ(1–42). Recently, a new "Taiwanese" D7H mutation of Aβ(1–16) that promotes formation of toxic aggregates of Aβ was identified. We have characterized interaction of the D7H mutant of Aβ(1–16) ($A\beta(1–16)_{D7H}$) with zinc ions, as well as cytotoxic properties of the full-length form of Aβ(1–42), which incorporates this mutation. Using isothermal titration calorimetry, we have found that unlike the native form of Aβ(1–16), which binds one zinc ion, $A\beta(1–16)_{D7H}$ has two sites of interaction with zinc ions. The first site binds one zinc ion and the second – two zinc ions. By surface plasmon resonance spectroscopy we have showed that $A\beta(1–16)_{D7H}$ does not form homodimers, but in the presence of zinc ions it forms stable heterodimers with high affinity to Aβ(1–16). We have characterized the cytotoxic properties of $A\beta(1–42)_{D7H}$ on the human neuronal NSC-*hTERT* cells, neuroblastoma SK-N-SH cells and microglia A-172 cells. It has been shown that the $A\beta(1–42)_{D7H}$ peptide induced apoptosis of NSC-*hTERT* and SK-N-SH cells and had a more pronounced cytotoxic effect than the native Aβ(1–42). The strongest toxic effect of $A\beta(1–42)_{D7H}$ peptide has been observed for the NSC-*hTERT* cells, while microglia A-172 cells are virtually not sensitive to the peptide, indicating selective effect of $A\beta(1–42)_{D7H}$ on the neuronal cells. Thus, the D7H mutation in Aβ(1–42) could modulate pathogenic oligomerization of the intact Aβ and enhance its neurotoxic properties.

This work was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (project № 14-24-00100).

УДК 581:612.017.1:615.272

ВЛИЯНИЕ БИОФЛАВОНОИДОВ ЛОТОСА ОРЕХОНОСНОГО НА ФАГОЦИТАРНУЮ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛЛОВ

Ломтева Н.А., Кондратенко Е.И., Касимова С.К., Яковенкова Л.А., Кондратенко К.Н.
ФГБОУ ВПО «Астраханский государственный университет», Астрахань, Россия
414000, Астрахань, пл. Шаумяна, 1
molecula01@yandex.ru

В работе исследовано влияние биофлавоноидов лотоса орехоносного на показатели фагоцитарной активности нейтрофилов крови крыс и проведено сравнение с иммуностимулирующим действием экстракта эхинацеи. Анализ полученных результатов позволил выявить наличие

у экстракта лотоса орехоносного иммунотропных свойств, степень выраженности которых определяется концентрацией экстракта.

Ключевые слова: фагоцитарный индекс, фагоцитарное число, иммунитет, фагоцитоз, эхинацея, биофлавоноиды, лотос орехоносный.

В работе изучали влияние биофлавоноидов лотоса орехоносного на фагоцитарную активность нейтрофилов. Исследование выполнено на самках белых беспородных крыс. Животные были разделены на группы: 1 – животные, получавшие физиологический раствор; 2 – животные, получавшие экстракт эхинацеи; 3–6 – животные, получавшие экстракты плодов лотоса орехоносного в дозе 50, 100, 200, 400 мг/кг соответственно. Фагоцитарную активность нейтрофилов исследовали по фагоцитарному числу (ФЧ) и фагоцитарному индексу (ФИ). Полученные данные были подвергнуты статистической обработке.

Полученные результаты свидетельствуют о наличии у экстракта плодов лотоса орехоносного иммуностимулирующего действия в отношении фагоцитарных иммунных реакций, преимущественно ФИ. Увеличение ФЧ показательно только лишь под влиянием больших концентраций (эквивалентных 200 и 400 мг/кг) экстракта плодов лотоса орехоносного. Сравнение влияния на фагоцитоз экстрактов плодов лотоса орехоносного и эхинацеи демонстрировало более интенсивный эффект первого.

UDC 581: 612.017.1: 615,272

EFFECT OF NELUMBO NUCIFERA BIOFLAVONOIDS ON NEUTROPHILES PHAGOCYTIC ACTIVITY

Lomteva N.A., Kondratenko E.I., Kasimova S.K., Yakovenkova L.A., Kondratenko K.N.
Astrakhan State University, Astrakhan, Russia
414000, Astrakhan, pl. Shaumyana 1
molecula01@yandex.ru

We studied the action of Nelumbo nucifera bioflavonoids on the performance of the phagocytic activity of blood neutrophils in rats. In addition, a comparison of it with those under the influence of Echinacea extract, studied immunostimulant. Analysis of the results revealed that Nelumbo nucifera extracts have immunotropic properties and its effects is determinated by the doses of extract.

Keywords: phagocytic index, phagocytic number, immunity, phagocytosis, Echinacea extract, bioflavonoid, Nelumbo nucifera extract.

In this paper we studied the effect of Nelumbo nucifera bioflavonoids on the phagocytic activity of neutrophils. The study was performed in female albino rats. The animals were divided into groups: 1 – the animals receiving saline; 2 – animals receiving the extract of Echinacea; 3–6 – animals receiving Nelumbo nucifera fruit extracts in a dose of 50, 100, 200, 400 mg/kg. Phagocytic activity of neutrophils was investigated by phagocytic number (FN) and phagocytic index (PI). The data were subjected with statistical processing.

The results indicate of immunostimulatory action against phagocytic immune responses of Nelumbo nucifera extract, mainly FI. Image FN indicative only under the influence of large concentrations (equivalent to 200 and 400 mg / kg) fruit Nelumbo nucifera extract. Comparison of the effect on phagocytosis of Nelumbo nucifera extract and Echinacea demonstrated more intense effect of Nelumbo nucifera.

УДК 579.6:602.6:577.113:579.842.11

СОЗДАНИЕ НАБОРА ЛИНЕАРИЗОВАННЫХ ВЕКТОРОВ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ РАСТВОРИМОСТИ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ

Радевич Д.С., Щеколова А.С., Рымко А.Н., Квач С.В., Зинченко А.И.
Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь
220141, г. Минск, ул. Купревича, д. 2, e-mail: zinch@mbio.bas-net.by

Впервые сконструирован набор унифицированных линеаризованных плазмидных векторов, несущих гены ряда белков-партнеров, обеспечивающих повышение растворимости и экскрецию рекомбинантных белков в периплазматическое пространство.

Ключевые слова: *Escherichia coli*, линеаризованный вектор, белок-партнер.

Продукция природных и модифицированных белков в клетках рекомбинантных штаммов *Escherichia coli* является основным этапом биотехнологического получения многих хозяйственно важных продуктов. Несмотря на удобства работы с клетками *E. coli*, многие белки продуцируются в них в форме неактивных водонерастворимых белковых агрегатов. Данное препятствие в значительной степени может быть преодолено путем создания химерных конструкций, содержащих кроме целевого белка также белки-партнеры, позволяющие увеличить его растворимость [1, 2].

Целью настоящей работы явилось создание набора унифицированных векторов, кодирующих различные белки-партнеры, повышающие растворимость целевого белка.

В результате получен набор унифицированных линеаризованных векторов, несущих гены ряда белков-партнеров (глутатион-S-трансферазы, дисульфид-изомеразы, дисульфидоксидоредуктазы, N-утилизирующей субстанции А и тиоредоксина) и лидерных последовательностей бактериальных белков (азурина и pelB *Pseudomnas aeruginosa*), пригодных для дальнейшего изучения повышения растворимости целевых белков. Все полученные векторы на 3'- и 5'-концах кодирующей цепи содержат идентичные последовательности, что позволяет встраивать ген, кодирующий целевой белок, во все векторы набора методом лигазо-независимого клонирования.

Литература

1. Recombinant protein expression and solubility screening in *Escherichia coli*: a comparative study // N.S. Berrow., K. Bussow, Coutard B. et al. // Acta Crystall. Sect. D Biol. Crystall. 2006. Vol. 62. P. 1218–1226.
2. Chambers S.P., Swalley S.E.Designing experiments for high-throughput protein expression // Methods Mol. Biol. 2009. Vol. 498. P. 19–29.

CONSTRUCTING A SET OF LINEARIZED VECTORS TO ENHANCE SOLUBILITY OF RECOMBINANT PROTEINS

Radevich D.S., Shchokolova A.S., Rymko A.N., Kvach S.V., Zinchenko A.I.
Institute of Microbiology, Belarus National Academy of Sciences, Minsk, Belarus
220141, Minsk, Kuprevich str., 2; e-mail: zinch@mbio.bas-net.by

A set of uniform linearized plasmid vectors carrying genes of some partner proteins enhancing solubility and secretion of recombinant proteins into periplasmatic area was originally constructed.

Keywords: linearized plasmid vector, partner protein, *Escherichia coli*

Production of native and modified proteins in cells of recombinant *Escherichia coli* strains is a major stage in biotechnologies of manufacturing diverse commercially valuable products. Despite relative facility of manipulations with *E. coli* cells, many proteins are produced in the recipient organism as inactive water-insoluble protein aggregates. This obstacle may be largely overcome by engineering chimeric complexes comprising partner proteins in addition to the target protein to increase solubility of the latter [1, 2].

Aim of this study was to design a set of unified vectors encoding various partner proteins enhancing solubility of the target protein.

Performed experiments resulted in a kit of uniform linearized vectors carrying some genes of partner proteins (glutathione-S-transferase, disulphide isomerase, disulphide oxidoreductase, N-utilizing substance A, thioredoxin) and leader sequences of bacterial proteins (*Pseudomnas aeruginosa* pelB and azurin) suitable for futher studies aiming to improve solubility of the target proteins. All vectors available on 3′ and 5′- polydeoxynucleotide ends of DNA chain contain identical nucleotide sequences allowing to insert gene coding for the target protein into the vectors by ligase-independent cloning technique.

References

1. Recombinant protein expression and solubility screening in *Escherichia coli*: a comparative study // N.S. Berrow., K. Bussow, Coutard B. et al. // Acta Crystall. Sect. D Biol. Crystall. 2006. Vol. 62. P. 1218–1226.

2. Chambers S.P., Swalley S.E.Designing experiments for high-throughput protein expression // Methods Mol. Biol. 2009. Vol. 498. P. 19–29.

УДК 615.032.13

ЛИПОСОМАЛЬНЫЕ ФОРМЫ ЛИПОЕВОЙ КИСЛОТЫ: ПОЛУЧЕНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ НА АГРЕГАЦИЮ ТРОМБОЦИТОВ

Щелконогов В.А.[1], **Сорокоумова Г.М.**[1], **Баранова О.А.**[2], **Чеканов А.В.**[2], **Бабушкин А.В.**[2], **Клочкова А.В.**[2], **Соловьева Э.Ю.**[2], **Швец В.И.**[1]

[1]*Московский государственный университет тонких химических технологий имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

119571, Москва, пр. Вернадского, д.86

e-mail: vasiliy9999@yandex.ru

[2]*Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пиргова Минздрава России, Москва, Россия*

Подобраны условия получения липосомальных форм липоевой кислоты, приводящие к формированию наночастиц размером 210 нм, с эффективностью включения субстанции 85% и обладающих пролонгированным действием. Показана антиагрегационная активность липоевой кислоты в составе липосом.

Ключевые слова: липосомы, липоевая кислота, тромбоциты, арахидоновая кислота.

Данная работа посвящена актуальной проблеме улучшения биодоступности трудно растворимого в воде антиоксиданта – альфа-липоевой кислоты (ЛК) – путем солюбилизации её липосомами, для последующего применения, полученной липосомальной формы ЛК, в комплексной терапии ишемии головного мозга.

В ходе работы липосомы получали методом экструзии. Эффективность включения ЛК в липосомы определяли спектрофотометрически в зависимости от таких факторов как: pH

среды водных растворов, используемых для получения мультиламеллярных везикул; количества липидов, взятых для создания липосом; липидного состава липосом и исходного количества ЛК.

В результате работы были подобраны оптимальным условия, приводящие к получению стабильных липосом размером 210 нм с эффективностью включения ЛК в липосомы 85% и характеризующиеся медленным высвобождением субстанции из наночастиц.

Исследование влияния липосомальной формы ЛК на агрегацию тромбоцитов человека, индуцированную арахидоновой кислотой (АК) и аденозиндифосфатом показало, что липосомы с ЛК (С = 1000μМ) ингибируют агрегацию тромбоцитов, вызванную АК, на 85%. Предполагается, что после дополнительных исследований липосомальную форму ЛК возможно рассматривать как новый препарат в комплексной терапии ишемии мозга.

LIPOSOMAL FORMS OF LIPOIC ACID: PREPARATION AND STUDYING OF EFFECT ON PLATELET AGGREGATION

Shchelkonogov V.A.[1], Sorokoumova G.M.[1], Baranova O.A.[2], Chekanov A.V.[2], Babushkin A.V.[2], Klochkova A.V.[2], Solovieva E.Yu.[2]. Shvets V.I.[1]

[1]*M.V. Lomonosov Moscow State University of Fine Chemical Technologies,*
119571, Moscow, Vernadsky prospectus, 86.
e-mail: vasiliy9999@yandex.ru
[2]*Pirogov Russian National Research Medical University (RNRMU)*
Ostrovitianov str. 1, Moscow, Russia, 117997

The conditions of obtaining liposomal forms of lipoic acid, leading to the formation of nanoparticles with a size of 210 nm, with the efficiency of inclusion of a substance at 85%, and with prolonged action were selected. Antiplatelet activity of liposomal forms lipoic acid were shown.

Keywords: liposomes, lipoic acid, platelet, arachidonic acid.

This work is devoted to an actual problem of improvement of bioavailability of difficult soluble antioxidant in water – alpha lipoic acid (LA) – by a solubilization it liposomes, for the subsequent application, the received liposomal form of LA, for the treatment of cerebral ischemia.

In course of the study liposomes were prepared by extrusion. The efficiency of LA inclusion in liposomes was determined spectrophotometrically depending on such factors as: pH of aqueous solutions used for preparing multilamellar vesicles (MLV) ; the amount of lipids taken to obtain liposomes; the lipid composition of liposomes and the initial amount of LA.

As a result of the study the optimal leading to production of a stable liposomes with size 210 nm, with the efficiency of inclusion LA in liposomes 85%, and characterized by slow releaseof substance from the nanoparticles were found.

The investigation of effect liposomal form of LA on the human platelet aggregation induced by arachidonic acid and adenosine diphosphate showed that liposomes with LA (C = 1000μM) inhibit platelet aggregation induced by arachidonic acid, 85%. It is supposed that after additional researches liposomal form of LA may be considered as a new drug in complex treatment of cerebral ischemia.

УДК 547.426.2

РАЗРАБОТКА НОВЫХ КОНЪЮГАТОВ ГЛИЦЕРОЛИПИДНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 3'-АЗИДО-3'-ДЕЗОКСИТИМИДИНА (AZT) И АМИНОКИСЛОТ

Шульга Н.В., Шастина Н.С.
Московский государственный университет тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, Россия 119571, Москва, проспект Вернадского, д.86
e-mail: shk92@rambler.ru

С использованием Н-фосфонатного подхода осуществлен синтез новых глицеролипидных производных AZT, конъюгированных по фосфорному центру с остатками аминокислот. Исследование их свойств в модельных буферных и клеточных системах позволит найти пролекарственные соединения с высокой ингибиторной активностью для создания эффективных анти-ВИЧ-препаратов.

Ключевые слова: 3'-азидо-3'-дезокситимидин (AZT), пролекарства, глицеролипиды, анти-ВИЧ-активность

Несмотря на эффективность нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы, в том числе AZT, в терапии ВИЧ, данные препараты имеют ряд недостатков: незначительную мембранотропность, низкую биодоступность из-за первичной деградации в печени, образование резистентных вирусных штаммов. Одним из подходов в преодолении этих проблем является создание их пролекарственных соединений на основе 1,3-диацилглицеринов, что может привести к улучшению доставки препаратов к клеткам-мишеням.

Ранее в нашей лаборатории были разработаны конъюгаты AZT и производных 1,3-диацилглицеринов с различными остатками жирных кислот, в которых связывание с анти-ВИЧ-нуклеозидом осуществлялось с помощью функциональных фосфорных связей. Ряд таких соединений проявил высокую антивирусную активность в условиях *in vitro*. Задачей представленной работы являлся синтез конъюгатов липофильных производных AZT этого ряда с аминокислотами. Маскировка фосфорного центра введением остатка аминокислоты повысит мембранотропность препарата и обеспечит доставку в клетку его монофосфатной формы.

Изучение свойств синтезированных амидофосфатных соединений даст возможность создать препараты с высокой анти-ВИЧ-активностью.

UDC 547.426.2

DEVELOPMENT OF NEW CONJUGATES OF 3'-AZIDO-3'-DEOXYTHYMIDINE (AZT) GLYCEROLIPIDIC DERIVATIVES AND AMINO ACIDS

Shul'ga N.V., Shastina N.S.
Moscow State University of Fine Chemical Technology M.V.Lomonosov
Russia 119571, Moscow, Vernadsky prospect, 86
e-mail: shk92@rambler.ru

Using the H-phosphonate approach the synthesis of new glycerolipidic derivatives of AZT, conjugated with amino acid residues on the phosphoric center was accomplished. The study of their properties in model buffer and cell systems will enable to search the prodrugs with high inhibitory activity to develop the effective anti-HIV drugs.

Keywords: 3'-azido-3'-deoxythymidine (AZT), prodrugs, glycerolipids, anti-HIV activity

Despite the effectiveness of nucleoside reverse transcriptase inhibitors including AZT in the treatment of HIV, these drugs have a number of disadvantages: low membranotropic properties, poor bioavailability due to the primary degradation in the liver and resistant viral strains formation. One approach to overcome these problems is to create their prodrugs based on 1,3-diacylglycerols which may lead to improved drug delivery to target cells.

Previously, we have developed conjugates of AZT and derivatives of 1,3-diacylglycerols with different fatty acid residues in which anti-HIV nucleoside was linked through the functional phosphorus linkages. Series of these compounds showed high antiviral activity *in vitro* conditions. The aim of the present work was the synthesis of conjugates of amino acids with AZT lipophilic derivatives of this series. Masking phosphorus center by the introduction of amino acid residue will enhance drug membranotropic properties and ensure delivery its monophosphate form into the cell.

Studies of the properties of the synthesized phosphoramidate compounds will give the opportunity to create the drugs with high anti-HIV activity.

УДК 57.083.3:577.175.534

СТРУКТУРА И ФУНКЦИЯ ФЕРМЕНТОВ БИОСИНТЕЗА И МЕТАБОЛИЗМА ХОЛЕСТЕРИНА И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ

Струшкевич Н.В., ГилепА.А., ПаркХ-В., Усанов С.А.
Государственное научное учреждение «Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси», Минск, Беларусь
220141, Минск, ул. академика В.Ф.Купревича, д.5, корп.2,
e-mail: usanov@iboch.bas-net.by

Получены данные, которые дают представления об организации активного центра цитохрома P450 и объясняют механизм взаимодействия холестерина с амино-кислотными остатками активного центра цитохромовP450, метаболизирующих холестерин.

Ключевые слова: ЦитохромP450 (CYP), холестерин

Для выявления структурных детерминант молекулы цитохрома P450, определяющих стерео- и региоселективность окисления холестерина и его производных, мы разрешили кристаллическую структуру рекомбинантных гемопротеидов человека – CYP2R1 (витамин D3 25-гидроксилаза), CYP7A1 (холестерин 7α-гидроксилаза), CYP7B1 (оксистерол 7α-гидроксилаза), CYP11A1 (холестерин-десмолаза), CYP11B2 (альдостерон-синтаза) иCYP51A1 (ланостерин 14α-деметилаза), участвующих в биосинтезе и метаболизме холестерина, в свободной и субстрат-связанной формах. Особый интерес уделен митохондриальным гемопротеидам семейства CYP11 и структурным аспектам комплекса цитохрома P450c промежуточным переносчиком электрона – ферредоксином, для установления молекулярного механизма межбелкового переноса электронов от железо-серусодержащего кластера Fe_2-S_2на железо гема. Впервые будет представлена пространственная структура CYP11B2 (альдостерон-синтаза человека) в комплексе с субстратом и ингибитором. На основе полученных данных предлагается модель альдостерон-синтазы, которая предполагает высокую гибкость ряда аминокислот вне активного центра. Полученные данные дают представления об организации активного центра цитохрома P450 и объясняют механизм взаимодействия холестерина с амино-кислотными остатками активного центра цитохромов P450, метаболизирующих холестерин.

STRUCTURE AND FUNCTION OF ENZYMES FOR CHOLESTEROL DERIVATIVES BIOSYNTHESIS AND METABOLISM

Strushkevich N.V., Gilep A.A., Park HEE-WON, Usanov S.A.
Institute of Bioorganic Chemistry NASB, Minsk, Belarus
220141, Minsk, Kuprevicha str. 5/2
e-mail: usanov@iboch.bas-net.by

The data obtained shed light on structural organization of the hemeprotein active site and allow explain the intrinsic mechanism of cholesterol interaction with the amino acid residues of the active site of cholesterol metabolizing cytochrome P450's and determine the molecular mechanism of stereospecificity of steroid hydroxylation.

Keywords: cytochrome P450 (CYP), cholesterol

There are 57 CYP genes in human genome expressing hemeproteins with a wide varieties of functions, classified like all CYPs according to the sequence comparisons where families share similarity more than 40% and subfamilies > 55%. The clinical relevance of cytochrome P450s is in its central role in drug metabolism in human organs and tissues as well as outstanding role that hemeproteins play in biosynthesis of low molecular weight bioregulators such as steroid hormones, bile acids and vitamins. Any abnormalities in functioning of cytochrome P450 enzymes result in severe diseases or uncontrolled function of organs and tissues.

To determine the structural determinants that govern the stereo-specific hydroxylation of cholesterol and its derivatives, we determined the crystal structure of human recombinant CYPs 2R1 (vitamin D3 25-hydroxylase), 7A1 (cholesterol 7α-hydroxylase), 7B1 (oxysterol 7α-hydroxylase), 11A1 (cholesterol side chain cleavage), 11B2 (aldosterone synthase) and 51A1 (lanosterol 14α-demethylase) involved mostly in cholesterol metabolism in ligand-free and ligand-bound forms.

The data obtained shed light on structural organization of the hemeprotein active site and allow explain the intrinsic mechanism of cholesterol interaction with the amino acid residues of the active site of cholesterol metabolizing cytochrome P450's and determine the molecular mechanism of stereospecificity of steroid hydroxylation.

УДК 615.33(076.5) (075.8)

СОЗДАНИЕ ШТАММА-ПРОДУЦЕНТА АНТИТЕЛА К ФАКТОРУ НЕКРОЗА ОПУХОЛИ АЛЬФА

Воронина Е.В.[1], Серегин Ю.А.[1], Литвинова Н.А.[1], Швец В.И.[2], Шукуров Р.Р.[1]
[1]*ГНЦ РФ ФГУП НИИ генетики и селекции промышленных микроорганизмов, Россия, Москва, 1-й Дорожный проезд, д. 1, e-mail: voronina@pharmapark.ru*
[2]*Московский государственный университет тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова, Россия, Москва, проспект Вернадского 86*

Ключевые слова: моноклональные антитела, фактор некроза опухоли альфа, продуценты, клетки CHO

Рекомбинантные моноклональные антитела к фактору некроза опухоли альфа широко используются в качестве биофармацевтических препаратов для лечения аутоиммунных заболеваний. На рынке в настоящее время присутствует большое число подобных препаратов, и

разработка их российских биоаналогов представляет важную задачу. Одно из таких антител являлось целью описываемой разработки.

Цель исследования. Создать высокопродуктивный штамм-продуцент гуманизированного антитела к фактору некроза опухоли альфа.

Материалы и методы. Сконструированы экспрессионные плазмиды, содержащие гены тяжелой и легкой цепей моноклонального антитела, с использованием векторов pOptiVEC и pcDNA (Invitrogen, США). Для выбора наиболее эффективной комбинации векторов для экспрессии моноклонального антитела в клетках CHO-DG44 проведена транзиентная трансфекция с использованием реагента FreeStyle MAX (Invitrogen, США). Отбор стабильных клонов-продуцентов проводили методом предельных разведений. Клетки выбранного пула подвергли воздействию селекционного агента – метотрексата (МТХ). Полученный пул клеток, устойчивый к МТХ, клонировали методом предельных разведений. Отобрали клональные линии продуцента и провели их сравнительный анализ на количество секретируемого белка (иммуноферментный анализ, ИФА), содержание легкой и тяжелой цепей (электрофорез с окраской Кумасси) и связывание с антигеном (антиген-специфичный ИФА). Культивирование осуществляли в суспензии в среде без содержания сыворотки с добавлением подпиток различного состава в многолуночных планшетах и колбах объёмом 125 мл.

Результаты. Максимальный уровень экспрессии моноклонального антитела получен в случае трансфекции клеток комбинацией векторов pOptiVEC-HC и pcDNA-LC. Популяция с максимальной экспрессией моноклонального антитела, выбранная в условиях стабильной транзиентной трансфекции, имела выход 0,6 нг/мл. После амплификации с МТХ на основании скорости роста, жизнеспособности и продуктивности были отобраны 7 лучших клонов, обладающие удельной продуктивностью 7–18 пг/клетку/день. С помощью первичного скрининга сред и подпиток в колбах были достигнуты следующие показатели: продуктивность по целевому белку 0,3–1,2 г/л, длительность культивирования 10–14 суток, максимальная клеточная плотность 8–38 млн клеток/мл. При непрерывном культивировании в течение 60 суток удельная продуктивность разных клонов снижалась на величину от 0–70%, при этом только для одного клона уровень экспрессии был полностью стабилен.

Выводы. Использование клеточной линии CHO-DG44 и разработанных генетических конструкций позволило достичь продуктивности по целевому белку более 1 г/л в неоптимизированных условиях. При этом для одного из продуцентов была показана как высокая продуктивность, так и стабильность экпрессии при длительном культивировании. Необходимо дальнейшая работа по оптимизации условий культивирования для дальнейшего увеличения продуктивности полученного клона-продуцента.

УДК 615.33(076.5) (075.8)

DEVELOPMENT OF STRAIN-PRODUCING FOR GENERATION OF MONOCLONAL ANTIBODY TO TUMOR NECROSIS FACTOR ALFA

Voronina E.V.[1], **Seregin Y.A.**[1], **Litvinova N.A.**[1], **Shvetc V.I.**[2] **Shukurov R.R.**[1]

[1]*Scientific Centre RF, Institute of genetics and selection of industrial microorganisms, Russia, Moscow, 1st Dorozhny proezd, 1, mail: voronina@pharmapark.ru*

[2]*M.V. Lomonosov Moscow State Academy of fine chemical technology, Moscow, Russia*

Keywords: monoclonal antibody, tumor necrosis factor alfa, strain-producing, cell CHO

Recombinant monoclonal antibodies (rMABs) are widely used biopharmaceuticals for treatment autoimmune disease. Currently on the market there are a large number of these drugs and the development of Russian biosimilars is an important goal. One such antibody the aim was to describe the development.

Aim of the study. Create strain-producing with the highest possible yield for generation of monoclonal antibody to tumor necrosis factor alfa.

Materials and methods. Expression constructs containing HC and LC genes of monoclonal antibody were synthesized using plasmids pOptiVEC и pcDNA (Invitrogen, USA). In order to select the best combination of vectors for expression of monoclonal antibody in CHO-DG44 cells transient transfection was carried out using a reagent FreeStyle MAX (Invitrogen, USA). Selection of stable clones-producing was performed by the limiting dilution method. Cells of selected pool were exposed to the selection agent – methotrexate (MTX). The resulting pool of cells resistant to MTX were cloned by limiting dilution. Producing clonal lines was selected and conducted a comparative analysis the amount of secreted protein (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA), the content of the light and heavy chains (electrophoresis with Coomassie) and antigen binding (antigen-specific ELISA). Cultivation was carried out in suspension in serum-free medium supplemented with different feeds in multiwell plates and flasks 125 ml volume.

Results. The results suggested that maximal transient expression was achieved by using separate plasmids. The highest expression levels in transient transfection were obtained with the use of pOptiVEC-HC and pcDNA-LC plasmids combination. After amplification with MTX on the basis of the growth rate, productivity and viability were selected the best clones 7 having the specific productivity of 7–18 pg/cell/day. With primary screening media in flasks and feeds had the following characteristics: the target protein on the productivity of 0.3–1.2 g/l, the duration of the 10–14 days of cultivation, the maximum cell density of 8–38 million cells/ml. During continuous cultivation for 60 days of various clones specific productivity decreased by the amount of 0–70%, with only the level of expression of a single clone was completely stable.

Conclusion. Using a cell line CHO-DG44 and developed genetic constructs allowed to reach the target protein productivity by more than 1 g/l in the non-optimized conditions. Wherein for one of the producer has been shown a high productivity and stability of expression of prolonged cultivation. Further work is needed to optimize the culture conditions for a further increase in productivity resulting clone-producing.

УДК 661.12:001.891

РАЗРАБОТКА АКТИВНЫХ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ СУБСТАНЦИЙ НА ОСНОВЕ ГИБРИДНЫХ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ Е7-БТШ70

Жученко М.А., Гаврилова Н.А., Шамонов Н.А.
Государственный научный центр Российской Федерации ФГУП Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов, 117545, Россия, Москва, 1-й Дорожный проезд, д. 1, axiflipper@gmail.com

Разработан процесс трехстадийной хроматографической очистки гибридных рекомбинантных онкобелков Е7 вируса папилломы человека 16 и 18 типов, конъюгированных с белком теплового шока 70, полученных в ходе культивирования штамма-продуцента *Saccharomyces Cerevisiae SCR-702-E7(16)-HSP70 и SCR-702-E7(18)-HSP70*. Показано, что ключевым фактором, позволяющими получить белок, сохраняющим правильную структуру и биологическую активность, является использование металл-хелатной и аффинной хроматографии при его очистке.

Скрининг основных физико-химических свойств препарата, проведенный методом ускоренного хранения, позволил определить оптимальный компонентный состав вспомогательных веществ в активных фармацевтических субстанциях. Показано, что при внесении в составы сахарозы и полисорбата 80 стабильность субстанций значительно возрастает. Так, на основании полученных данных, срок хранения активной субстанции при температуре 2-8°С могут быть увеличены с одной до трех недель, а при хранении при -20°С срок годности может составлять не менее 12 месяцев.

DEVELOPMENT OF ACTIVE PHARMACEUTICAL INGREDIENTS BASED ON HYBRID RECOMBINANT PROTEINS E7-HSP70

Zhuchenko M.A., Gavrilova N.A., Shamonov N.A.
Scientific Center of Russian Federation Research Institute for Genetics and Selection of Industrial Microorganisms, 117545, Russia, Moscow, 1st Dorozhny proezd, 1
axiflipper@gmail.com

A three-step chromatographic purification process of recombinant hybrid E7 oncoproteins of human papillomavirus types 16 and 18, conjugated with heat shock protein 70 produced during the culturing of the producer strain *Saccharomyces Cerevisiae SCR-702-E7 (16)-HSP70 and SCR-702-E7 (18)-HSP70* was developed. It was shown that a key factor allowing to obtain preserving the correct structure and biological activity protein, is the use of metal-chelate affinity chromatography during purification process.

Screening of basic physical and chemical properties of the drug, conducted by accelerated storage, allowed to determine the optimal component composition of exipients in active pharmaceutical ingredients. It was shown that when substances incorporated in sucrose and polysorbate 80 stability has significantly increase. Thus, based on the data obtained, the shelf life of the active substance can be increased from one to three weeks when stored at 2-8°C and can be at least 12 months when stored at -20°C.

УДК 661.12:001.891

РАЗРАБОТКА ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ВАКЦИНЫ, ПРЕДНАЗНАЧЕННОЙ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ АНОГЕНИТАЛЬНОЙ ОБЛАСТИ, ВЫЗВАННЫХ ВПЧ 16 И 18 ТИПОВ

Жученко М.А., Гаврилова Н.А., Кухаренко А.Е.
Государственный научный центр Российской Федерации ФГУП Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов, 117545, Россия, Москва, 1-й Дорожный проезд, д. 1, axiflipper@gmail.com

При разработке готовой формы вакцины для лечения заболеваний аногенитальной области были исследованы процессы сорбции гибридных рекомбинантных онкобелков Е7 вируса папилломы человека 16 и 18 типов, конъюгированных с белком теплового шока 70 на адъюванты TiterMax® Gold, Adjuplex ™ и гидроокись алюминия. Была установлена зависимость интенсивности сорбции от температуры и времени протекания процесса.

В ходе скрининга основных физико-химических свойств вакцины было показано, что использование в качестве адьюванта гидроокиси алюминия позволяет получить стабильную форму вакцины и повысить активность препарата по сравнению с другими тестируемыми вариантами. На основании долгосрочных испытаний стабильности при хранении вакцины на 2-8°C был подтверждён срок годности 12 месяцев, исследования стабильности при увеличении срока годности продолжаются.

DEVELOPMENT OF THERAPEUTIC VACCINE FOR THE TREATMENT OF ANOGENITAL DISEASES CAUSED BY HPV TYPES 16 AND 18

Zhuchenko M.A., Gavrilova N.A., Kuharenko A.E.
Scientific Center of Russian Federation Research Institute for Genetics and Selection of Industrial Microorganisms, Russia, Moscow, 1st Dorozhny proezd, 1
axiflipper@gmail.com

In the development of vaccine formulation for treating diseases of the anogenital region were conducted sorption studied with hybrid recombinant E7 oncoproteins of human papillomavirus types 16 and 18, conjugated with heat shock protein 70 and TiterMax® Gold, Adjuplex ™ and aluminum hydroxide adjuvants. The temperature and the process time dependence on sorption intensity were set.

During the screening of basic physico-chemical properties of the vaccine it has been shown that the use of aluminum hydroxide as adjuvant provides vaccine stability and enhance the activity of the drug as compared with other tested variants. On the basis of long-term storage stability test the vaccine was confirmed shelf life of 12 months on 2-8°C, the stability studies with increasing shelf life continues.

СЕКЦИЯ «ИММУННАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ»
SECTION "IMMUNOBIOTECHNOLOGY"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

УДК 577.112.083

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НОВОГО ЛИПИД-ТРАНСПОРТИРУЮЩЕГО БЕЛКА ГОРОХА *PISUM SATIVUM L.*

Богданов И.В., Финкина Е.И., Овчинникова Т.В.
Федеральное агентство научных организаций (ФАНО России) Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН), Москва, Россия
117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10
e-mail: contraton@mail.ru

Из гороха посевного *Pisum sativum* выделен и охарактеризован новый липид-транспортирующий белок, названный Ps-LTP1. Разработан биотехнологический способ получения рекомбинантного аналога нового LTP гороха. Показано, что Ps-LTP1 обладает антимикробной активностью в отношении фитопатогенных микроорганизмов. Продемонстрировано, что Ps-LTP1 имеет схожие с аллергенными LTP структурно-функциональные и иммунологические свойства.

Ключевые слова: аллергия; липид-транспортирующие белки; горох посевной; рекомбинантный белок.

В последние десятилетия отмечается выраженный рост частоты встречаемости аллергических заболеваний во всем мире. В связи с этим актуальной задачей является обнаружение и изучение свойств новых растительных аллергенов. Липид-транспортирующие белки (LTP) составляют один из широко распространенных в растительном царстве классов белков, представители которого часто являются причиной развития аллергических реакций различной степени тяжести.

Ранее нами в семенах гороха посевного *Pisum sativum* было обнаружено подсемейство из трех новых липид-транспортирующих белков, названных Ps-LTP1–3. Были установлены их полные аминокислотные последовательности и структуры кДНК, кодирующие предшественники новых LTP. Для изучения структурно-функциональных и иммунологических свойств одного из новых LTP была разработана методика выделения природного Ps-LTP1 из семян гороха. Процесс выделения включает ряд последовательных стадий, а именно: экстракцию, диализ, тепловую обработку, двухстадийную ультрафильтрацию, катионообменную хроматографию и две стадии ОФ-ВЭЖХ. Создана генно-инженерная конструкция для экспрессии Ps-LTP1 в составе гибридного белка, содержащего тиоредоксин, и разработан биотехнологический способ получения рекомбинантного аналога Ps-LTP1 в клетках *E. coli*. Целевой рекомбинантный белок был очищен в результате последовательного проведения металлохелатной хроматографии, диализа, реакции расщепления гибридного белка бромцианом, повторной металлохелатной хроматографии и ОФ-ВЭЖХ.

Показано, что рекомбинантный Ps-LTP1 содержит восемь консервативно расположенных остатков цистеина, формирующих четыре дисульфидные связи. Структура Ps-LTP1 характеризуется высоким содержанием α-спиральной структуры. В результате проведенного исследо-

вания антимикробной активности Ps-LTP1 показано, что рекомбинантный белок ингибирует прорастание спор и замедляет рост фитопатогенных грибов, но не влияет на морфологию гиф грибов, а также обладает слабовыраженной антибактериальной активностью в отношении фитопатогенных бактерий. Исследование иммунологических свойств Ps-LTP1 гороха было проведено с помощью методов иммуноблоттинга и твердофазного иммуноферментного анализа с использованием поликлональных кроличьих антител к аллергену чечевицы Len c 3, принадлежащего к классу LTP, и сывороток пациентов с пищевой аллергией. В результате было продемонстрировано, что Ps-LTP1 имеет схожие с Len c 3 иммунологические свойства и обладает способностью связывать специфические IgE из сывороток пациентов с пищевой аллергией. Также было показано, что Ps-LTP1, как и многие другие липид-транспортирующие белки растений, связывается со специфическими IgE, распознающими схожие эпитопы основного аллергена персика Pru p 3, что может приводить к перекрестным аллергическим реакциям. На основании полученных предварительных данных было высказано предположение, что Ps-LTP1 гороха является новым аллергеном класса LTP.

Работа поддержана грантом Российского научного фонда (соглашение № 14-50-00131).

STRUCTURAL, FUNCTIONAL, AND IMMUNOLOGICAL PROPERTIES OF A NOVEL LIPID TRANSFER PROTEIN FROM PEA *PISUM SATIVUM L.*

Bogdanov I.V., Finkina E.I., Ovchinnikova T.V.
M.M. Shemyakin & Yu.A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia.
117997, Moscow, ul. Miklukho-Maklaya, 16/10
e-mail: contraton@mail.ru

A novel lipid transfer protein, designated as Ps-LTP1, was isolated from pea *Pisum sativum* seeds and characterized. A method for biotechnological production of its recombinant analog was developed. It was found that Ps-LTP1 displayed antimicrobial activity against some phytopathogenic microorganisms. It was shown that structural, functional, and immunological properties of the recombinant Ps-LTP1 were similar to those of other allergenic LTP.

Keywords: allergy; lipid transfer proteins; pea; recombinant protein.

A dramatic increase of allergic diseases is evidenced worldwide over the last decades. In this regard, identification and characterization of novel allergens are the important aims of basic medical science. One of the most widespread protein families in plants is lipid transfer proteins (LTP), which are able to cause allergic reactions of varying severity.

Previously we found a subfamily of three novel lipid transfer proteins designated as Ps-LTP1–3 in the pea *Pisum sativum* seeds. The complete amino acid sequences were determined, and the cDNAs encoding the precursors of three novel LTP were sequenced.

To study the structural, functional, and immunological properties we developed a method for Ps-LTP1 isolation from pea seeds. The downstream process involved extraction, dialysis, thermal treatment, two-stage ultrafiltration, cation exchange chromatography, and two-stage RP-HPLC. A plasmid vector for heterologous overexpression of a hybrid protein containing thioredoxin and Ps-LTP1 was constructed, and a method for biotechnological production of its recombinant analog in *E. coli* cells was developed. The target recombinant protein was purified by sequential immobilized metal ion affinity chromatography (IMAC), dialysis, cyanogen bromide cleavage of the fusion protein, repeated IMAC, and RP-HPLC.

It was shown that the recombinant Ps-LTP1 contained eight conservative cysteine residues forming four disulfide bonds. The protein is characterized by a high proportion of α-helical structure. As for the antimicrobial activity, Ps-LTP1 was shown to inhibit the spores germination and growth of phytopathogenic fungi but not affect on hyphal morphology. Ps-LTP1 has also a mild antibacterial activity against some phytopathogenic bacteria. Immunological studies of pea Ps-LTP1 were carried out by immunoblotting and ELISA using both polyclonal rabbit antibodies to lentil Len c 3 allergen, belonging to the LTP family, and sera of patients with food allergy. As a result, we showed that Ps-LTP1 has immunological properties similar to Len c 3 and has the ability to bind specific IgE from allergic patient sera. It was shown also that Ps-LTP1 like many other plant lipid transfer proteins interacts with specific IgE identifying epitopes similar to those of the major LTP allergen from peach – Pru p 3, that may cause allergic cross-reactions. Based on the preliminary data, the pea Ps-LTP1 may be presumed to be a novel allergen belonging to the LTP family.

This work was supported by the Russian Science Foundation (the agreement No.14-50-00131).

УДК 616.12

ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ДВУХ КАРДИОМАРКЕРОВ ДЛЯ ЭКСПРЕССНОЙ ДИАГНОСТИКИ ИНФАРКТА МИОКАРДА

Дзантиев Б.Б., Бызова Н.А., Жердев А.В., Венгеров Ю.Ю., [1]Космынина Ю.С., [1]Орешкина И.В., [1]Гончарова А.Я., [1]Розиев Р.А.

Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия

119071, Москва, Ленинский проспект, д. 33, стр. 2

e-mail: dzantiev@inbi.ras.ru

[1]ОАО «НПК «Медбиофарм», Обнинск, Калужская область, Россия

Предложена тест-система для экспрессной (10 мин) диагностики во внелабораторных условиях инфаркта миокарда, основанная на контроле с помощью иммунохроматографической тест-полоски двух кардиомаркеров – сердечных изоформ «быстрого» белка, связывающего жирные кислоты, и «медленного» тропонина I. Рассматриваются вопросы разработки тест-системы и ее апробации на клиническом материале (венозная кровь, капиллярная кровь, сыворотка).

Ключевые слова: острый инфаркт миокарда, диагностика, кардиомаркеры, белок, связывающий жирные кислоты, тропонин I, иммунохроматографические тест-системы.

Оперативное начало терапевтических мероприятий при остром инфаркте миокарда требует эффективных средств диагностики, сочетающих быстрое получение информации и возможность тестирования во внелабораторных условиях. Оптимальным подходом к решению этой задачи является иммунохроматографическая детекция специфических кардиомаркеров, попадающих в кровь при разрушении мышечных клеток миокарда. При этом выбираемые для контроля кардиомаркеры должны обеспечивать возможность диагностики на протяжении значительного временного интервала.

В докладе представлены результаты разработки и апробации иммунохроматографической тест-системы, позволяющей за 10 минут проводить одновременное выявление в биопробах (венозная кровь, капиллярная кровь, сыворотка)двух кардиомаркеров – сердечных изоформ белка, связывающего жирные кислоты (БСЖК), и тропонина I (TpI). Принципиальное значение для диагностики имеет сочетание БСЖК как «быстрого» маркера, появляющегося в крови через час после сердечного приступа, и TpI как медленного маркера, наблюдаемого до двух суток.

Рассмотрены методические особенности разработки тест-системы, обусловленные необходимостью одновременного детектирования двух существенно различающихся по свойствам белков. Пределы обнаружения кардиомаркеров составляют 4нг/мл для БСЖК и 1 нг/мл для TpI. Представлены результаты апробации тест-системы на клиническом материале, в том числе характеристики динамики уровня кардиомаркеров и сравнения результатов иммунохроматографии с данными других методов, традиционно используемых в кардиодиагностике. Рассмотрены возможности количественной иммунохроматографической оценки содержания кардиомаркеров с помощью портативного фотометрического детектора.

Работы выполнены при поддержке ФЦП «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу» (государственный контракт №13411.1008799.13.039 от 07.05.2013).

UDK 616.12

IMMUNOCHROMATOGRAPHIC ASSAY OF TWO CARDIAC MARKERS FOR RAPID DIAGNOSIS OF MYOCARDIAL INFARCTION

Dzantiev B.B., Byzova N.A., Zherdev A.V., Vengerov Yu. Yu., [1]Kosmynina Yu. S., [1]Oreshkina I.V., [1]Goncharova A. Ya., [1]Roziev R.A.

A.N. Bach Institute of Biochemistry, Federal Research Centre «Fundamentals of Biotechnology» of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

119071 Moscow, Leninsky prospect 33, bld. 2

e-mail: dzantiev@inbi.ras.ru

[1]JSC «NPK Medbiopharm», Obninsk, Kaluga region, Russia

Test system for express (10 min) out-of-laboratory diagnosis of myocardial is proposed. It is based on the use of immunochromatographic test strip for the control of two cardiac markers – cardiac isoforms of "fast" fatty acid -binding protein and "slow" troponin I. The problems of the test system development and its validation on clinical material (venous blood, capillary blood, serum) are discussed.

Keywords: acute myocardial infarction, diagnostics, cardiac markers, fatty acid-binding protein, troponin I, immunochromatographic test-systems.

The early start of therapeutic interventions in acute myocardial infarction requires effective diagnostic tools that should combine fast obtaining the information and possibility of testing under out-of-laboratory conditions. The best approach to solving this problem is the immunochromatographic detection of specific cardiac markers that enter the blood from muscle cells after myocardium destruction. The cardiac markers selected for this monitoring should allow diagnosis for a considerable time interval.

The report presents results of the development and approbation of immunochromatographic systems, allowing to carry out simultaneous detection of two cardiac markers, i.e. cardiac isoforms of fatty acid-binding protein (FABP) and troponin I (TrI), in biosamples (venous blood, capillary blood, serum) during 10 min. The important feature for the diagnosis of a combination of FABP as "fast" marker appears in the blood an hour after a heart attack, and TrI as "slow" marker observed up to two days. The methodological features of this test system development are considered in the connection with the necessity to detect simultaneously two proteins with significantly different properties. The limits of detection are 4 ng/mL for FABP and 1 ng/mL for TrI. The results of the test-system approbation on clinical material are presented, including the characteristics of the dynamics of the cardiac markers levels and comparison of the obtained results with those of other methods traditionally used

in the cardiac diagnosis. The possibility of a quantitative immunochromatographic assessment of the cardiac markers content using portable photometric detector is considered.

This work was supported by the Federal Target Program "Development of the Pharmaceutical and Medical Industry of the Russian Federation for the period up to 2020 and beyond" (state contractNo 13411.1008799.13.039 from 05.07.2013).

УДК 615.275.4

ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЕ *IN VITRO* КАК СПОСОБ СТАБИЛИЗАЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ

Гасанов В.А., Шевалье А.Ф., Макаров Е.А., Иванов И.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение "Государственный научный центр "Институт иммунологии" Федерального медико-биологического агентства.

115 478, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24, корп. 2

e'mail: immune48@mail.ru

Разработана технология гликозилирования белков *in vitro*, позволяющая вводить в заданное место белковой молекулы олигосахарид любой сложности. На основе данной технологии получен ряд соединений, ставших основами разрабатываемых лекарственных средств.

Ключевые слова: Олигосахарид, рекомбинантный белок, сиаловые кислоты.

Получен ряд лекарственных средств на основе активных рекомбинантных белков стабилизированных синтетическими олигосахаридами, содержащими сиаловые кислоты. Наличие сиаловых кислот в составе гликозилированных белков определяет время их жизни в кровотоке. В организме человека существуют механизмы утилизации данных олигосахаридов, в отличие от конъюгатов на основе используемых в настоящее время полиэтиленгликолей, которые утилизироваться не могут, что и приводит к возникновению отрицательных побочных эффектов для пегелированных лекарственных препаратов.

Завершены доклинические исследования лекарственного средства для лечения остеопороза за счет увеличения минеральной плотности костной ткани на основе стабилизированного рекомбинантного аналога паратиреоидного гормона. Показана стабилизация структуры белковой молекулы после конъюгации с олигосахаридом, что приводит к значительному улучшению фармакокинетики. Для лекарственного средства показана биологическая активность и специфичность, сравнимая с нативным паратиреоидным гормоном. Лекарственное средство нетоксично и неиммуногенно.

Разработаны рекомбинантные интерфероны, стабилизированные олигосахаридами несущими сиаловые кислоты, ставшие основами разрабатываемых лекарственных средств.

УДК 615.275.4

GLYCOSYLATION *IN VITRO* AS A METHOD FOR STABILIZING THE BIOACTIVITY OF RECOMBINANT PROTEINS

Gasanov V.A., Chevalier A.F., Makarov E.A., Ivanov I.A.
National Research Center – Institute of Immunology Federal Medical-Biological Agency of Russia
115478, Moscow, Kashirskoye, 24, k2
e'mail: immune48@mail.ru

A technology for protein glycosylation *in vitro*, allows you to enter in the desired location of the protein molecule oligosaccharide of any complexity. Based on this technology, received a number of compounds that have become the basis of developed medicines.

Keywords: Oligosaccharide recombinant protein, sialic acid.

Received a number of drugs on the basis of active recombinant proteins stabilized synthetic oligosaccharides containing sialic acid. Presence of sialic acid in the glycosylation of proteins determines their lifetime in the bloodstream. In humans, there are mechanisms to discard these oligosaccharides, unlike the conjugates on the basis of the currently used polyethylene glycols which can be disposed of, which leads to the appearance of negative side effects for medicines pegeleted.

Completed preclinical studies of a medicament for the treatment of osteoporosis by increasing bone mineral density based on the stabilized recombinant analog of parathyroid hormone. Shows the structure of the protein molecule stabilization after conjugation to an oligosaccharide, which leads to a significant improvement in pharmacokinetics. Medicament shows specificity and biological activity comparable to native parathyroid hormone. The drug is non-toxic and non-immunogenic.

Developed recombinant interferons stabilized oligosaccharides carrying sialic acids, which became the basis of developed medicines.

УДК 616-006

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ БЕЛКА ТЕПЛОВОГО ШОКА 70 НА МОДЕЛЯХ ГЛИОБЛАСТОМ И МЕЛАНОМ

Ищенко А.М.[1], Симбирцев А.С.[1], Шевцов М.А.[2], Маргулис Б.А.[2]
[1]*Федеральное государственное унитарное предприятие «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия*
197110, Санкт-Петербург, ул. Пудожская, д.7, ischenko@hpb-spb.com
[2]*Институт цитологии, Санкт-Петербург, Россия*
194064, Санкт-Петербург, Тихорецкий проспект д. 4

Разработана технология получения рекомбинантного белка теплового шока 70 (БТШ70). Показаны его противоопухолевые эффекты на моделях глиобластом и меланом. Установлено, что экзогенный БТШ70 вытесняет собственный шаперон из опухолевых клеток, вызывая активацию врожденного и адоптивного иммунного ответа. Доклинические исследования показали безопасность рекомбинантного БТШ70.

Ключевые слова: шапероны; рекомбинантный БТШ70; иммуномодулирующая активность; цитотоксические лимфоциты; доклинические исследования.

Белок теплового шока 70 (БТШ70) относится к семейству шаперонов, функции которых достаточно хорошо известны. В течение последних лет в литературе появляется всё больше данных о том, что белки теплового шока способны оказывать иммуномодулирующее воздействие на клетки иммунной системы. Это свойство шаперонов представляет особый интерес, так как позволяет использовать их для создания вакцин и рассматривать отдельные белки этого семейства в качестве самостоятельных противоопухолевых лекарственных средств.

С целью исследования возможности использования БТШ70 в качестве противоопухолевого препарата с использованием методов генно-инженерной технологии был создан штамм-продуцент *Escherichia coli*, трансформированный векторной плазмидой pMSHsp70 и разработана технология получения очищенного белка (субстанции и лиофилизата – лекарственная форма).

В экспериментах *in vitro* и *in vivo* была изучена иммуномодулирующая и противоопухолевая активность полученных препаратов БТШ70. Было показано, что БТШ70 дозозависимо повышает чувствительность опухолевых клеток К562, С6 и В16 к лизису NK-клетками. При этом, было продемонстрировано, что экзогенный БТШ70 входит внутрь опухолевых клеток и стимулирует выход собственного шаперона, на поверхность клеток и в окружающую среду, увеличивая цитотоксическую активность лимфоцитов (CTL) и вызывая выход провоспалительных цитокинов из инфильтрированных клеток. Выходящий в среду БТШ70 в комплексе с опухолевыми антигенами может поступать в антиген-презентирующие клетки, которые в итоге представляют данные антигены на своей поверхности, стимулируя адоптивный иммунитет.

Однократное введение БТШ70 в опухоль С6, по данным динамической МРТ мозга, приводит к задержке опухолевого роста и увеличению продолжительности жизни животных на 7–8 дней, а непрерывное введение белка – на 8–21 день.

В рамках государственной программы ФАРМА 2020 проведены полноценные доклинические исследования полученного рекомбинантного БТШ70, которые показали отсутствие токсичности и безопасность его применения, что предполагает проведение клинических исследований.

STUDY OF ANTITUMOR ACTIVITIES OF HEAT SHOCK PROTEIN 70 IN ANIMAL MODELS OF GLIOMA AND MELANOMA TUMORS

Ischenko A.M.[1], **Simbirtsev A.S.**[1], **Shevtsov M.A.**[2], **Margulis B.A.**[2]
[1]*State Research Institute of Highly Pure Biopreparations, Saint-Petersburg, Russia*
197110, Saint-Petersburg, Pudozhskaya str., 7, ischenko@hpb-spb.com
[2]*Research Institute of Cytology, Saint-Petersburg, Russia*
194064, Saint-Petersburg, Tikhoretsky pr., 4

The technology of production of recombinant heat shock protein 70 (Hsp70) was developed. Anticancer effects of the Hsp70 were demonstrated in animal models of glioma and melanoma tumors. Preclinical trials of the recombinant Hsp70 preparation were conducted and demonstrated drug safety and lack of toxicity.

Keywords: chaperones, recombinant Hsp70, immunomodulating activity, cytotoxic T lymphocytes, preclinical trials

Heat shock protein 70 (Hsp70) is classified among the molecular chaperones, diverse properties of which have been well established. Recent studies of numerous groups demonstrated heat shock proteins to stimulate immune activities against a variety of viral and tumour antigens. These chap-

erone effects are of practical interest as permit the use of chaperones in anti-cancer vaccines and the consideration of some members of Hsp family as independent anticancer drugs.

To study the possibility of Hsp70 use as anticancer drug, we have developed the *E. coli* expression system and the pMSHsp70 vector plasmid to produce the recombinant Hsp70 protein. The protocols of the recombinant Hsp70 protein isolation and purification was developed to produce Hsp70 bulk substance and Hsp70 pharmaceutical form (lyophilized powder).

The immunostimulatory and anticancer effects of the Hsp70 preparations were evaluated in *in vitro* and *in vivo* studies. In these experiments we demonstrated that Hsp70 could facilitate K-562, B16 and C6 tumor cell lysis by NK-cells in a dose-response manner. In this case, we demonstrated that the exogenously Hsp70 could penetrate tumor cells and stimulate the intracellular Hsp70 movement to a cell surface and to extracellular matrix, thus enhancing the CTL-activities and giving rise to a release of proinflammatory cytokines from infiltrated cells. The tumor Hsp70 that moved into extracellular space in complex with tumor antigens can enter to antigen-presenting cells, which present the antigens on their surface thus stimulating the adoptive immune response.

We demonstrated (data of dynamic brain MRI) the recombinant Hsp70 to slow tumor cell progression and to increase experimental animal life duration by 7–8 days (single dose administration) and by 18–21 days (constant administration).

Full-valued preclinical trials of the Hsp70 preparation were conducted under "Pharma 2020 Program and demonstrated drug safety and lack of toxicity. Clinical trials of the drug are further expected.

УДК 616.89

ИММУНОДИАГНОСТИКА В ОЦЕНКЕ ОСТРОТЫ ПСИХОЗА ПРИ ЭНДОГЕННЫХ ПСИХИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ (ТЕХНОЛОГИЯ «НЕЙРО-ИММУНО-ТЕСТ»)

Клюшник Т.П., Зозуля С.А., Олейчик И.В., Борисова О.А.
Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр психического здоровья» РАМН, Москва, Россия
115522 Москва, Каширское шоссе, 34
e-mail: klushnik2004@mail.ru

На основе комплексного определения воспалительных маркеров (активность лейкоцитарной эластазы, антитрипсина) и уровня аутоантител к нейроантигенам S-100 и ОБМ разработана медицинская технология «Нейро-иммуно-тест» для мониторинга пациентов с эндогенными психическими заболеваниями и предикции качества и степени полноты ремиссии.

Ключевые слова: лейкоцитарная эластаза, антитрипсин, аутоантитела, эндогенные психические заболевания.

Вовлеченность иммунных реакций в развитие эндогенных психозов служит основой для использования молекулярных факторов, вовлеченных в эти реакции, в качестве маркеров психической патологии. Важнейшими критериями при их выборе являются возможность отражения клинических особенностей течения заболевания, а также предикционная способность. Выявлены иммунные показатели сыворотки крови, отвечающие этим критериям. Показано, что активность лейкоцитарной эластазы – протеазы, вовлеченной в воспаление, а также ее ингибитора – антитрипсина тесно взаимосвязаны с остротой психоза, оцененной по психометрическим шкалам; уровень аутоантител к нейроантигенам S-100 и ОБМ – с его тяжестью. Изменение этих показателей в крови пациентов опережает изменение психического состояния больных.

Комплексная оценка перечисленных иммунных показателей (биотехнология «Нейро-иммунотест») успешно апробирована для мониторинга пациентов с эндогенными психическими заболеваниями и предикции качества и степени полноты ремиссии.

UDC 616.89

IMMUNODIAGNOSTICS IN EVALUATION OF ACUTENESS OF PSYCHOSIS IN ENDOGENOUS MENTAL DISORDERS (TECHNOLOGY "NEURO-IMMUNE-TEST")

Klushnik T.P., Zozulya S.A., Oleychik I.V., Borisova O.A.
Federal state governmental institution "The Mental Health Research Centre" RAMS, Moscow, Russia
34, Kashirskoye shosse, Moscow, 115522
e-mail: klushnik2004@mail.ru

"Neuro-immune-test" medical technology was developed for monitoring of patients with endogenous mental disorders and prediction of quality and degree of completeness of remissions on the basis of complex determination of inflammatory markers (the activity of leukocyte elastase, antitrypsin) and the level of antibodies to neuroantigens such as S-100 and BMP.

Keywords: leukocyte elastase, antitrypsin, autoantibodies, endogenous mental disorders.

The involvement of immune reactions in the development of endogenous psychoses

serves as the basis for use of molecular factors, involved in these reactions as markers of psychic pathology. The most important criteria for their choice are the possibility of reflection of the clinical specificities of disease course as well as predictive ability. The immune indices of blood serum suitable for these criteria were revealed. It was shown that the activity of leukocyte elastase (protease involved in the inflammation) and its inhibitor antitrypsin are closely connected with the acuteness of psychosis evaluated according to psychometric scales. The level of autoantibodies to neuroantigens such as S-100b and BMP is associated with the severity of the mental disorder. The change in these indices is preceded by the change in their mental status. The complex evaluation of the above immune indices ("Neuro-immune-test" biotechnology) was successfully approbated for monitoring of patients with endogenous mental disorders and prediction of the quality and degree of completeness of remissions.

УДК 615.371

ИММУНОТРОПНЫЕ УГЛЕВОД-СОДЕРЖАЩИЕ ПРЕПАРАТЫ ИЗ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Львов В.Л., Апарин П.Г.
ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии МЗ РФ»
115478, Москва, Каширское шоссе, д. 24 стр.2.
e-mail: inst_immun@list.ru

Разработаны вакцины для профилактики брюшного тифа и шигеллеза Зоне, иммуностимулятор на основе фрагментов пептидогликана клеточной стенки грамотрицательных бактерий. Завершаются клинические испытания пятивалентной вакцины против шигеллеза Флекснера.

Ключевые слова: профилактика брюшного тифа и шигеллезов, иммуностимулятор.

В рамках программы ФАРМА 2020 и при сотрудничестве с рядом лабораторий Института иммунологии продолжаются начатые в девяностые годы работы по созданию профилактических и терапевтических иммунотропных препаратов на основе главных углеводсодержащих биополимеров грам-отрицательных микроорганизмов. К ним относятся капсульные полисахариды, липополисахариды и пептидогликан клеточной стенки грамотрицательных бактерий. Основные биотехнологические подходы были разработаны при создании вакцин против брюшного тифа и шигеллеза Зонне, которые широко применяются в РФ и за рубежом, причем аналогов антишигеллезной вакцины к настоящему моменту не зарегистрировано.

В последние годы основным направлением исследований является разработка вакцины против шигеллеза Флекснера. Впервые показана реальная возможность получения коммерческих количеств низко эндотоксичных липополисахаридов шигелл Флекснера, полученных в результате избирательной химической модификации липидного компонента липополисахарида. В настоящее время проводится 2 фаза клинических испытаний пятивалентной вакцины против шигеллеза Флекснера.

В сотрудничестве с лабораторией клинической иммунологии (проф. Пинегин Б.В.и д.м.н. Пащенков М.В.) проведены обширные исследования возможности использования препаратов на основе фрагментов пептидогликана клеточной стенки грамотрицательных микроорганизмов, которые играют важнейшую роль в поддержании иммунного статуса организма, в качестве иммуностимуляторов. Инъекционная форма этого препарата зарегистрирована в 2013 году, в настоящее время проводятся доклинические испытания его сублингвальной формы.

IMMUNOTROPIC CARBOHYDRATE CONTAINING PREPARATIONS FROM GRAM NEGATIVE MICROORGANISMS

L'vov V.L., Aparin P.G.
115578, Moscow, National Research Center Institute of Immunology Federal Medical-Biological Agency (FMBA of Russia)
115478, Moscow, Kashirskoe ave, 24-2.
e-mail: inst_immun@list.ru

The vaccines for the prevention of typhoid fever and shigellosis Sonne and immunostimulator based on peptidoglycan fragments of Gram-negative bacteria cell wall were developed. Clinical trials of pentavalent vaccine against shigellosis Flexneri are now conducted.

Keywords: prevention of typhoid and shigellosis, immunostimulator.

Within the PHARMA 2020 programme and in collaboration with several laboratories of the Institute of immunology the work started in the nineties continues on the creation of preventive and therapeutic immunotropic preparations based on the main carbohydrate-containing biopolymers of Gram negative microorganisms. These are capsular polysaccharides, lipopolysaccharides and peptidoglycan of Gram negative bacteria. The main biotechnological approaches have been developed while the development of vaccines against typhoid fever and shigellosis Sonne which are widely used in Russia and abroad. There are no analogues of antishigella vaccine to be registered to date.

In recent years the main research area is the development of a vaccine against Flexner shigellosis. For the first time the commercial quantities of low toxic *Shigella flexneri* lipopolysaccharides were obtained by selective chemical modification of the lipid component of lipopolysaccharide. Phase 2 clinical trials of pentavalent vaccine against Flexner shigellosis are now conducted.

Extensive research on the possible use of preparations based on fragments of peptidoglycan cell wall of Gram-negative microorganisms which play a critical role in maintaining immune status as immunostimulators are performed in collaboration with the laboratory of clinical immunology (Prof. Pinegin B.V.and Dr. Pashenkov M.V.). The injection form of this preparation is registered in 2013. Preclinical trials of sublingual form are currently performed.

УДК 615.275.4

ТЕРАПИЯ ВТОРИЧНЫХ ИММУНОДЕФИЦИТНЫХ СОСТОЯНИЙ РЕКОМБИНАНТНЫМ БЕЛКОМ, СОДЕРЖАЩИМ В СВОЕМ СОСТАВЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ МИЕЛОПЕПТИДОВ

Мартынов А.И., Степаненко Р.Н., Гасанов В.А., Шевалье А.Ф., Новикова Е.М.Козырева О.В., Петров Р.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение "Государственный научный центр "Институт иммунологии" Федерального медико-биологического агентства.
115 478, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24, корп. 2
e'mail: immune48@mail.ru

Разработан рекомбинантный белок, содержащий в своем составе последовательности миелопептидов, способный к гидролизу в организме человека по заданным сайтам, с высвобождением миелопептидов.

Ключевые слова: Миелопептид, гидролиз, протеазы, рекомбинантный белок.

Рекомбинантный белок на основе чередующихся миелопептидов МП-1 (FLGFPT), МП-2 (LVVYPW), МП-3 (LVCYPQ) и МП-4 (FRPRMTP), перемежающихся сайтами узнавания специфических протеаз, включенных в состав одной молекулы, способен к гидролизу в организме человека, с высвобождением данных миелопептидов. Слитная конструкция с сайтами узнавания протеазами моделирует природную ситуацию, когда пептиды являются продуктами протеиназного гидролиза белков, что дает возможность высвобождать активные пептиды постепенно, в количествах, достаточных для биологического эффекта без передозировки каждого компонента.

Сравнение рекомбинантного белка с препаратом Миелопид, основным фармакологическим активным компонентом которого являются миелопептиды, по ключевому фактору – активации антителообразования, показало, что рекомбинантный белок в 3 раза более эффективен. Установлено, что под влиянием синтезированного белка в лимфатических узлах, дренирующих место введения антигена, увеличивается относительное количество В-лимфоцитов.

В настоящее время на основании синтезированного рекомбинантного белка разрабатывается медицинский препарат для лечения вторичных иммунодефицитных состояний.

УДК 615.275.4

THERAPY SECONDARY IMMUNODEFICIENCY RECOMBINANT PROTEIN, CONTAINING IN ITS COMPOSITION SEQUENCE MYELOPEPTIDES

Martynov A.I., Stepanenko R.N., Gasanov V.A., Chevalier A.F., Novikova E.M.Kozyreva O.V., Petrov R.V.

National Research Center – Institute of Immunology Federal Medical-Biological Agency of Russia
115478, Moscow, Kashirskoye, 24, k2
e'mail: immune48@mail.ru

Developed a recombinant protein comprising in its composition sequence of myelopeptides capable of hydrolysis in the human body at predetermined sites to release these myelopeptides

Keywords: Myelopeptide, hydrolysis, protease, recombinant protein

Recombinant protein based on alternating myelopeptides MP-1 (FLGFPT), MP-2 (LVVYPW), MP-3 (LVCYPQ) and MP-4 (FRPRMTP), interspersed specific protease recognition sites that are included in one molecule, is capable of hydrolyzing in the human body, with the release of data myelopeptides. Fused structure with proteases recognition sites simulates the natural situation, when the peptides are the products of hydrolysis of protein proteinase, which allows gradually release the active peptides in quantities sufficient for the biological effect of each component, without overdosing.

Comparison with a preparation of recombinant protein Miyelopid main pharmacological active ingredient are myelopeptides, a key factor for – activating antibody demonstrated that the recombinant protein 3-fold more effective. It is established that under the influence of protein synthesized in the lymph nodes draining the site of antigen administration increases the relative amount of lymphocytes.

At present, on the basis of the synthesized recombinant protein developed a medicine for the treatment of secondary immunodeficiency states.

ЭНДОГЕННЫЕ АЛАРМИНЫ КАК ИСТОЧНИК НОВЫХ ИММУНОСТИМУЛИРУЮЩИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Пинегин Б.В., Пащенков М.В.Жмак М.Н[1]., Мартынов А.И.

Федеральное Государственное Бюджетное Учреждение «Государственный Научный Центр – Институт иммунологии» Федерального Медико-Биологического Агентства России, Москва, Россия.
115478, Москва. Каширское шоссе. д. 24. кор. 2.
bvpinegin@yandex.ru
[1]*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А. Овчинникова*
Российской академии наук. Москва. Россия.
117437. Москва. ул. Миклухо-Маклая. д. 16/10.

Ключевые слова: врождённый иммунитет, алармины, комплекс ДНК/пептид LL-37, NK-клетки, цитокины.

Врождённая иммунная система является первой линией защиты организма от различных факторов как экзогенной, так и эндогенной природы. К экзогенным факторам относятся вещества микробной природы, к эндогенным факторам относятся вещества, синтезирующиеся или выделяющиеся из клеток организма под влиянием различных активаторов и повреждающих

агентов. Эти факторы получили название сигналов тревоги или аларминов. К сигналам тревоги, в частности, относится ДНК, которая является мощным активатором всех клеток врождённого иммунитета. Но в норме эта ДНК мгновенно разрушается ДНКазой-I. Но при взаимодействии с катионным пептидом LL-37, присутствующим в норме в биологических жидкостях, приобретает устойчивость к нуклеазам и способность проникать практически во все клетки организма. Нами показано, что комплекс ДНК/пептид LL-37 является мощным активатором клеток врождённого иммунитета. Этот комплекс повышает цитотоксическую активность NK-клеток, индуцирует в моноцитах синтез ИФН типа I, в нейтрофилах – синтез цитокинов ИЛ-8 и ИЛ-17. Мы считаем, что комплекс ДНК/пептид LL-37 является кандидатом для создания нового эффективного иммуностимулирующего лекарственного средства для лечения и профилактики заболеваний, связанных с недостаточность иммунной системы, в частности для лечения онкологических заболеваний.

ENDOGENOUS ALARMINS AS A SOURCE OF NOVEL IMMUNOSTIMULATORY DRUGS

Pinegin B.V., Pashenkov M.V., Zhmak M.N., Martinov A.I.
National Research Center. Institute of immunology. Federal Medico-Biological Agency. Moscow. Russia. 24-2 Kashirskoye Shosse, Moscow 115478, Russia

Keywords: innate immunity, alarmin, complex of DNA/LL-37, NK-cells, cytokines.

The innate immune system is a first line of defence of the organism against diverse exogenous and endogenous factors. The exogenous factors include substances of microbial origin, the endogenous ones include substances that are synthesized and/or released from activated or damaged cells of the organism. These factors are termed ‘danger signals’ or ‘alarmins’. One of the danger signals is DNA, which is a potent activator of all cells of the innate immunity. In its ‘naked’ form, DNA is quickly destroyed by DNase I. However, when DNA is bound to a cationic peptide LL37, which is normally present in biological fluids, it becomes resistant to nucleases and, moreover, acquires a capability to penetrate virtually all cells of the body. We have shown that the DNA-LL37 complex is a potent activator of innate immune cells. The complex augments cytotoxic activity of NK cells, induces the production of type I interferons in monocytes and of IL-8 and IL-17 in neutrophils. We consider this complex as a candidate immunostimulatory drug to treat and prevent diseases associated with immune deficiencies, in particular oncological diseases.

ПОЛИМУРАМИЛ – НОВЫЙ ИММУНОСТИМУЛЯТОР МУРАМИЛПЕПТИДНОЙ ПРИРОДЫ

Пинегин Б.В., Пащенков М.В., Львов В.Л., Мартынов А.И.
Федеральное Государственное Бюджетное Учреждение «Государственный Научный Центр – Институт иммунологии» Федерального Медико-Биологического Агентства, Москва, Россия 115478, Москва, Каширское шоссе. д.24. кор.2. mvpashenkov@yandex.ru

Получен новый иммуностимулятор Полимурамил, представляющий собой смесь мурамилпептидов грамотрицательных бактерий. Показаны возможности применения препарата как активатора врожденного иммунитета для лечения и профилактики бактериальных и вирусных инфекций.

Ключевые слова: врождённый иммунитет, мурамилпептиды, NOD1, NOD2, бактериальные инфекции, вирусные инфекции.

Стимуляция системы врожденного иммунитета с помощью веществ микробного происхождения является перспективным способом профилактики и лечения инфекционных заболеваний человека. Получен новый мурамилпептидный иммуностимулятор – Полимурамил, который представляет собой смесь трех мурамилпептидов грамотрицательных бактерий: 1) N-ацетил-D-глюкозаминил-N-ацетил-D-мурамоил-L-аланил-D-изоглютамил-мезо-диаминопимелиновой кислоты (ГМтри), 2) N-ацетил-D-глюкозаминил-N-ацетил-D-мурамоил-L-аланил-D-изоглютамил-мезо-диаминопимелоил-D-аланина (ГМтетра) и 3) димера ГМтетра (диГМтетра). Компоненты Полимурамила активируют клетки врожденного иммунитета через рецепторы NOD1 и NOD2. Полимурамил индуцирует синтез провоспалительных цитокинов макрофагами и дендритными клетками человека; при введении мышам активирует компоненты антибактериальной защиты и резко повышает резистентность к летальной дозе St. aureus. По данным клинических испытаний, препарат достоверно улучшает результаты лечения гнойных инфекций. Кроме того, в доклинических исследованиях показано, что Полимурамил может быть эффективен и при профилактике вирусных инфекций. Таким образом, Полимурамил является иммуностимулятором противобактериальной и противовирусной направленности.

POLYMYRAMYL: A NEW MUROPEPTIDE IMMUNOSTIMULANT

Pinegin B.V., Pashenkov M.V., Lvov V.L., Martynov A.I.
Federal State Budget Institution "National Research Center Institute of Immunology" of the Federal Medical-Biological Agency, Moscow, Russia
Kashirskoe shosse 24, bldg 2, 115478 Moscow, Russia. mvpashenkov@yandex.ru

We describe a new immunostimulant, Polymuramyl, which represents a cocktail of muropeptides from gram-negative bacteria. We show the possibilities to use this drug to activate innate immunity in order to treat and prevent bacterial and viral infections.

Keywords: innate immunity, muropeptides, NOD1, NOD2, bacterial infections, viral infections.

Stimulation of the innate immune system using microbial compounds is a promising approach to the treatment and prevention of human infectious diseases. Polymuramyl is a new immunostimulatory drug derived from gram-negative peptidoglycan. The drug represents a mixture of three muropeptides: (1) N-acetyl-D-glucosaminyl-N-acetyl-D-muramoyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-meso-diaminopimelic acid (GMtri); (2) N-acetyl-D-glucosaminyl-N-acetyl-D-muramoyl-L-alanyl-D-isoglutaminyl-meso-diaminopimeloyl-D-alanin (GMtetra); and (3) a dimer of GMtetra (diGMtetra). The components of Polymuramyl activate innate immune cells via NOD1 and NOD2 receptors. Polymuramyl induces the production of pro-inflammatory cytokines by human macrophages and dendritic cells; when administered to mice, it activates anti-bacterial defence mechanisms and strongly increases resistance to the lethal dose of St. aureus. Clinical trials have shown that the drug significantly improves treatment outcome in purulent infections. Besides, pre-clinical studies indicate that Polymuramyl may also be useful in prevention of viral infections, such as influenza. In all, Polymuramyl is an immunostimulant directed against bacterial and viral infections.

УДК 615.2; 616.98

ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ИНТЕРЛЕЙКИНА-7 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ВТОРИЧНЫХ ИММУНОДЕФИЦИТОВ

Петров А.В., Ищенко А.М., Александров Г.В., Симбирцев А.С.
ФГУП «ГосНИИ ОЧБ» ФМБА России, С-Петербург, Россия
197110, С-Петербург, ул. Пудожская 7
e-mail: avpetrov@hpb-spb.com

Рекомбинантный интерлейкин-7 человека получен биотехнологическим путем из супернатанта штамма-продуцента на основе клеток CHO. Изучены физико-химические характеристики белка и его активность, создана лекарственная форма. На животных показано, что препарат стимулирует лимфопоэз в норме и в моделях лимфопении.

Ключевые слова: цитокин, интерлейкин-7, гликопротеин, лимфопения, иммунодефициты

Интерлейкин (ИЛ)-7 – цитокин, стимулирующий лимфопоэз и гомеостатическую пролиферацию лимфоцитов. В качестве лекарственного препарата ИЛ-7 может быть перспективен для лечения различных, прежде всего, Т-клеточных иммунодефицитов, включая CD4-лимфопению у пациентов с ВИЧ-инфекцией, лимфопению после лучевой, химиотерапии и трансплантации костного мозга, а также возрастных иммунодефицитов.

Разработана технология получения субстанции рекомбинантного ИЛ-7 человека, основанная на культивировании штамма-продуцента на основе клеток CHO в биореакторе и последующей хроматографической очистке целевого белка. Создана лекарственная форма в виде раствора для подкожного введения, разработаны методы контроля качества.

Полученный белок является обильно гликозилированным гликопротеином, стимулирует пролиферацию лимфоцитов *in vitro*. При курсовом введении интактным животным препарат вызывает дозозависимое увеличение количества лимфоцитов периферической крови, клеточности селезенки, расширение лимфоидного ростка в красном костном мозге, а в моделях лимфопении ускоряет восстановление числа лимфоцитов в периферической крови и лимфоидных органах. При исследовании фармакокинетики препарата на животных установлено, что биодоступность при подкожном введении составляет около 50%, время полувыведения – 6-10 часов. В настоящее время продолжается исследование токсичности разработанного препарата.

PRECLINICAL STUDY OF DRUG BASED ON RECOMBINANT INTERLEUKIN-7 FOR TREATMENT OF SECONDARY IMMUNE DEFICIENCIES

Petrov A.V., Ischenko A.M., Alexandrov G.V., Simbirtsev A.S.
FGUP «State Research Institure of Highly Pure Biopreparations»
FMBA of Russia, St-Petersburg, Russia
7 Pudozhskaya str. St-Petersburg, 197110
e-mail: avpetrov@hpb-spb.com

Recombinant interleukin-7 was manufactured using biotechnological methods from the supernatant of CHO producer cell line. Physico-shemical properties and biological activity of the protein was studied, drug formulation was developed. In animal studies the drug was shown to stimulate lymphopoiesis in healthy and lymphopenic mice.

Keywords: cytokine, interleukin-7, glycoprotein, lymphopenia, immune deficiency

Interleukin (IL)-7 is a cytokine that stimulates lymphopoiesis and homeostatic proliferation of lymphocytes. IL-7 is a promising drug for treatment of various, mainly T-cell immune deficiencies, including CD4-lymphopenia in HIV-infected patients, lymphopenia induced by radio-, chemotherapy or bone marrow transplantation, and age-related lymphopenia.

We developed technology for production of human recombinant IL-7 active substance based on cultivation of CHO producer cell line in a bioreactor and subsequent chromatografic purification of the target protein. Drug formulation as a solution for subcutaneous injection was developed as well as methods for quality control.

The IL-7 protein that we obtained is a highly glycosylated glycoprotein that stimulates proliferation of lymphocytes *in vitro*. After daily administration to intact mice a dose-dependent increase of peripheral blood lymphocytes counts, spleen cellularity and expansion of lymphocyte precursors in bone marrow was observed. In models of lymphopenia the drug increases recovery of lymphocytes in peripheral blood and lymphoid organs. Pharmacokinetic study in animals showed that bioavailability after subcutaneous administration is 50% with half-life about 6-10 hours. Toxicity studies of developed drug are under way.

УДК 571.27

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ АНТИГЕНСПЕЦИФИЧЕСКИХ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ Т-ЛИМФОЦИТОВ

Сенников С.В., Кузнецова М.С., Шевченко Ю.А., Облеухова И.А., Лопатникова Ю.А.
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия
630099, Новосибирск, ул. Ядринцевская, д.14
e-mail: sennikov_sv@mail.ru

Разработан протокол получения чистых популяций цитотоксических Т-лимфоцитов, специфичных к эпитопам опухолевого белка HER2/neu. Показан высокий уровень цитотоксического эффекта полученных клеток в отношении клеточной линии MCF-7, по сравнению с общей фракцией активированных мононуклеаров.

Ключевые слова: цитотоксические Т-лимфоциты, антигенспецифические клетки, дендритные клетки, HER2/neu, стимуляция противоопухолевого иммунного ответа

Цитотоксические Т-лимфоциты (ЦТЛ) считаются основными агентами в реализации противоопухолевого клеточного иммунитета. В современной иммунотерапииопухолевых заболеваний активно применяются подходы, основанные на презентации антигенов ЦТЛ дендритными клетками (ДК).Технология стрептамеров позволяет выделять антигенспецифические ЦТЛ с последующим эффективным удалением реагентов окрашивания, не влияя при этом на их жизнеспособность и функции. Целью данной работы стало получение популяций антигенспецифических ЦТЛ и оценка их цитотоксического эффекта по отношению к опухолевой линии MCF-7.Объектом исследования являются мононуклеарные клетки периферической крови (МНК ПК) условно здоровых доноров, позитивных по генотипу HLAA*02. В работе использованы методы культуральной работы с МНК ПК, магнитной трансфекции ДК, проточной цитометрии, окрашивания стрептамерами и магнитной сортировки HER2-специфических Т-клеток.В результате работы разработан протокол получения популяций HER2-специфичных ЦТЛ. Анализ цитотоксичности HER2-специфических Т-клеток показал высокий уровень цитотоксического эффекта в отношении клеточной линии MCF-7, по сравнению с цитотоксичностью общей фракции ак-

тивированных МНК (49,3% поврежденных опухолевых клеток против 22,3%). Таким образом, показано, что выделенная популяция HER2-специфических Т-лимфоцитов представляет собой популяцию клеток-эффекторов, способных эффективно элиминировать опухолевые клетки.

DEVELOPMENT OF TECHNOLOGY FOROBTAINING ANTIGEN-SPECIFIC CYTOTOXIC T LYMPHOCYTES

Sennikov S.V., Kuznetsova M.S., Shevchenko J.A., Obleukhova I.A., LopatnikovaJ.A.
Federal State Budgetary Scientific Institution "Research Institute of fundamental and clinical Immunology", Novosibirsk, Russian Federation
630099, Novosibirsk, Russian Federation, Yadrintsevskaya St. 14
e-mail: sennikov_sv@mail.ru

A protocol of obtaining pure populations of cytotoxic T lymphocytes specific for tumor protein HER2/neu epitopes has been developed. High cytotoxic effect of obtained cells against cell line MCF-7 has been showed compared to the total fraction of activated mononuclear cells.

Keywords: cytotoxic T lymphocytes, antigen-specific cells, dendritic cells, HER2/neu, stimulation of antitumor immune response

Cytotoxic T lymphocytes (CTLs) are considered to be the main agents in realization of antitumor cellular immunity. In modern cancer immunotherapy approaches based on antigen presentation to CTLs by dendritic cells (DCs) are actively applied. The streptamer technology allows isolation of antigen-specific T cells, followed by efficient removal of staining reagents, without affecting cells viability and function. The aim of the study was to obtain antigen-specific CTL populations and evaluate their cytotoxic activity towards tumor line MCF-7. The object of the study are peripheral blood mononuclear cells (PBMC) of healthy HLA A*02 positive donors. Methods of culturing PBMC, DCs magnetic transfection, flow cytometry, staining and magnetic isolationof HER2-specific T cells by streptamer technology were used. A protocol of obtaining HER2-specific CTLpopulations has been developed. Cytotoxicity analysis of HER2-specific T-cells showed a high level of cytotoxic effect against cell line MCF-7, as compared with that of the total fraction MNC activated (49.3% of damaged tumor cells versus 22.3%).Thus, it was shown that the isolated population of HER2-specific T-lymphocytes is an effector cells population which can effectively eliminate tumor cells.

УДК 57.083.3: 616-002.5

ЭКСПРЕССНАЯ СЕРОДИАГНОСТИКА ТУБЕРКУЛЕЗА НА ОСНОВЕ КОНЪЮГАТОВ НАНОЧАСТИЦ С АНТИГЕНОМ RV0934 MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

Сотников Д.В., Бызова Н.А., Жердев А.В., Дзантиев Б.Б.
Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия
119071, Москва, Ленинский проспект, д. 33, стр. 2
e-mail: sotnikov-d-i@mail.ru

Предложены две новые схемы иммунохроматографической серодиагностики туберкулеза с использованием конъюгата коллоидного золота со специфическим антигеном микобактерии. Показано преимущество данных схем по сравнению с традиционной схемой, в которой коллоидное золото конъюгировано с антивидовыми антителами или белками A/G.

Ключевые слова: туберкулез, серодиагностика, иммунохроматография, коллоидное золото.

Серодиагностика (выявление в крови обследуемого антител, специфичных к патогену) является эффективным подходом для диагностики инфекционных заболеваний. Иммунохроматографическая реализация серодиагностики представляется наиболее перспективной для массового внелабораторного скрининга.

Поскольку в иммунохроматографии анализ проводится в одну стадию без разделения компонентов, специфические антитела должны детектироваться в присутствии более чем 10-кратного избытка неспецифических. В традиционных схемах иммунохроматографической серодиагностики конкуренция специфических и неспецифических антител за связывание с мечеными антивидовыми антителами или белками A/G ограничивает аналитические возможности тест-систем. Нами предложены две схемы иммунохроматографической серодиагностики, в которых во взаимодействии с меченым реагентом участвуют только специфические антитела. В первой схеме один и тот же антиген сорбируется на поверхность коллоидного маркера и на мембрану тест-полоски (окрашенные комплексы в аналитической зоне формируются благодаря наличию у антител нескольких валентностей). Во второй схеме коллоидное золото конъюгируется с антигеном, а в аналитической зоне сорбируется стафилококковый белок А в концентрациях, достаточных для связывания всех иммуноглобулинов в пробе.

В соответствии с предложенными схемами изготовлены опытные образцы иммунохроматографических тест-систем с использованием рекомбинантного антигена 38 кДа *Mycobacterium tuberculosis* (Rv0934). Показана их эффективность для серодиагностики легочного туберкулеза, при этом степень выявления серопозитивных сывороток у обследуемых пациентов выше для второй схемы анализа. Продолжительность тестирования составляет 10 минут.

Исследования проведены при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант 13-04-90479_Укр_ф_а).

UDC 57.083.3: 616-002.5

EXPRESS SERODIAGNOSIS OF TUBERCULOSIS BASED ON CONJUGATES OF NANOPARTICLES WITH RV0934 ANTIGEN OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

Sotnikov D.V., Byzova N.A., Zherdev A.V., Dzantiev B.B.
A.N. Bach Institute of Biochemistry, Federal Research Centre «Fundamentals of Biotechnology» of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia
119071 Moscow, Leninsky prospect 33, bld. 2
e-mail: sotnikov-d-i@mail.ru

Two new schemes of immunochromatographic serodiagnosis of tuberculosis using conjugate of colloidal gold specific antigen of Mycobacterium are proposed. The advantage of these schemes has been demonstrated in comparison with the conventional scheme which colloidal gold is conjugated with antispecies antibody or proteins A/G.

Keywords: tuberculosis, serodiagnosis, immunochromatography, colloidal gold.

Serodiagnosis (detection of specific anti-pathogen antibodies in the blood) is an effective approach for the diagnosis of infectious diseases. Immunochromatographic realization of serodiagnosis is the most promising decision for mass non-laboratory screenings.

Since immunochromatographic assay is performed in one step without components separation, the specific antibodies should be detected in the presence of more than a 10-fold excess of non-specific

ones. For traditional schemes of immunochromatographic serodiagnosis the competition between specific and non-specific antibodies for binding with labelled antispecies antibodies or proteins A/G limits analytical possibilities of test-systems. We propose two schemes of immunochromatographic serodiagnosis, in which specific antibodies are involved into interactions with labelled reactants. In the first scheme, the same antigen is adsorbed on the surface of the colloidal marker and on membrane of the test-strip (coloured complexes in analytical zone of the strip are formed due to multiple valencies of antibodies). In the second scheme, the colloidal gold is conjugated with an antigen, whereas staphylococcal protein A is adsorbed in the analytical zone in concentrations sufficient to bind all the immunoglobulin in the tested sample.

Prototypes of immunochromatographic test systems were manufactured under the proposed schemes using recombinant antigen 38 kDa of *Mycobacterium tuberculosis* (Rv0934). Their efficiency for serodiagnosis of pulmonary tuberculosis has been demonstrated, revealing of seropositive sera is higher for the second scheme. The assay duration is 10 minutes.

The studies were supported by the Russian Foundation for Basic Research (grant 13-04-90479_ Ukr_f_a).

УДК 547.458.38

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ КОНЪЮГАТА СИНТЕТИЧЕСКОГО УГЛЕВОДНОГО ФРАГМЕНТА ОПУХОЛЕВОГО АНТИГЕНА-ГАНГЛИОЗИДА GM3 И БЕЛКА ГЕМОЦИАНИНА

Степаненко Р.Н.[1], **Козырева О.В.**[1], **Новикова Е.М.**[1], **ХатунцеваЕ.А.**[2], **Цветков Ю.Е.**[2], **Нифантьев Н.Э.**[2]

[1]*ГНЦ«Институт иммунологии» ФМБАРФ,*
115478 Москва, Каширское шоссе, 24/2.E_mail: rstepanenko2009@yandex.ru
[2]*Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН,*
Российская Федерация, 119991 Москва, Ленинский просп., 47.

На основе углеводных цепей онкоассоциированного ганглиозид GM3 синтезирован поливалентный углевод-белковый конъюгат— прототип онковакцины, содержащий~400 остатков 3’-(N-ацетил-α-нейраминил)лактозы (сиалил3’-лактозы), присоединенных к одному макромолекулярному комплексу белка гемоцианина. Изучен противоопухолевый эффект неогликоконъюгата на мышах линии C57Bl/6 с перевитой меланомой B16 в сочетании с цитостатиком-циклофосфамидом.

Ключевые слова: сиалил3’-лактоза, ганглиозид GM3, гемоцианин, онкоантиген, онковакцина, циклофосфамид, меланома B16.

Благодаря последним достижениям химии углеводов разработаны методы синтеза различных углеводных опухольассоциированных антигенов, позволяющие получать их в чистом виде в промышленных масштабах и использовать для конструирования противоопухолевых кандидатных вакцин. Антигенную специфичность опухолевого антигена -ганглиозида GM3 определяет его углеводный фрагмент 3’-(N-ацетил-α-нейраминил)лактоза, поэтому именно этот трисахаридный остаток был выбран в качестве иммуногенапри создании противоопухолевой вакцины. Для повышения иммуногенности олигосахаридовв составе вакцин широко применяются их неогликоконъюгаты с высокоиммуногенными белками. В данной работе мы использовали для этой цели гемоцианин—дыхательный пигмент гемолимфы моллюска *Megathuracrenulata*.

Вакцинация синтезированным конъюгатом перед трансплантацией опухолевых клеток и в период роста опухоли на фоне введения циклофосфамида привела к увеличению продолжительности жизни животных и замедлению роста первичного опухолевого узла. В группе мышей получавших сочетанную терапию вакциной и циклофосфамидом к 70 суткам после трансплантации опухолевых клеток в живых осталось 60% животных, в то время как в группе мышей получавших только цитостатик – 13%.

ANTITUMOR EFFECT OF THE CONJUGATE OF SYNTHETIC CARBOHYDRATE MOIETY OF THE TUMOR-ASSOCIATED GANGLIOSIDE GM3 WITH HEMOCYANIN

Stepanenko R.N.[1], Kozyreva O.V.[1], Novikova E.M.,[1], Khatuntseva E.A.[2], TsvetkovYu.E.[2], Nifant´ev N.E.[2]

[1]*National Research Center "Institute of Immunology", FMBA of Russia, 24/2, Kashirskoe sh., 115478 Moscow, Russian. E-mail: rstepanenko2009@yandex.ru*

[2]*N.D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences, 47 Leninskiiprosp., 119991 Moscow, Russian*

Based on the carbohydrate chains of tumor-associated ganglioside GM3, polyvalentcarbohydrate—protein conjugate was synthesized suitable as a prototype of a cancer vaccinecontaining ~400 3´-(N-acetyl-a-neuraminyl)lactose residues attached to one macromolecular complex of the hemocyanin. The integrated antitumor effect of neoglycoconjugatein combintion with the cytostatic cyclophosphamide was studied on the C57Bl/6 mice with transplanted melanoma B16 cells.

Keywords: 3´-sialyllactose, ganglioside GM3, hemocyanin, cancer vaccine, cyclophosphamide, melanoma B16

The latest achievements of carbohydrate chemistry resulted in the development of methods for the synthesis of various carbohydrate tumor-associated antigens, which can be prepared in a pure state on an industrial scale and are thus suitable for the design of candidate cancer vaccines. The antigen specificity of the ganglioside GM3is determined by its carbohydrate moiety, 3´-(Nacetylneuraminyl) lactose; therefore, this trisaccharide residue was chosen as an immunogen in the development of the cancer vaccine. In order to increase the immonogenicity of oligosaccharides contained in the vaccine, their neoglycoconjugates with highly immunogenic proteins are widely used. In this study, we employed hemocyanin, a respiratory pigment of the *Megathuracrenulata* keyhole limpet blood plasma, which had been successfully used as the carrier protein in various, including cancer, synthetic vaccines.

Vaccination of mice with syn the sized conjugate before transplantation of melanoma B16/F0 cells and during the tumor growth with simultaneous in troduction of cyclophosphamide results in a more than two foldincrease in the life span of test animals and the suppression of growth of the primary tumor nodule. In the group of mice treated with a cytostatic and vaccinated with the conjugate, 60% of animals survived by the 70th day, whereas in the group treated only with cyclophosphamide, only 13% of animals were alive by the same time.

ПОСТЕРЫ
POSTERS

УДК 571.27

ОТРАБОТКА СИСТЕМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ И ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

Филина А.Б., Власова А.В., Зубачева Д.О., Свитич О.А.
ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия
105064, Москва, Малый Казенный переулок, д.5
byzonka@yandex.ru

Получены результаты по оптимальным условиям проведения ПЦР-РВ для изучения экспрессии хемокинов и их рецепторов (CXCL12 и CXCR4), а также изучения полиморфных маркеров в генах интерлейкинов (IL-4 и IL-6).

Ключевые слова: полимеразная цепная реакция в реальном времени, хемоаттрактанты, интерлейкины, полиморфные маркеры, CXCL12, CXCR4, IL-4, IL-6 .

Введение. Для исследования патогенеза иммунопатологий необходима разработка ПЦР-РВ систем, позволяющих оценить генетику и экспрессию молекул врожденного иммунитета и их рецепторов, а также регуляторных РНК, которые участвуют в иммунологических реакциях. **Цель:** разработать системы ПЦР-РВ для оценки экспрессионных маркеров в генах CXCL12 и CCR4, а также генетических маркеров в генах IL-4 и IL-6. **Материалы и методы:** Из лейкоцитов периферической крови здоровых доноров выделяли ДНК (К-СОРБ, Синтол, РФ), а из макрофагов – РНК (РИБО-сорб, ИЛС, РФ). Для определения экспрессии использовали наборы «Набор реагентов ОТ-1» и «Набор реагентов для ПЦР-РВ в присутствии красителя SYBR Green I» (Синтол, РФ). Для определения полиморфных маркеров использовали «Набор реагентов для ПЦР-РВ» (Синтол, РФ). ПЦР-РВ проводились на амплификаторе PicoReal (Thermo Scientific). **Результаты:** В результате проведенной работы были получены следующие данные: оптимальная температура для ПЦР-РВ системы CXCL12 – 62°C, CCR4 – 60°C, концентрация $Mg2^{+}$ при этом – 75 μM, IL-4 – 62°C, концентрация $Mg2^{+}$ – 75 μM; IL-6 – 54°C и 75μM $Mg2^{+}$, соответственно. **Заключение:** отработанные системы могут применяться для определения экспрессионных и генетических маркеров, связанных с нарушением цитокиновой сети при патологических состояниях иммунной системы. В перспективе планируется создание систем для детекции регуляторных РНК, которые играют ключевую роль в клетках врожденного иммунитета.

CREATION OF REAL–TIME PCR SYSTEMS FOR INVESTIGATION OF THE PATHOLOGIA OF THE IMMUNE SYSTEM AND THE ONCOLOGIC PROCESS

Filina A.B., Vlasova A.V., Zubachova D.O., Svitich O.A.
I.Mechnikov Scientific Research Institute of Vaccines and Serums, Moscow, Russia
105064, Moscow, Small Kozenyi lane, 5
byzonka@yandex.ru

There were received the optimal conditions for RT-PCR to study the expression of chemokines and their receptors (CXCR12 and CXCR4) and polymorphic markers of the interleukins' genes (IL-4 and IL-6).

Keywords: polymerase chain reaction in real time, chemoattractants, interleukins, polymorphic markers CXCLL12, CXCR4, IL-4, IL-6.

Introduction. There is required elaboration of RT-PCR systems to study immunopathological pathogenesis which allow to estimate the genetic sequence and expression of molecules of innate immunity, their receptors and regulatory RNAs that are involved in immunological reactions. The aim: To develop a system for RT-PCR to assess expression markers in genes of CCR4 and CXCL12, as well as genetic markers in genes IL-4 and IL-6. Materials and Methods: From the peripheral blood leukocytes of healthy donors were isolated DNA (K-SORB, Syntol, Russia) and from macrophage RNA (Ribo-Sorb, ILS, Russia). To determine the expression there were used sets "Reagents RT-1" and "Reagent kit for RT-PCR in the presence of the dye SYBR Green I» (Syntol, Russia). To determine the polymorphic markers there were used "Reagent kit for RT-PCR" (Syntol, Russia). RT-PCR were performed on a thermocycler PicoReal (Thermo Scientific). **Results:** As a result of this work were obtained the following data: the optimum temperature for RT-PCR system CXCL12 – 62°C, CCR4 – 60°C, the concentration of $Mg2^{+}$ at the same time – 75 uM, IL-4 – 62°C, the concentration of $Mg2^{+}$ – 75 uM ; IL-6 – 54°C 75μM and $Mg2^{+}$, respectively. **Conclusion:** The elaborate system can be used to determine the expression and genetic markers associated with the violation of the cytokine network in pathological conditions of the immune system. It is planned to establish systems for the detection of regulatory RNAs that play a key role in the innate immune cells.

УДК 547.454

СИНТЕЗ ОЛИГОСАХАРИДНЫХ ФРАГМЕНТОВ МИКОАНТИГЕНОВ ДЛЯ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ГРИБКОВЫХ ПАТОГЕНОВ

Карелин А.А., Орехова М.В., Комарова Б.С., Цветков Ю.Е., Аргунов Д.А., Крылов В.Б., Гербст А.Г., Дмитренок А.С., Нифантьев Н.Э.
Федеральное бюджетное учреждение науки Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН
119991, Москва, Ленинский проспект, 47
Факс. +7(499)-1358784
e-mail: nen@ioc.ac.ru

В рамках данной работы были синтезированы олигосахаридные фрагменты полисахаридов клеточной стенки опасных микопатогенов. Гликоконъюгаты на основе полученных соединений были использованы для генерации антител и изучения их специфичности. Полученные данные направлены на разработку востребованной вакцины и диагностикума тяжелого заболевания – аспергиллёза.

Ключевые слова: углеводные антигены; полисахарид; антитела, вакцина, Aspergillusfumigatus.

Опасный микопатоген *A. fumigatus* (чёрная гниль) вызывает у больных с ослабленным иммунитетом тяжелейшее и практически неизлечимое заболевание – инвазивный аспергиллёз легких (ИАЛ). Критическим фактором для лечения ИАЛ является его своевременное обнаружение, что делает востребованным разработку чувствительного метода ранней диагностики, а также создание эффективного вакцинного препарата для превентивной терапии этого заболевания.

Углеводные антигены, представленные на поверхности клеточной стенки этого гриба, играют важную роль в иммунологических процессах. В рамках данной работы были получены олигосахаридные фрагменты двух типов полисахаридов: галактоманнана и α-(1→3)-глюкана [1], а также гликоконъюгаты на их основе. Проведенные иммунологические исследования позволили получить поликлональные антитела, специфичные к полисахаридам данных типов. Полученные данные направлены на разработку вакцины и диагностикума против заболеваний, вызываемых Aspergillusfumigatus.

Данная работа выполнена при поддержке гранта РНФ №14–23–00199 (НЭН).

[1] Komarova B.S., Orekhova M.V., Tsvetkov Y.E., Beau R., Aimanianda V., Latgé J.P., Nifantiev N.E.Synthesis of a Pentasaccharide and Neoglycoconjugates Related to Fungal α-(1→3)-Glucan and Their Use in the Generation of Antibodies to Trace Aspergillusfumigatus Cell Wall // Chem. Eur. J., 2015, Vol. 21. doi: 10.1002/chem.201404770.

THE SYNTHESIS OF OLIGOSACCHARIDE FRAGMENTS OF MYCOANTYGENES FOR THE IMMUNOLOGICAL STUDIES OF FUNGAL PATHOGENES

Karelin A.A., Orekhova M.V., Komarova B.S., Tsvetkov Y.E., Argunov D.A., Krylov V.B., Gerbst A.G., Dmitrenok A.S., Nifantiev N.E.
N.D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences
Leninsky prospect 47, 119991 Moscow
Fax.+7(499)-1358784
e-mail: nen@ioc.ac.ru

In the course of this work oligosaccharide fragments of cell wall polysaccharides from hazardous mycopathogenes were synthesized. Glycoconjugates based on the synthesized compounds were used to produce antibodies and to study their specificity. The obtained data are aimed towards the development of a highly demanded vaccine and a diagnostic system for the dangerous disease – aspergillosis.

Keywords: carbohydrate antigens; polysaccharide; antibody; vaccine; Aspergillusfumigatus.

The hazardous mycopathogen *A. fumigatus* is known to cause dangerous and practically incurable disease of invasive lung aspergillosis(ILA) in patients with low immunity. Its proper diagnosis is the critical factor for its treatment, which justifies the demands for the development of methods for early diagnostics and for finding of an effective vaccine to prevent the aspergillosis.

Carbohydrate antigens presented on the cell wall of these fungi play an important role in immunological processes. In the course of this work oligosaccharide fragments of two types of polysaccharides were synthesized: namely those of galactomannan and α-(1→3)-glucan [1] and corresponding glycoconjugates. The immunological studies allowed production of polyclonal antibodies with specificity towards these polysaccharides. The obtained data are aimed towards the development of a highly demanded vaccine and a diagnostic system for the diseases caused by Aspergillusfumigatus.

This work was supported by the grant from Russian Scientific Foundation №14–23–00199 (NEN).

[1] Komarova B.S., Orekhova M.V., Tsvetkov Y.E., Beau R., Aimanianda V., Latgé J.P., Nifantiev N.E.Synthesis of a Pentasaccharide and Neoglycoconjugates Related to Fungal α-(1→3)-Glucan and Their Use in the Generation of Antibodies to Trace Aspergillusfumigatus Cell Wall // Chem. Eur. J., 2015, Vol. 21. doi: 10.1002/chem.201404770.

УДК578.74

ИММУНОБИОАДЪЮВАНТЫ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА ДЛЯ ВАКЦИН ПРОТИВ ГРИППА НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ

Хасанова Л.М.[1,2], **Каширина О.С.**[2], **Черникова М.И.**[2], **Ильина А.В.**[1], **Варламов В.П.**[1], **Васильев Ю.М.**[2]

[1]*ФГБУН Центр «Биоинженерия» РАН, Москва, Россия*
117312, Москва, пр-т 60-летия Октября, д.7, корп.1
[2]*ФГБУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» РАМН, Москва, Россия*
105064, Москва, Малый Казенный пер., д.5а
e-mail: leysan.khasanova@gmail.com

Добавление адъювантов наоснове биополимера хитозана с различными физико-химическими характеристиками (ФХХ) к инактивированным вакцинам против гриппа неодинаково повышает иммуногенность и защитный эффект в отношении гомологичного штамма A/PuertoRico/8/1934 (H1N1). Иммунобиоадъюванты на основе хитозана могут стать основой для эффективных и безопасных вакцин против гриппа нового поколения.

Ключевые слова: вакцина, адъювант, грипп, хитозан

В настоящее время значительное вниманиев биомедицинских исследованиях уделяется природному катионному полисахариду хитозану. Хитозаны, полученные из различных источников (крабы, креветки, грибы и др.), могут отличаться по физико-химическим характеристикам (ФХХ), прежде всего степени дезацетилирования (СД)и молекулярной массе (ММ). Получены образцы хитозанов со следующими ММ и СД: 700 кДа, 85% (X1) и 10 кДа, 85%(X2), соответственно. На модели инактивированной цельновирионной эмбриональной вакцины на основе штаммаA/PuertoRico/8/1934 (H1N1)изучены их адъювантные свойства. Добавление X1 иX2 к вакцине повышает титры антител против гомологичного штамма (иммуногенность)в 8 и 5 раз, соответственно (в сравнении с вакциной без адъюванта). Добавление X1к вакцине в ряде случаев исключало репродукцию в легких дикого вируса после инфекции иммунизированных мышей (защитный эффект), тогда как добавлениеX2 приводило к существенному снижению титров выделяемого из легких вируса в сравнении с контрольными группами. Таким образом, хитозаны с различными ФХХ проявляют неодинаковую адъювантную активность по иммуногенности и защитному эффекту. Иммунобиоадъюванты на основе хитозана могут стать основой для эффективных и безопасных вакцин против гриппа нового поколения.

UDC 578.74

CHITOSAN-BASED IMMUNOBIOADJUVANTS FOR NOVEL VACCINES AGAINST INFLUENZA

Khasanova L.M[1,2], **Kashirina O.S.**[2], **Chernikova M.I.**[2], **Il'ina A.V.**[1], **Varlamov V.P.**[1], **Vasiliev Y.M.**[2]
[1]*Centre "Bioengineering", Moscow, Russian Federation*
117312, Moscow, 60-let. Oktyabrya av., 7, bld 1
[2]*Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation*
105064, Moscow, M.Kazeny l., 5a
e-mail: leysan.khasanova@gmail.com

Addition of adjuvants based on biopolymer chitosan with different physical-chemical characteristics (PCC) to inactivated vaccines against influenza increased immunogenicity and protective effect against the homologous A/PuertoRico/8/1934 (H1N1) strain in varying patterns. Chitosan-based immunobioadjuvants could become the platform for next generation effective and safe influenza vaccines.

Keywords: vaccine, adjuvant, influenza, chitosan

A natural cationic polysaccharide chitosan is currently being actively investigated in biomedical studies. Chitosans derived from various sources(crabs, shrimps, fungi etc.) may differ byphysical and chemical characteristics(PCC), especially deacetylation degree(DD) and molecular mass (MM). Chitosan samples with the following MM and DD: 700 kDa, 85% (X1) and 10 kDa, 85% (X2), respectively, were produced, and their adjuvant properties were studied. An inactivated whole-virion embryonal vaccine based on the A/PuertoRico/8/1934 (H1N1) strain was used as a model. The addition of X1and X2 to the vaccine increased antibody titers against the homologous strain (immunogenicity) by 8 and 5 times, respectively (compared with the unadjuvanted vaccine). The addition of X1to the vaccine in several cases completely prevented reproduction of the wild-type strain in lungs of immunized mice (protective effect), whereas the addition of X2 resulted in a significant decrease of thelung-isolated virus titers compared with control groups. Chitosans with different PCC show adjuvant activity by immunogenicity and protective effect in varying patterns, and chitosan-based immunobioadjuvants could become the platform for next generation effective and safe influenza vaccines.

УДК 547.454

СТРУКТУРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДИГЕТЕРОГЛИКАНА ИЗ БАКТЕРИЙ *ENTEROCOCCUS*

Крылов В.Б., Гербст А.Г., Дмитренок А.С., Шашков А.С., Нифантьев Н.Э
Федеральное бюджетное учреждение науки Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН
119991, Москва, Ленинский проспект, 47
Факс. +7(499)-1358784
e-mail: nen@ioc.ac.ru

С использованием комплекса компьютерных и спектральных методов было установлено строение нового углеводного антигена из бактерий рода Enterococcus. Полученные данные о структуре полисахарида позволили осуществить направленный химический синтез его фраг-

ментов и изучить их иммунологические свойства, что создает теоретическую основу для разработки востребованного вакцинного препарата.

Ключевые слова: углеводные антигены; полисахарид; антитела, вакцина, конформационный анализ.

Род *Enterococcus* представляют собой третью по значимости группу грамположительных бактерий, ответственных за госпитальную смертность в развитых странах. Отсутствие эффективной антимикробной терапии при бактериемии, вызванной различными штаммами Enterococcus, делает исключительно актуальным поиск антигенов, способных вызывать специфический иммунный ответ и блокировать возможное заражение крови этими бактериями. Недавно из бактерии *E. faecalis* был выделен новый полисахаридный антиген – дигетерогликан, и показана перспективность его использования в качестве иммунологически активных компонентов вакцин и диагностикумов[1].

В рамках данной работы, с использованием химических, спектральных и компьютерных методов (конформационный анализ) были впервые установлены абсолютные конфигурации галактозного и лактильного остатков, входящих в состав дигетерогликана[2]. Это сделало возможным проведение направленного синтеза фрагментов данного полисахарида и исследование их взаимодействия с белками иммунной системы, в том числе с опсонизирующими антителами. Проведенное исследование создает необходимую теоретическую основу для создания востребованного антимикробного препарата.

Данная работа выполнена при поддержке гранта РНФ №14–23–00199 (НЭН).

[1] Theilacker C., Kaczyński Z., Kropec A., Sava I., Ye L., Bychowska A., HolstO., Huebner J. Serodiversity of opsonic antibodies against Enterococcus faecalis–glycans of the cell wall revisited// PLoSONE. 2011, Vol. 6.e17839.

[2] Krylov V.B., Gerbst A.G., Argunov D.A., Dmitrenok A.S., Shashkov A.S., Kaczynski Z., Huebner J., Holst O., Nifantiev N.E.Definitive structural assessment of enterococcal-diheteroglycan // Chem. Eur. J., 2015, Vol. 21.doi: 10.1002/chem.201405857.

STRUCTURAL CHARACTERIZATION OF A DIHETEROGLYCAN OF *ENTEROCOCCUS*

Krylov V.B., Gerbst A.G., Dmitrenok A.S., Shashkov A.S., Nifantiev N.E
N.D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences
Leninsky prospect 47, 119991 Moscow
Fax. +7(499)-1358784
e-mail: nen@ioc.ac.ru

Using combination of computer assisted and spectral methods the structure of a new antigen from Enterococcus has been identified. The obtained data about this polysaccharide allowed to perform synthesis of its fragments and to study their immunological properties. Thus the theoretical basis for the development of a vaccine has been formed.

Keywords: carbohydrate antigens; polysaccharide; antibody; vaccine; conformational analysis.

Bacteria of the gen *Enterococcus* form the third most important group of Gram-positive microorganisms responsible for nosocomial mortality in the developed countries. Lack of the efficient antimicrobial therapy against diseases caused by different strains of Enterococcus raises the need for search of antigens which would be able to provoke specific immune response and thus block possible sepsis. Recently a new polysaccharide antigentermed diheteroglycan was extracted from *E. faecalis*

and it was shown to be a promising subject to use as immunologically active component in vaccines and diagnostic systems [1].

In the present work a combination of chemical, spectral and computer assisted methods (conformational analysis) was employed to determine for the first time absolute configurations of galactose and lactic acid residues in the diheteroglycan. This made possible to synthesize fragments of this polysaccharide and to study their interactions with the immune system proteins including opsonizing antibodies. This study builds the necessary theoretical basis for the development of a highly demanded antimicrobial agent.

This work was supported by the grant from Russian Scientific Foundation №14–23–00199 (NEN).

[1] Theilacker C., Kaczyński Z., Kropec A., Sava I., Ye L., Bychowska A., HolstO., Huebner J. Serodiversity of opsonic antibodies against Enterococcus faecalis–glycans of the cell wall revisited// PLoSONE. 2011, Vol. 6.e17839.

[2] Krylov V.B., Gerbst A.G., Argunov D.A., Dmitrenok A.S., Shashkov A.S., Kaczynski Z., Huebner J., Holst O., Nifantiev N.E.Definitive structural assessment of enterococcal-diheteroglycan // Chem. Eur. J., 2015, Vol. 21.doi: 10.1002/chem.201405857.

УДК 577.2

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА CRM197 ДЛЯ СОЗДАНИЯ КОНЬЮГИРОВАННЫХ ВАКЦИН

Лисицкая Л.А.[1,2], **Козырь А.В.**[1], **Колесников А.В.**[1], **Шемякин И.Г.**[1]

[1]*ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск, Московская область, РФ, e-mail: lislidiya@gmail.com.*

[2]*Пущинский государственный естественно-научный институт РАН, Пущино, РФ.*

Нами были получены синтетический ген и продуцент CRM197, обеспечивающие продукцию токсоида в количестве до 1 г с литра экспрессионной культуры без ферментации, и разработан метод очистки белка из нерастворимой фракции клеточного лизата, включающий этапы металлхелатной, анионообменной и гель-фильтрационной хроматографии и процедуры рефолдинга.

Ключевые слова: рекомбинантый белок CRM 197, конъюгированные вакцины.

Генетически инактивированный токсин *Corynebacterium diphtheriae*, содержащий аминокислотную замену G52E, (cross-reactive material 197, CRM197), широко применяется в качестве белкового носителя для получения конъюгированных вакцин, использующих полисахаридные антигены бактерий в качестве иммуногена. Для промышленного производства конъюгированных вакцин, необходим высокоэффективный продуцент рекомбинантного CRM197 в *E. coli*. Кодирующая последовательность CRM197 дикого типа не обеспечивает эффективную продукцию белка ввиду использования редких для *E. coli* кодонов и общей нестабильности АТ-богатой мРНК. Очистка рекомбинантного CRM197 сопряжена с необходимость рефолдинга белка из тел включения, и удаления пирогенных примесей, связанных с белком. Для обеспечения эффективной продукции и очистки CRM197 в *E. coli*, нами создана кодон-оптимизированная последовательность токсоида, обеспечивающая высокий уровень экспрессии белка и разработана методика очистки рекомбинантного продукта. Выход апирогенного очищенного CRM197 составляет до 300 мг/л бактериальной культуры с чистотой 98%, что в 4 раза выше, чем описано ранее. Сконструированный продуцент и разработанная технология очистки CRM197 будут использованы для создания конъюгированной брюшнотифозной вакцины нового поколения.

Работа выполнена при финансовой поддержке государства в лице Минобрнауки России в рамках Соглашения о субсидии от 27 июня 2014 года №14.604.21.0067.

UDC 577.2

EFIICIENT PRODUCTION, REFOLDING, AND PURIFICATION OF CODON-OPTIMIZED SOLUBLE RECOMBINANT CRM197SUITABLE AS CARRIER PROTEIN FOR GLYCOCONJUGATE VACCINES

Lisitskaya L.A.[1,2], **KozyrA.V.**[1], **Kolesnikov A.V.**[1], **Shemyakin I.G.**[1].

[1]*Federal State Institution of Science State research center for applied microbiology & biotechnology, Obolensk, Moscow region, Russia.*

[2]*Pushchino State Natural Science Institute of the Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia.*

e-mail: lislidiya@gmail.com.

We obtained a synthetic gene and CRM197 producer, which provide toxoid production in an amount of 1 g per liter of the expression culture without fermentation. Protein purification technique from the insoluble fraction of the cell lysate was developed, it comprises the steps of metal chelate, anion exchange and gel filtration chromatography and refolding procedures.

Keywords: recombinant protein CRM 197, conjugate vaccine.

Genetically inactivated toxin of *Corynebacterium diphtheriae*, containing amino acid substitution G52E (cross-reactive material 197, CRM197) is widely used as protein carrier for synthesis of glycoconjugate vaccines, exploiting immunogenic properties of bacterial polysaccharide antigens. Industrial-scale production of conjugate vaccines requires development of *E. coli* strain producing gram/l quantities of recombinant CRM197 under fed-batch conditions. Wild-type coding sequence for CRM197 is unsuitable for overproduction due to presence of codons rarely used in *E. coli*, and instability of AT-rich mRNA. Production and purification of CRM197 in *E. coli* necessitates refolding of the protein from inclusion bodies and pyrogen removal. We have therefore designed codon-optimized toxoid sequence, which provides a high level protein expression, and developed purification and refolding scheme yielding up to 300 mg of 98% pure soluble apyrogenic CRM197 per liter of shake flask bacterial culture. Thus, about 4 times higher yield of recombinant CRM197 was achieved comparing to the previous data. Resulting *E. coli* strain overproducing CRM197 will be used for large-scale production of protein carrier enhancing immunogenicity of new conjugate polysaccharide typhoid vaccine.

This work was financially supported by the state on behalf of the Ministry of education and science of the Russian Federation according to the Agreement on subsidies from June 27, 2014 № 14.604.21.0067.

УДК 577.112.083, 577.352.335

ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЛИПИД-ТРАНСПОРТИРУЮЩЕГО БЕЛКА УКРОПА

Мельникова Д.Н., Минеев К.С., Рычкова М.Е., Финкина Е.И., Богданов И.В., Арсеньев А.С., Овчинникова Т.В.

Федеральное агентство научных организаций (ФАНО России) Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН), Москва, Россия
117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10
e-mail: d_n_m_@mail.ru

Разработан биотехнологический способ получения рекомбинантного липид-транспортирующего белка укропа (Ag-LTP) и его ^{13}C,^{15}N-меченого аналога. Установлена пространственная структура Ag-LTP. Показана способность Ag-LTP ингибировать рост фитопатогенных грибов и связывать широкий спектр липидных молекул, включая жирные кислоты и жасмоновую кислоту. Продемонстрировано иммунологическое сходство Ag-LTP укропа с аллергенными LTP.

Ключевые слова: липид-транспортирующий белок; укроп; гетерологичная экспрессия; перекрестно реагирующие аллергены

К классу липид-транспортирующих белков (LTP) относится широкий спектр растительных аллергенов. Они являются пищевыми аллергенами фруктов, орехов, овощей и участвуют в развитии аллергических реакций на пыльцу и латекс. Достаточно высокая структурная гомология LTP делает их перекрестно реагирующими аллергенами. Исследование структуры и аллергенных свойств липид-транспортирующих белков растений и выявление аминокислотных остатков, входящих в состав их линейных и конформационных эпитопов, является необходимым этапом на пути создания новых диагностических тест-систем и аллерговакцин.

Из зеленых частей укропа огородного *Anethum graveolens* L. нами был выделен новый липид-транспортирующий белок, названный Ag-LTP. Были установлены его полная аминокислотная последовательность и структура кДНК. Для исследования структурно-функциональных и иммунологических свойств липид-транспортирующего белка укропа был разработан биотехнологический способ получения рекомбинантного Ag-LTP и его ^{13}C,^{15}N-меченого аналога. Экспрессия Ag-LTP и его меченного стабильными изотопами аналога осуществлялась в клетках штамма *E. coli* BL21(DE3), культивируемых в LB или на бедной среде, содержащей [^{15}N]-аммония хлорид и [^{13}C]-D-глюкозу в качестве единственных источников атомов азота и углерода, соответственно. Целевые рекомбинантные белки были получены с использованием аффинной хроматографии, реакции расщепления гибридных белков бромцианом и ОФ-ВЭЖХ.

Пространственная структура липид-транспортирующего белка укропа Ag-LTP в водном растворе была определена методом ЯМР-спектроскопии. Было показано, что структура Ag-LTP представлена четырьмя α-спиралями и содержит длинную неупорядоченную петлю в С-концевом участке молекулы. Неполярные аминокислотные остатки Ag-LTP формируют характерную для растительных LTP гидрофобную полость, являющуюся потенциальным центром связывания липидов.

Исследование антимикробной активности рекомбинантного Ag-LTP показало, что белок активен в отношении фитопатогенных грибов, но не влияет на рост бактериальных культур. Исследование способности рекомбинантного Ag-LTP связывать липидные молекулы выявило, что белок с приблизительно одинаковой эффективностью связывает предельные и непредель-

ные жирные кислоты с различной длиной углеводородной цепи, а также жасмоновую кислоту – растительный гормон, участвующий в регуляции роста растения.

Иммунологические свойства Ag-LTP укропа были исследованы с помощью методов иммуноблоттинга и иммуноферментного анализа при использовании поликлональных кроличьих антител к аллергену чечевицы Len c 3, принадлежащего к классу LTP. Результаты проведенного исследования выявили способность антител к Len c 3 связываться с Ag-LTP укропа и свидетельствовали о сходстве структурной организации и иммунологических свойств двух LTP.

Работа поддержана грантом Российского научного фонда (соглашение № 14-50-00131).

U.D.C. 577.112.083, 577.352.335

INVESTIGATION OF STRUCTURAL, FUNCTIONAL, AND IMMUNOLOGICAL PROPERTIES OF THE DILL LIPID TRANSFER PROTEIN

Melnikova D.N., Mineev K.S., Rychkova M.E., Finkina E.I., Bogdanov I.V., Arseniev A.S., Ovchinnikova T.V.

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

117997, Moscow, Miklukho-Maklaya str., 16/10,

e-mail: d_n_m_@mail.ru

A biotechnological method for production of the recombinant lipid transfer protein from the dill *Anethum graveolens* L. (Ag-LTP) and its ^{13}C,^{15}N-labeled analog was developed. The spatial structure of Ag-LTP was determined by heteronuclear NMR spectroscopy in aqueous solution. It was shown that the Ag-LTP was able to inhibit growth of phytopathogenic fungi and to bind a wide range of lipid molecules including fatty acids and jasmonic acid. It was found that immunological properties of Ag-LTP were similar to those of other allergenic LTP.

Keywords: lipid transfer protein; dill; heterologous expression; cross-reacting allergens

Many plant lipid transfer proteins (LTP) are allergens. They are involved in the development of allergic reactions to fruits, nuts, vegetables, pollen, and latex. High structural homology of LTP makes them cross-reactive allergens. Investigation of structure and allergenic properties and identification of amino acid residues which compose their linear and conformational epitopes is a necessary step towards the development of new diagnostic test systems and allergy vaccine.

A novel plant LTP, termed Ag-LTP, was isolated from leaves and stalks of the garden dill *Anethum graveolens* L. The complete amino acid sequence and cDNA structure of Ag-LTP were determined.

In order to determine tertiary structure and functional activity of the dill lipid transfer protein the recombinant Ag-LTP and its ^{13}C,^{15}N-labeled analog were obtained. Ag-LTP and its labeled analog were expressed in *E. coli* strain BL21(DE3). The cells were grown in LB or in a minimal medium, containing ^{15}N-labeled ammonium chloride and [U-$^{13}C6$]-labeled glucose as the only nitrogen and carbon sources, respectively. Downstream process of the recombinant proteins purification involved immobilized metal-chelate affinity chromatography (IMAC), CNBr cleavage of the fusion protein and reversed-phase HPLC.

The spatial structure of Ag-LTP was determined by heteronuclear NMR spectroscopy in aqueous solution. The polypeptide chain of Ag-LTP forms four α-helices and a long random coil C-terminal tail. Nonpolar amino acid residues form a hydrophobic cavity typically occurring in plant LTP. This cavity contains a potential binding site of lipids.

It was shown that recombinant Ag-LTP possessed an antimicrobial activity against phytopathogenic fungi, but did not affect the bacterial growth. Study of the ability of the recombinant Ag-LTP to bind lipid molecules revealed that the protein could associate both with saturated and unsaturated fatty acids of different chain length, as well as jasmonic acid – a plant hormone involved in plant growth regulation.

Immunological studies of the dill Ag-LTP were carried out by immunoblotting and ELISA with the use of polyclonal rabbit antibodies against lentil Len c 3 allergen belonging to the LTP family. An ability of the antibodies against Len c 3 to bind the dill Ag-LTP revealed similarity of the structural organization and immunological properties of both LTP.

The work is supported by the Russian Science Foundation (the agreement No. 14-50-00131).

УДК 602.68:57.083+557.175.324

МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТИРЕОТРОПНОГО ГОРМОНА ЧЕЛОВЕКА

Порываева В.А., Агафонова О.А., Марченко А.К., Соболева Н.В., Сорокина Н.Н., Вторушина И.А., Рукавишников М.Ю.
ЗАО «Вектор-Бест», п. Кольцово Новосибирской области, Россия
630559 Новосибирская обл., п. Кольцово, а/я 121
E. mail: poryvaeva@vector-best.ru

Создана и охарактеризована панель мышиных моноклональных антител (МоАт) к тиреотропному гормону человека (ТТГ). Выделены группы МоАт к β-субъединице ТТГ и к α-субъединице, общей для всех пептидных гормонов. Показана возможность построения «сэндвич»-варианта ИФА для выявления ТТГ с использованием МоАТ из нашей панели.

Ключевые слова: моноклональные антитела, тиреотропный гормон, диагностика.

Целью работы являлось разработка диагностических моноклональных антител (МоАТ) к тиреотропному гормону человека (ТТГ). Для иммунизации мышей линии BALB/c и скрининга позитивных гибридом использовали очищенный природный ТТГ производства LeeBio. Полученную нами коллекцию гибридомных антител для уточнения специфичности исследовали на реактивность с 3-мя другими пептидными гормонами: лютеинизирующим гормоном (ЛГ), фолликулостимулирующим гормоном (ФСГ) и хорионическим гонадотропным гормоном (ХГЧ) – и разделили на 2 группы. АТ первой группы реагировали только с ТТГ, но не с ЛГ, ФСГ и ХГЧ, что позволило заключить, что они специфичны к β-субъединице ТТГ. Ко второй группе отнесли АТ, которые реагировали со всеми пептидными гормонами и, следовательно, связывались с α-субъединицей, общей для всех 4-х пептидных гормонов. Критериями отбора для дальнейшей работы была специфичность антител к β-субъединице ТТГ с высоким индексом аффинности. Соответствующие гибридомы клонировали методом лимитирующих разведений и моноклональные антитела исследовали в качестве компонентов «сэндвич»-варианта ИФА для определения ТТГ. Методом конкурентного ИФА мы показали наличие 4-х неперекрывающихся антигенных детерминант (АГД) на β-субъединице ТТГ и 2-х – на α-субъединице. Мы обозначили их АГД-α (1-2) и АГД-β-ТТГ (1-4). Нами выявлено, что АГД-α-1 и АГД-β-ТТГ-1 расположения на молекуле ТТГ в непосредственной близости. Это следовало из того, что МКА, реагирующие с АГД- α-1 и МКА, специфичные к АГД β-ТТГ-1, конкурировали между собой за связывание с ТТГ. По такому же критерию установили близость расположения на молекуле ТТГ АГД-α-2 и АГД-β-ТТГ-2. Наличие МоАТ к разным неперекрывающимся АГД на молекуле ТТГ

позволило осуществить подбор пар МоАТ (одно из них –сорбированное в лунки планшетов, другое – в виде пероксидазногоконъюгата) для «сэндвич»-варианта ИФА при выявлении ТТГ.

UDC 602.68:57.083+557.175.324

MONOCLONAL ANTIBODIES FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF HUMAN THYROID STIMULATING HORMONE

Poryvaeva V.A., Agafonova O.A., Marchenko A.K., Soboleva N.V., Sorokina N.N., Vtorushina I.A., Rukavishnikov M.Yu.

JSC «Vector-Best», Koltsovo, Novosibirsk Region, Russia

POB 121, Koltsovo, Novosibirsk region, 630559

E. mail: poryvaeva@vector-best.ru

A panel of murinemonoclonal antibodies (MAbs) to humanthyroid stimulating hormone(TSH) was developed and characterized. Groups of MAbs to the β-subunit of TSH and to the α-subunit common to all peptide hormones were distinguished. The possibility of creating the sandwich ELISA variant for TSH detection using MAbs from our panel was demonstrated.

Keywords: monoclonal antibodies, thyroid stimulating hormone, diagnostics.

The goal of the work was to develop diagnostic monoclonal antibodies (MAbs) to human thyroid stimulating hormone (TSH). Purified natural TSH (LeeBio) was used for immunization of BALB/c mice and positive hybridoma screening. To determine the specificity of our collection of hybridoma antibodies, it was tested for reactivity with 3 other peptide hormones: luteinizing hormone (LH), follicle stimulating hormone (FSH) and human chorionic gonadotropin (hCG) followed by dividing into 2 groups. Abs of the first group reacted only with TSH but did not react with LH, FSH and hCG, which suggested their specificity for the β-subunit of TSH. Abs that reacted with all peptide hormones and, therefore, bound to the α-subunit common to all the four peptide hormones were classified under the second group. The specificity of antibodies for the β-subunit of TSH with high affinity index was the selection criteria for further research. The corresponding hybridomas were cloned by the limiting dilution method, and monoclonal antibodies were investigated as components of the sandwich ELISA variant for TSH determination. Using the competitive ELISA, we revealed the presence of 4 non-overlapping antigenic determinants on the β-subunit of TSH and 2 ones on the α-subunit. We designated them as AgD-α (1-2) and AgD-β-TSH (1-4). We found that the AgD-α-1 and the AgD-β-TSH-1 were located on the TSH molecule in close proximity to each other. This was due to the fact that MAbs reacting with the AgD-α-1 and MAbsspecific for the AgD-β-TSH-1 competed with each other for binding to TSH. Theproximity of the AgD-α-2 and the AgD-β-TSH-2 on the TSH molecule was determined according to the samecriteria. The availability of MAbs to different on-overlapping AgDon the TSH molecule allowed us to select pairs of MAbs(one of them sorbed in the plate wells, and the other as aperoxidase conjugate) for the sandwich ELISA variant while detecting TSH.

УДК 543.9

МОДИФИЦИРУЮЩИЕ ПОКРЫТИЯ ПЬЕЗОЭЛЕКТРИЧЕСКИХ ИММУНОСЕНСОРОВ НА ОСНОВЕ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ АНТИТЕЛ

Русанова Т.Ю.
Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия
410012, Саратов, ул. Астраханская, д. 83, корп. 1
e-mail: tatyanarys@yandex.ru

Получены модифицирующие покрытия пьезоэлектрических сенсоров на основе иммобилизованных антител. Для иммобилизации антител использовали их ковалентное связывание со слоями полиэлектролитов, нанесенных на поверхность сенсоров методом полиионного наслаивания. Полученные сенсоры использованы для определения микотоксинов.

Ключевые слова: пьезоэлектрические сенсоры, иммуноанализ, иммобилизация антител, микотоксины

В настоящее время актуальным является создание малогабаритных и недорогих аналитических устройств сенсорного типа для экспрессного определения химических соединений. Таким требованиям отвечают сенсоры на основе пьезокварцевых резонаторов (ПКР), модифицированных селективным чувствительным слоем, например, на основе антител. Аналитические характеристики полученного сенсора определяются как природой наносимого модификатора, так и методом получения чувствительного слоя, поэтому целью данной работы явилось сравнительное изучение методов иммобилизации антител на поверхность ПКР.

Для иммобилизации антител использовали их ковалентное связывание со слоями полиэлектролитов (ПЭ), нанесенных на поверхность сенсоров методом полиионного наслаивания. Конъюгирование антител с ПЭ изучали методом пьезокварцевого микровзвешивания (регистрируя изменение частоты ПКР при нанесении слоев ПЭ и антител, которое согласно уравнение Зауэрбрея пропорционально массе нанесенного вещества, установка Q-Sense E4). Апробировали следующие системы:

1) три бислоя хитозан/гиалуроновая кислота с последующим связыванием антител по карбоксигруппам гиалуроновой кислоты карбодиимидным методом;

2) три бислоя полистиролсульфонат/хитозан с последующим связыванием антител по аминогруппам хитозана с использованием глутарового альдегида;

3) три бислоя полиэтиленимин (PEI)/гиалуроновая кислота (также с последующим связыванием антител карбодиимидным методом).

Массы нанесенных слоев ПЭ и конъюгированных далее антител (использовали специфические антитела на охратоксин А, 0.01 мг/мл) представлены в таблице.

Таблица. Массы нанесенных слоев полиэлектролитов (ПЭ) и антител (Ab)

Система	Масса 3-х бислоев ПЭ, мкг	Масса Ab, мкг
Хитозан/гиалуроновая кислота	4.6 ± 2.2	
Полистиролсульфонат/хитозан	30 ± 9	0.9 ± 0.6
PEI/гиалуроновая кислота	6.0 ± 0.5	4.5 ± 1.2

Как видно из данных таблицы наибольшая воспроизводимость нанесения бислоев ПЭ и масса конъюгированных антител наблюдается для системы PEI/гиалуроновая кислота. Данное покрытие было использовано для получения иммуносенсора для определения охратоксина

А в водных средах. Преимуществом чувствительных слоев сенсоров на основе полиэлектролитов является возможность их удаления с поверхности сенсора, что обеспечивает его регенерацию и возможность многократного использования.

Работа поддержана Российским научным фондом (проект 14-13-00229).

УДК 543.9

MODIFYING COATINGS FOR PIEZOELECTRIC IMMUNOSENSORS BASED ON IMMOBILIZED ANTIBODIES

Rusanova T.Yu.
Saratov State University, Saratov, Russia
410012, Saratov, 83 Astrakhaskaya str., Bld. 1
E-mail: tatyanarys@yandex.ru

Modifying coatings for piezoelectric sensors base nom immobilized antibodies were obtained. Antibodies immobilization was carried out by covalent bindings with polyelectrolyte layers deposited on sensor surface by polyionic self-assembly. Prepared sensors were used for mycotoxin detection.

Keywords: piezoelectric sensors, immunoassay, antibody immobilization, mycotoxins.

The obtaining of small and inexpensive sensor devices for the rapid determination of chemical compounds is important task at the moment. Sensors based on quartz crystal microbalance (QCM) modified by the sensitive layer, e.g., antibodies, match these requirements. Analytical parameters of the sensor are defined as a modifier nature and method of preparation the sensitive layer. Therefore the aim of this work was a comparative study of antibodies immobilization methods on the surface of QCM.

For antibodies immobilization their covalent bindings with polyelectrolyte (PE) layers deposited on sensor surface by polyionic self-assembly was used. Antibody conjugation with PE was studied by QCM-method (frequency change of piezo quartz crystal, proportional of mass of deposited substances according Sauerbrey equation, was recorded by Q-Sense E4 equipment). The next systems were investigated:

1) three bilayers of chitosan/hyaluronic acid followed by antibody binding with carbodiimide method;

2) three bilayers of polystyrene sulfonate (PSS)/chitosan followed by antibody binding with glutaraldehyde method;

3) three bilayers of poly(ethylene imine) (PEI)/hyaluronic acid followed by antibody binding with carbodiimide method.

Masse of deposited PE layers and conjugated antibodies (Ab, anti-Ochratoxin A antibodies were used, 0.01 mg/ml) are presented in the Table.

Table. Masses of deposited polyelectrolyte (PE) and conjugated antibodies (Ab)

System	Mass of 3 PE bilayers, μg	Mass of Ab, μg
Chitosan / Hyaluronic acid	4.6 ± 2.2	
PEI / Chitosan	30 ± 9	0.9 ± 0.6
PEI / Hyaluronic acid	6.0 ± 0.5	4.5 ± 1.2

From the data in the Table we can see that highest reproducibility of PE layer deposition and antibody quantity are observed for PEI/Hyaluronic acid system. This coating was used for preparation

of immunosensor for Ochratoxin A detection in aqueous media. The advantages of sensitive layers based on polyelectrolytes are possibility for their remove for sensor surface allowing its regeneration and reusability.

The work was supported by Russian Scientific foundation (project 14-13-00229)

УДК 577.2

ПРОТЕОЛИТИЧЕСКАЯ ЭЛЮЦИЯ, КАК ЭФФЕКТИВНЫЙ МЕТОД ПОДАВЛЕНИЯ КО-СЕЛЕКЦИИ АПТАМЕРОВ

Сафарян С.М.[1,2], **Козырь А.В.**[1], **Колесников А.В.**[1], **Шемякин И.Г.**[1]

[1]*ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск, Московская область*

[2]*Пущинский государственный естественно-научный институт РАН, Пущино, РФ*

e-mail: safaryan.sofi@yandex.ru

Разработан эффективный метод отбора аптамеров, связывающих рекомбинантные белки, позволяющий сократить время отбора и повысить специфичность связывания. Получены высокоаффинные ДНК-аптамеры к легкой цепи нейротоксина C.botulinum и летальному фактору B. anthracis.

Ключевые слова: ДНК-аптамеры, SELEX, токсины

Одной из основных проблем селекции мишень-специфических аптамеров (SELEX, systematic evolution of ligands by exponential enrichment), является обеспечение высокой специфичности селекции и отсев молекул, связывающихся с иными, чем мишень, компонентами селекционной системы (в частности, с твёрдой фазой). Для обеспечения специфичности селекции, нами была разработана технология протеолитической элюции аптамеров, прочно связанных с мишенью. Для этого белковая мишень была введена в состав химерной рекомбинантной конструкции, в которой она отделена от полипептида, ответственного за аффинную иммобилизацию химеры на твердом носителе (например, пептид His6, пептид, биотинилируемый invivo, и т. п.) последовательностью, кодирующей специфический сайт протеолиза. Очищенный химерный белок иммобилизовали на аффинной твердой фазе, инкубировали с библиотекой ДНК-аптамеров, отмывали несвязывающиеся и низкоаффинные молекулы ДНК и проводили протеолитическую элюцию мишени вместе со связанными аптамерами, с использованием сайт-специфической протеазы (SUMO, летальный фактор сибирской язвы). Разработанная методика позволяет эффективно выделять мишень-специфические аптамеры всего за 2–5 раундов селекции избегая ко-селекции аптамеров, специфичных к поверхности твердой фазы. Описанная методология была использована для селекции высокоаффинных ДНК-аптамеров, специфичных к легкой цепи нейротоксина *C. botulinum*и летальному фактору*B. anthracis*.

Работа поддержана исследовательским грантом 14-15-00630 Российского Научного Фонда.

UDC 577.2

PROTEOLYTIC ELUTION, AS AN EFFECTIVE METHOD OF SUPPRESSING CO-SELECTION OF APTAMERS

Sofia M.Safaryan[1,2], Arina V.Kozyr[1], Alexander V.Kolesnikov[1], Igor G.Shemyakin[1]
[1].*State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russia*
[2].*Pushchino State Natural Science Institute of the Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia*
E-mail: safaryan.sofi@yandex.ru

We have developed highly efficient technique for selection of aptamers binding recombinant proteins. This technique allows to reduce time of selection and increase the binding specificity. We selected high affinity DNA aptamers to C. Botulinum neurotoxin light chain and *B. anthracis* lethal factor.

Keywords: DNA aptamers, SELEX, toxins

Key to successful implementation of aptamer selection is to separate target-specific and off-target aptamers (e.g. those bind to solid phase or other components of reaction mixture) as early as possible in the course of selection. One approachto ensure selectionspecificityis to physically separate target-specific and off-target components by proteolytic cleavage of the immobilized target with bound aptamer molecules attached to the solid phase. This permits elution of target-bound aptamersto proceed under mildest possible conditions. A fusion protein contained target protein and affinity bait (such as e. g. His6 or *in vivo* biotinylated peptide) separated by recognition sequence for site-specific protease (SUMO, anthrax LF) was prepared by overexpression of the cognate synthetic gene in *E. coli*. Purified fusion protein was immobilized on the solid phase via affinity tag, incubated with DNA aptamer library, following by washing out unbound library species. Target-bound aptamers were then eluted-proteolytically. Dissociation of target bound aptamers occurred during subsequent PCR amplification.

The developed method yields target-specific aptamers in just 2–5 rounds of selection while avoiding co-selection of any off-target library DNAs.

The described methodology was used for the selection of high affinity DNA aptamers specific for the light chain neurotoxin C.botulinum and lethal factor B.anthracis.

The work is supported by research grant 14-15-00630 from Russian Science Foundation.

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

УДК 578.832

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ИММУНОСТИМУЛИРУЮЩИХ НАНОКОМПЛЕКСОВ НА АКТИВНОСТЬ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА ПРОТИВ ВИРУСА ГРИППА НА МОДЕЛИ МЫШЕЙ

Алексюк П.Г., Зайцева И.А., Алексюк М.С., Молдаханов Е.С., Соколова Н.С., Богоявленский А.П., Березин В.Э.
РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК,
г. Алматы, Республика Казахстан.
050010, г. Алматы, ул. Богенбай батыра, 103
e-mail: pagenal@bk.ru

В результате эксперимента по иммунизации мышей субъединичной и инактивированной вакциной против вируса гриппа в сочетании с иммуностимулирующими нанокомплексами и без их использования, было установлено, что включение нанокомплексов в состав вакцинного препарата на 2 логарифма увеличивало активность синтеза IgGантител.

Ключевые слова: вакцина, нанокомплексы, вирус гриппа, антитела.

Изучение влияния состава вакцинных препаратов на их эффективность относится к числу наиболее актуальных проблем современной науки.

В данной работе проводились исследования активности продукции IgG антител при иммунизации мышей инактивированной и субъединичной вакцинами против вируса гриппа, в смеси с нанокомплексами, созданными на основе липидов и сапонинов, выделенных из растения *Equisetumarvense*

Вакцинные препараты вводили подкожно, доза антигенов по гемагглютинину составляла 10 мкг на мышь, доза иммуностимулирующих нанокомплексов по сапонинам – 15 мкг на мышь. Уровень IgG антител в сыворотках иммунизированных животных определяли методом ИФА через 3 недели после однократной иммунизации.

В результате проведённых исследований было установлено, что включение в состав различных типов вакцин против вируса гриппа иммуностимулирующих нанокомплексов, созданных на основе липидов и тритерпеновых сапонинов, выделенных из растения *Equisetumarvense*, позволяло увеличить активность синтеза вирусспецифических IgGантител на 2 логарифма по сравнению с иммунизацией теми же вакцинными препаратами, но без использования иммуностимулирующих нанокомплексов.

STUDY OF THE INFLUENCE OF NANOCOMPLEXES ON THE IMMUNOSTIMULATORY ACTIVITY OF HUMORAL IMMUNITY AGAINST INFLUENZA VIRUSES ON MOUSE MODELS

Alexyuk P.G., Zaitseva I.A., Alexyuk M.S., Moldahanov E.S., Sokolova N.S., Bogoyavlenskyi A.P., Berezin V.E.

RSE "Institute of Microbiology and Virology" CS MES RK, Almaty, Republic of Kazakhstan.
050010, Almaty, st. Bogenbaibatyr 103
e-mail: pagenal@bk.ru

A result of the experiment on immunization of mice with inactivated subunit influenza virus vaccine combined with immunostimulatory nanocomplexes and without using them it has been found that the inclusion of nano-complexes to the vaccine preparation increased activity of synthesis of IgG antibodies at 2 logarithm.

Keywords: vaccine, nanocomplexes, influenza virus, antibodies.

Study of the influence of vaccines composition on their effectiveness is one of the most urgent problems of modern science.

In this work, we conducted research on the activity of production of IgG antibodies by immunization of mice with inactivated subunit influenza virus vaccine in combination with nanocomplex created on lipids and saponins extracted from Equisetum arvenseplant.

The vaccine was injected subcutaneously, the dose of antigensonhaemagglutin in was 10 micrograms, the dose of immunostimulatorys aponinsnano complexes was 15 micrograms per mouse. IgG antibody levels in the serum of immunized animals was determined by immune-enzyme analysis in 3 weeks after a single immunization.

As a result of studies, it was found that the inclusion of any type of immunostimulatorynano complexes created on the basis of triterpenesaponins and lipids, extracted from a plant *Equisetum arvense* in to influenza virus vaccines make possible to increase the activity of the synthesis of virus-specific IgG antibodies at 2 logarithm compared to the same immunization vaccine preparations, but without of immunostimulatory nanocomplexes.

УДК 615.214

СРАВНЕНИЕ ПРОТИВОВИРУСНОГО ДЕЙСТВИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НУКЛЕИНОВОЙ ПРИРОДЫ

Квитко К.В.[1], Агеевец В.А.[1], Шабанова М.Е.[2], Баурина М.М.[2], Якубович Л.М.[2], Васильева Е.Ф.[3]

[1]*СПбГУ, Санкт-Петербург, Университетская наб., д.7-9*
[2]*РХТУ им. Д.И. Менделеева, Москва, ул. Героев Панфиловцев, 20, корп. 1; e-mail: baurinamm@mail.ru*
[3]*Научный центр психического здоровья РАМН, Москва*

Комплексный нуклеотидный препарат энкад [1] и аналог пуринового нуклеозида ацикловир испытаны на наличие противовирусной активности к группе крупных ДНК-содержащих ядерно-цитоплазматических вирусов на системе «альгофаг-водоросль».

Ключевые слова: альгофаг, водоросль, иммуномодулятор, энкад.

При изучении комплексного нуклеотидного препарата энкад было выявлено, что он обладает выраженными иммуномодулирующими свойствами. Так, применение энкада у больных с пигментным ретинитом, шизофренией приводило к нормализации клеточного иммунитета, в том числе к повышению количества и функциональной активности общей популяции Т-лимфоцитов и их субпопуляций: Т-лимфоцитов-супрессоров и Т-хелперов, а также к усилению цитотоксической активности лимфоцитов натуральных киллеров, стимулирующих развитие противоопухолевого и противовирусного иммунитета [2–4]. Известна также десенсибилизирующая способность энкада, выявленная при ряде нейроинфекционных и сосудистых заболеваниях головного мозга (обусловленная, по-видимому, изменением свойств клеточных мембран). Полный спектр защитного действия ряда лекарственных средств, применяемых в настоящее время полностью не известен. Исследование прямого противовирусного действия лекарственных препаратов ацикловир и энкад проведено на модельной системе «альгофаг-водоросль», которая представляла собой клетки зоохлорелл *Chlorella variabilis* (штамм NC64A) и специфичные лизирующие вирусы PBCV-типа, относящиеся к той же группе, что и вирусы герпеса. Эффекты, оказываемые на клетки хозяина вирусом и препаратом в различных сочетаниях, регистрировались по изменению замедленной флюоресценции (ЗФ), являющейся интегральным показателем метаболического состояния клеток. Противовирусный антигерпесный препарат, аналог гуанозина, ацикловир оказывал выраженное действие на динамику процесса разрушения клеток хозяина, что имело следствием задержку полной деградации клеток водорослей. Зарегистрирована прямо пропорциональная зависимость между дозой препарата и его антивирусным действием; ацикловир обладает ингибиторным действием на репликацию не только вируса герпеса, но на вирусы зоохлорелл [5].

Анализ показателей ЗФ выявил, что энкад также способен вмешиваться в жизненный цикл вируса; найдена концентрация препарата, при которой ингибировался процесс разрушения клеток зоохлорелл вирусом. Однако, не удалось выявить дозозависимый эффект действия энкада на противовирусную активность. Более того, использование ряда дозировок препарата имело следствием стимулирование процесса репликации самого вируса. Такое амбивалентное действие данного лекарственного средства объясняется, по-видимому, его сложным составом [6]. Из литературы известно, что при СПИДе вирус иммунодефицита человека поражает лимфоциты Т-хелперы, что приводит к выраженному, необратимому иммунодефициту Т-хелперной функции, который сопровождается развитием широкого спектра оппортунистических инфекций. Совокупность всех представленных данных дает основание предположить возможность более широкого использования энкада в будущем при ряде аутоиммунных и вирусных заболеваниях человека.

1. Патент РФ №2274658, 20.04.2006.
2. Константинова И.В.Проблемы космической иммунологии. Система иммунитета в экстремальных условиях. М: Наука, 1988.
3. Кушнер С.Г., Васильева Е.Ф., Каледа В.Г., др. Изменение функции лимфоцитов натуральных киллеров при шизофрении // Ж-л неврологии и психиатрии им.С.С. Корсакова. – 2002. – № 8. – С. 30–36.
4. Васильева Е.Ф., Каледа В.Г., Шабанова М.Е., Баурина М.М.Оптимизация психотропной терапии эндогенных психозов с использованием иммуномодулятора – панкреатического гидролизата дрожжевой РНК: М., – 2010. – С. 473–474.
5. Агеевец В.А., Квитко К.В.Изучение *Chlorella sp*. и их вирусов как модельных объектов для тестирования противовирусных препаратов. – М., 2010. – С. 449–450.

6. Агеевец В.А., Квитко К.В., Шабанова М.Е., Баурина М.М.Изучение влияния многокомпонентного состава лекарственного препарата нуклеотидов на антивирусную активность: М., – 2012. – С. 180-181.

UDC 623.19.47

COMPARISON OF ANTIVIRAL EFFECT OF DRUGES OF NUCLEIC NATURE

Kvitko K.V.[1], Ageevets V.A.[1], Shabanova M.E.[2], Baurina M.M.[2], Yakubovich L.M[2], Vasilyeva E.F[3]
[1]*SPbGU, Russia, Saint-Petersburg, Universitetskaya nab. 7-9*
[2]*MUCTR, Russia, Moscow, Geroyev Panfilovtsev St. 20, Bldg.1, e-mail: baurinamm@mail.ru*
[3]*Scientific Centre of Mental Health, RAMS, Moscow*

The complex nucleotide drug encad [1] and the purine nucleoside analogue acyclovir were tested for antiviral effect to the group of large DNA-containing nucleocytoplasmic viruses on the model system «algophage-alga».

Keywords: algophage, alga, immunomodulator, encad.

When studying the drug encad it was revealed that this drug has the pronounced immunomodulatory effect. Thus, application of the drug encad for patients with pigmented retinitis, schizophrenia resulted in normalization of cellular immunity, including to increasing the number and functional activity of the population of T lymphocytes and subpopulations: T-lymphocyte suppressor cells and T helper cells, and also to strengthening of cytotoxic activity of lymphocytes of natural killers stimulating development of antitumor and antiviral immunity [2–4]. The desensibilizing ability of encad was revealed at a number of neuroinfectious and vascular diseases of the brain induced by changes in cell membrane properties. The entire spectrum of protective effect of a number of the medicals applied appears to be unknown in full. The study of antiviral effects of drugs: acyclovir and encad, was carried out with the model system «algophage-alga» included cells of zoochlorella *Chlorella variabilis* (NC64A) and specific lytic PBCV-viruses closed to the group of Herpesviridae (ICTVdB Index of viruses). The effects produced by both the virus and the drugs in various combinations on the host cells were registered as a change of the falls of delayed fluorescence (DF), an integrated indicator of a metabolic status of cells. Antiviral anti-herpes virus drug, a guanosine analogue, acyclovir had the pronounced effect on dynamics of process of destruction of host cells that resulted in delayed complete destruction of infected Chlorella cells; directly proportional function between a dose of the drug and its antiviral effect being registered, and acyclovir was shown to have inhibitory effect on replication not only a herpes virus, but and zoochlorella viruses [5].

The analysis of the date of DF revealed that encad was also able to interfere in the viral life cycle; the concentration of encad at which the process of destruction of zoochlorella cells was inhibited by virus being found. However, unlike nucleoside medial acyclovir we did not manage to reveal correlation of antiviral effect of encad with its concentrations. Moreover, the use of a number of dosages of encad resulted in stimulation of process of viral replication; such ambivalent effect of this drug was apparently explained by its complex structure [6]. The human immunodeficiency virus is known from the literary date to affect lymphocyte helper T cells with the result that the acquired irreversible immunodeficiency of T helper cell function accompanied by a wide range of opportunistic infections develops. All presented data give the basis to assume possibility of wider use of encad for a number of autoimmune and viral diseases in the future.

1. Patent US RU№2274658, 20.04.2006.

2. Konstantinova I.V.Problems of space immunology. System of immunity under stress challenges. M: Science, 1988.

3. Kouchner S.G., Vasilyeva E.F., Kaleda V.G., etc. Change of function of lymphocytes of natural killers at schizophrenia//J. Neurology and Psychiatry of S.S. Korsakov. 2002. № 8. P. 30–36.

4. Vasilyeva E.F., Kaleda V.G., Shabanova M.E., Baurina M.M.Opnimization of psychotropic therapy of endogenous psychoses with use of immune modulator – preparation of pancreatic hydrolyzate of yeast RNA. – M., 2010. P. 473–474.

5. Ageevets V.A., Kvitko K.V.Studing of *Chlorella sp*. and their viruses *as model* system *to tes*t antiviral drugs. – M., 2010. P. 449–450.

6. Ageevets V.A., Kvitko K.V., Shabanova M.E., Baurina M.M.Multicomponent composition of the medical product of nucleotides and its antivirus activity. – M., 2012. P. 180-181.

УДК 57.083.3:621.039.75

КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ПРИ ОСТРОМ ГЕМОЛИТИКО-УРЕМИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ У ДЕТЕЙ

Бураковский А.И., Тишкевич М.Н., Байко С.В., Сукало А.В., Карпович М.В., Карпенко Т.А., Ястребова А.А.

ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси», Минск, Беларусь 220141, ул. Купревича, д. 5, корп. 2

e-mail: alesbur@yandex.ru

Комплексная оценка иммунологических маркеров при остром гемолитико-уремическом синдроме у детей позволит оптимизировать подходы к диагностике данной патологии, и, как следствие, снизить заболеваемость, степень тяжести и частоту неблагоприятных исходов.

Ключевые слова: гемолитико-уремический синдром, педиатрия, биомаркеры, диагностика

Гемолитико-уремический синдром (ГУС) на сегодняшний день является одной из актуальных медико-социальных проблем педиатрии. На это указывает постоянный рост заболеваемости, высокая вероятность летального исхода, хронизация патологии почек и отсутствие специфических методов диагностики и лечения. Общепризнанным является мнение о ведущей роли иммунной системы в развитии основных заболеваний человека, которые в большинстве своем являются иммуно-опосредованными, в том числе и ГУС. В последние годы появилась возможность обнаружения широкого спектра специфических биомаркеров в сыворотке крови и моче (прокальцитонин, NGAL. β2-микроглобулин, IL-18, альдостерон и пр.), что значительно расширило диагностический потенциал лабораторий при подозрении на наличие ГУС. Определение концентрационных зависимостей данных показателей позволит в самые ранние сроки диагностировать патологию, уровень повреждения и своевременно применить лечебные и реабилитационные мероприятия по предупреждению развития хронизации патологического процесса. С этой целью предлагается система мультимаркерной диагностики с параллельным выполнением тестов по нескольким маркерам, что позволит оптимизировать диагностику, и, как следствие, снизить заболеваемость, степень тяжести и частоту неблагоприятных исходов при ГУС.

UDC 57.083.3:621.039.75

INTEGRATED ASSESSMENT OF IMMUNOLOGICAL MARKERS AT ACUTE HEMOLYTIC-UREMIC SYNDROME IN CHILDREN

Burakouski A.I., Tishkevich M.N., Baiko S.V., Sukalo A.V., Karpovich M.V., Karpenko T.A., Yastrebova A.A.
Institute of Bioorganic Chemistry of NASB, Minsk, Belarus
220141, 5/2 Kuprevich Str.
e-mail: alesbur@yandex.ru

Integrated assessment of immunological markers at acute hemolytic-uremic syndrome in children will optimize approaches to the diagnosis of this disease and, as a consequence, reduce the incidence, severity and frequency of adverse outcomes.

Keywords: hemolytic-uremic syndrome, pediatrics, biomarkers, diagnostics

Today hemolytic-uremic syndrome (HUS) is one of the important medical and social problems of pediatrics. This is indicated by a constant increase in incidence, high probability of mortality, chronization of renal pathology and the lack of specific diagnostic and treatment methods. It is widely accepted the view of the leading role of immune system in the development of major human diseases, most of which are immune-mediated, including HUS. In recent years, the opportunity to detect a wide range of specific biomarkers in serum and urine (procalcitonin, NGAL. β2-microglobulin, IL-18, aldosterone, etc.) was appeared. This significantly expanded the diagnostic potential of laboratories with suspicion on presence of HUS. Determination of the concentration dependences of these indicators will allow to diagnose the pathology in the early period and the level of damage as well as to apply timely curative and rehabilitative measures for the prevention of chronic disease process development. For this purpose the system of combined diagnostic with parallel tests for several markers is offered that will optimize approaches to the diagnosis of this disease and, as a consequence, reduce the incidence, severity and frequency of adverse outcomes at HUS.

УДК 615.011.4

ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЛИПОПОЛИСАХАРИДА *SHIGELLA FLEXNERI 2A*

Лёдов В.А., Апарин П.Г.
Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства
115478, Москва, Каширское шоссе, д.24, корп.2
e-mail: vldov@mail.ru

Исследована пирогенность различных структурных вариантов липополисахаридов *Shigella flexneri* 2a: выявлены переходные закономерности отличающие низкопирогенные образцы, как от пирогенных, так и от апирогенных образцов.

Ключевые слова: липополисахарид, *Shigella flexneri* 2a, эндотоксичность, пирогенность.

Липополисахарид (ЛПС) является одной из наиболее гетерогенных по структуре биомолекул. Разнообразие структурных вариантов ЛПС *Shigella flexneri* 2a выражается в разном количестве остатков жирных кислот – ацилов в липиде А, наличием или отсутствием ацетильной группы на О-полисахаридной цепи (О-ПС) в положении 3,4 и в разной длине О-ПС цепи [1]. Исследуемые нами образцы, содержали ЛПС *S. flexneri* 2a с длинной О-ПС цепью, построенной

в основном из 10–15 тетрасахаридных блоков, с короткой О-ПС цепью – по большей частью 1–7 тетрасахаридных блоков и их смеси – от 1 до 15 тетрасахаридных блоков соответственно.

Эндотоксичность является интегральной иммунобиологической характеристикой молекулы ЛПС, определяющая одновременно его способность к индукции врожденного иммунитета так и токсические характеристики биомолекулы. Наиболее чувствительная оценка эндотоксичности ЛПС *in vivo* возможна в тесте пирогенности. Тест пирогенности на кроликах широко применяется для оценки эндотоксичности вакцин, прежде всего бактериальных и включен в целый ряд иммунологических и международных фармакопей.

Пирогенность определяли при внутривенном введении кроликам 25 нг каждого исследуемого образца на килограмм веса кролика, растворённых в 1 мл изотонического раствора.

Исследуемые образцы, по результатам пирогенной реакции кроликов на их внутривенное введение, можно разделить на 3 группы: пирогенные – $\sum\Delta t \geq 3°C$; низкопирогенные – $1{,}2°C < \sum\Delta t < 3°C$ и апирогенные – $\sum\Delta t \leq 1{,}2°C$. Апирогенные образцы оценивались в соответствии со стандартами фармакопеи РФ, где вещества признают апирогенными, если суммарное изменение температуры у 3 кроликов после инъекции не превышает 1,2°C и ни у одного из кроликов температура не повышается более, чем на 0,5°C [2].

Разделение опытных образцов на 3 группы позволило выявить переходные закономерности отличающие низкопирогенные образцы, как от пирогенных, так и от апирогенных образцов.

Апирогенные образцы могут содержать длинноцепные слабоацетилированные производные ЛПС *S. flexneri* 2a, так же как и низкопирогенные.

Таким образом, иммунобиологические характеристики ЛПС S flexneri 2a могут быть существенно модифицированы, что открывает возможность использования данных препаратов в качестве протективных иммуногенов.

Наиболее важным с нашей точки зрения представляется факт получения апирогенных образцов ЛПС *S. flexneri* 2a вследствие химической модификации, удовлетворяющим по этому параметру требования Фармакопеи РФ XII.

1. Kondakova A.N., Vinogradov E.V., Knirel Y.A., Shekht M.E., Markina A.A., L'vov V.L., Aparin P.G., Linder B. Structure of the oligosaccharide region (core) of the lipopolysaccharides of *Shigella flexneri* types 2a and 5b//Rus. J. Bioorganic Chem. 2010. Vol. 36. № 3. P. 396–399.

2. Государственная фармакопея РФ XII издание, часть 1. М.: Научный центр экспертизы средств медицинского применения, 2008. 704 с.

CORRELATION BETWEEN STRUCTURES OF LIPOPOLYSACCHARIDE AND THE PYROGENICITY, FOR EXAMPLE LIPOPOLYSACCHARIDE *SHIGELLA FLEXNERI 2A*

Ledov V.A., Aparin P.G.
115578, Moscow, National Research Center Institute of Immunology Federal Medical-Biological Agency (FMBA of Russia)
e-mail: vldov@mail.ru

Investigation of pyrogenicity of different structural variants of *Shigella flexneri* 2a lipopolysaccharides (LPS) revealed the transition regularity distinguishing low-pyrogenic samples of LPS from pyrogenic and apyrogenic LPS.

Keywords: lipopolysaccharide, *Shigella flexneri* 2a, endotoxicity, pyrogenicity.

Lipopolysaccharide (LPS) is one of the most heterogeneous structure of biomolecules. A variety of structural variants of *Shigella flexneri* 2a LPS is expressed in a different amount of fatty acid residues – acyl groups in lipid A, in the presence or absence of acetyl groups at the O-polysaccharide chain (O-PS) at a position 3,4 and in varying the length O-PS chain [1]. We investigated samples of *S. flexneri* 2a LPS with a long O-PS chain consisting of 10–15 tetrasaccharide units, short O-PS chain consisting of 1–7 tetrasaccharide units or mixtures thereof consisiting of 1–15 tetrasaccharide units.

Endotoxicity is an integral immunobiological feature of LPS molecule, which determines both its ability to induce innate immunity and toxic characteristics of this biomolecule. The pyrogenicity test is the most sensitive assessment of LPS endotoxicity *in vivo*. Pyrogenicity test on rabbits is widely used to evaluate of vaccines endotoxicity, especially bacterial ones, and included in a number of immunological and international pharmacopoeia.

Pyrogenicity was determined when administered intravenously to rabbits 25 ng of each sample per kilogram body weight of rabbit, dissolved in 1 ml an isotonic solution.

The test samples by the results of pyrogenic reaction in rabbits in response to its intravenous administration can be divided into three groups: pyrogenic – $\Sigma\Delta t \geq 3°C$; low-pyrogenic – $1.2°C < \Sigma\Delta t < 3°C$ and apyrogenic – $\Sigma\Delta t \leq 1,2°C$. Apyrogenic samples were evaluated in accordance with the standarts of the pharmacopoeia of the Russian Federation (RF) whereby substance is non-pyrogenic if the total change in temperature at the three rabbits after injection does not exceed 1,2°C and none of the rabbits' temperature does not rise by more than 0,5°C [2].

Separation of test samples into 3 groups revealed the transitional regularity distinguishing low-pyrogenic samples of LPS from pyrogenic and apyrogenic LPS.

Apyrogenic as well as low-pyrogenic samples can contain long-(O-PS)-chain weakly-acetylated derivatives of LPS *S. flexneri* 2a.

Thus immunobiological characteristics of *S. flexneri* 2a LPS can be substantially modified, allowing the use of these preparations as protective immunogens.

From our point of view the most important is the fact of obtaining the apyrogenic samples of *S. flexneri* 2a LPS due to chemical modification to meet the requirements for this parameter Pharmacopoeia RF XII.

УДК 577.112, 577.181, 577.27

АНТИМИКРОБНЫЕ ПЕПТИДЫ КАК МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ФАКТОРЫ СИСТЕМЫ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА

Овчинникова Т.В.

Федеральное агентство научных организаций (ФАНО России) Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН), Москва, Россия
117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10
e-mail: ovch@ibch.ru

Антимикробные пептиды (АМП) – эволюционно древние молекулярные факторы системы врожденного иммунитета, играющие ключевую роль в реализации защитных механизмов растений и животных. АМП выполняют как прямую эффекторную (антибиотическую, цитотоксическую), так и регуляторную (иммуномодулирующую) функции. Эффекторная функция АМП объясняется, как правило, их мембранотропными свойствами. Некоторые АМП способны проникать через мембрану и воздействовать на внутриклеточные мишени. Исследование механиз-

мов действия природных АМП показывает их роль в качестве эндогенных иммуномодуляторов и открывает путь к пониманию закономерностей функционирования системы врожденного иммунитета.

Ключевые слова: антимикробные пептиды, врожденный иммунитет.

Антимикробные пептиды (АМП) – эволюционно древние молекулярные факторы системы врожденного иммунитета, играющие ключевую роль в реализации защитных механизмов растений и животных. АМП выполняют как прямую эффекторную (антибиотическую, цитотоксическую), так и регуляторную (иммуномодулирующую) функции. Эффекторная функция АМП объясняется, как правило, их мембранотропными свойствами. Избирательность действия АМП может быть обусловлена различиями в липидном составе и трансмембранном потенциале мембран организма-хозяина и клеток-мишеней. Установлено специфичное взаимодействие некоторых пептидов с компонентами клеточных мембран патогенов. Некоторые АМП способны проникать через мембрану и воздействовать на внутриклеточные мишени. Наряду с антибиотической активностью АМП проявляют другие биологические свойства, в том числе стимулируют хемотаксис нейтрофилов, макрофагов, дендритных клеток и дегрануляцию тучных клеток; влияют на индукцию синтеза цитокинов, выброс хемокинов и гистамина; участвуют в регуляции регенерации тканей и ранозаживлении; увеличивают проницаемость сосудов и стимулируют ангиогенез; связывают и нейтрализуют липополисахарид и другие токсины; ингибируют АКТГ-опосредованный стероидогенез и МСГ-индуцированный синтез альдостерона в надпочечниках. Исследование механизмов действия природных АМП показывает их роль в качестве эндогенных иммуномодуляторов и открывает путь к пониманию закономерностей функционирования системы врожденного иммунитета. Комплексные исследования, проводимые в Учебно-научном центре ИБХ РАН, направлены на изучение механизмов антибиотического, противоопухолевого и иммуномодулирующего действия природных АМП и их аналогов. Объектами изучения являются АМП растительного и животного происхождения. Целью проводимых исследований является создание прототипов новых лекарственных средств на основе АМП и биотехнологической платформы для их получения.

Работа поддержана грантом Российского научного фонда (соглашение № 14-50-00131).

UDC 577.112, 577.181, 577.27

ANTIMICROBIAL PEPTIDES AS EFFECTOR MOLECULES OF INNATE IMMUNE SYSTEM

T.V.Ovchinnikova
M.M. Shemyakin & Yu.A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Miklukho-Maklaya str. 16/10, 117997 Moscow, Russia; ovch@ibch.ru

Antimicrobial peptides (AMP) – evolutionarily ancient effector molecules of innate immune system, playing a key role in protective mechanisms of plants and animals. AMP accomplish a direct effector (antibiotic, cytotoxic) and regulatory (immunomodulatory) functions. Effector function of AMP is explained, as a rule, by their membrane-destabilization properties. Selectivity of AMP may be related to differences in lipid composition of the membrane and transmembrane potential of host and target cells. Some AMP specifically interact with the components of cell membranes of pathogens. Other AMP can penetrate the membrane and act on intracellular targets. Molecular insight into mechanisms of action of natural AMP throws light on their role as endogenous immunomodulatory molecules and opens the way to better understanding of innate immune system.

Keywords: antimicrobial peptides, innate immunity

Antimicrobial peptides (AMP) – evolutionarily ancient effector molecules of innate immune system, playing a key role in protective mechanisms of plants and animals. AMP accomplish a direct effector (antibiotic, cytotoxic) and regulatory (immunomodulatory) functions. Effector function of AMP is explained, as a rule, by their membrane-destabilization properties. Selectivity of AMP may be related to differences in lipid composition of the membrane and transmembrane potential of host and target cells. Some AMP specifically interact with the components of cell membranes of pathogens. Other AMP can penetrate the membrane and act on intracellular targets. Along with antibiotic activity, AMP exhibit other biological properties, including stimulation of neutrophils, macrophages, and dendritic cells chemotaxis and mast cell degranulation; induction of cytokine synthesis and chemokines or histamine release; regulation of wound healing and tissue regeneration; increase of vascular permeability and promotion of angiogenesis; neutralization of LPS and other toxins; inhibition of ACTH-mediated steroidogenesis and MSG-induced synthesis of aldosterone in the adrenal glands. Molecular insight into mechanisms of action of natural AMP throws light on their role as endogenous immunomodulatory molecules and opens the way to better understanding of innate immune system. Comprehensive studies conducted in the Science-Educational Center of M.M.Shemyakin and Yu.A.Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, aimed at ekucidation of molecular mechanisms of antibiotic, cytotoxic, and immunomodulatory action of natural plant and animal AMP and their analogs. An aim of this study is the development of new drugs based on AMP and their biotechnology production.

The work is supported by the Russian Science Foundation (the agreement No. 14-50-00131).

УДК 615.074

НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ЭКСПРЕСС-АНАЛИЗУ МАРКЕРОВ БАКТЕРИАЛЬНОГО ВОСПАЛЕНИЯ

Серебренникова К.В.[1], **Самсонова Ж.В.**[1,2], **Осипов А.П.**[2]
[1]*Химический факультет, МГУ им. М.В.Ломоносова,*
119991 Москва, Ленинские горы, дом 1, строение 11
[2]*Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС»,*
119049 Москва, Ленинский проспект, 4
email: ksenijasereb@mail.ru

Разработан экспресс-метод определения прокальцитонина в кровина основе принципа латерального проточного иммуноанализа. Описана возможность использования квантовых точек в качестве метки с целью разработки систем мультианализа.

Ключевые слова: прокальцитонин; наночастицы золота; квантовые точки.

В настоящее время одной из актуальных проблем инфекционной диагностики является дискриминация процессов бактериального или вирусного заражения организма. Одним из новых перспективных маркеров бактериальных инфекций является сывороточный белокпрокальцитонин. В норме концентрация циркулирующего в крови человека прокальцитонина определяется на уровне 0,01 нг/мл, а при тяжелых бактериальных инфекциях она увеличивается до 20 и даже 200 нг/мл. Раннее и высокоспецифичное увеличение уровня прокальцитонина в ответ на системную воспалительную реакцию различного генеза и сепсис обеспечивает преимущество данного диагностического метода по сравнению с другими, такими, например, как определение

интерлейкинов. Традиционными методами анализа белков в сыворотке являются иммунохимические методы с использованием ферментных, флуоресцентных и других типов меток, однако данные методы трудоемки, требуют специального дорогостоящего оборудования и наличия квалифицированного персонала. На практике часто возникает необходимость проведения анализаво внелабораторных условиях. С этой целью нами былразработанэкспресс-метод определения прокальцитонина в кровина основе принципа латерального проточного иммуноанализа, основными преимуществами которого являются экспрессность ипростота в использовании.

В качестве метки применялись наночастицы коллоидного золота. В процессе работы были получены и охарактеризованы образцы наночастиц золота различных размеров, получены конъюгаты со специфическими моноклональными антителами против прокальцитонина и разработаны методики проведения анализа. Для сравнительной оценки полученных результатов по определению прокальцитонина в сыворотке и цельной крови использовали метод твердофазного иммуноферментного анализа.

Также в работе была изучена возможность использования квантовых точек в качестве меток для разработки систем латерального проточного иммуноанализа. Основным достоинством квантовых точек по сравнению с органическими флуорофорами является возможность управления цветом их флуоресценции путем изменения размера нанокристалла при использовании источника света с одной длиной возбуждения. Были синтезированы образцы квантовых точек с разным размером ядра и внешней оболочки, охарактеризованы их спектральные и флуоресцентные свойства. Изучены различные методы модификации поверхности квантовых точек для получения ковалентных конъюгатов с антителами различной специфичности для разработки систем мультианализа.

NEW APPROACHES TO AN EXPRESSANALYSIS OF THE MARKERS OF BACTERIAL INFLAMMATION

Serebrennikova K.V.[1], **Samsonova J.V.**[1,2], **Osipov A.P.**[2]
[1]*Chemistry Department, Moscow State University,*
119991 Moscow, GSP-1,11 Leninskiye Gory
[2]*National University of Science and Technology "MISIS",*
119049, Moscow, Leninskiyprospekt 4
email: ksenijasereb@mail.ru

The expressmethod for the procalcitonin detection in blood, which is based on the lateral flow immunoassay, was developed. An opportunity of the application of quantum dots as labels to develop multianalysis systems was described.

Keywords: procalcitonin; gold nanoparticles; quantum dots.

The discrimination of processes of bacterial or viralinfection of the body is currently one of the actual problems of diagnostics of infectious diseases. Serum protein, procalcitonin is one of the new promising markers of bacterial infections. The concentration of procalcitonin circulating in the blood of healthy individuals is determined at a level of0,01 ng/ml, but in the case of severe bacterial infections it increases up to 20 ng/ml or even 200 ng/ml. An early and highly specific increase in the procalcitonin level in response to a systemic inflammatory reaction of various genesis and sepsis diagnos is provides an advantage of this diagnostic method compared too thers, such as, for example, the detection of interleukins. The traditional methods of protein analysis in serum are immunochemical

methods with the use of enzymatic, fluorescent and other types of labels. However, such methods are laborious, and require the use of a special expensive equipment and availability of skilled staff. It is often necessary to carry out analyses in field conditions in practice. For this purpose, the express-method for the procalcitonin detection in blood, which is based on the lateral flow immunoassay, was developed. The main advantages of this method are rapidity and ease of use.

The nanoparticles of colloidal gold were used as labels. The samples of gold nanoparticles of different sizes were obtained and characterized during this study. The conjugates with specific monoclonal antibodies against procalcitonin were obtained, and new methods of analysis were developed. To estimate comparatively the obtained results on the procalcitonin detection in serum and hole blood the ELISA method was applied.

In addition, an opportunity of the application of quantum dots as labels for the lateral flow immunoassay system development was studied. The main advantage of quantum dots compared to organic fluorophores is anability to control the color of their fluorescence by changing the size of nanocrystal when using a light source with a definite length of excitation. The samples of quantum dots with various core sizes and external shells were synthesized; their spectral and fluorescence properties were characterized. The different methods of the quantum dots surface modification were studied to obtain covalent conjugates with antibodies of various specificity for the development of multianalysis systems.

УДК 57.083.3:616-006

ИММУНОФЕРМЕНТНЫЙ АНАЛИЗ В ОПРЕДЕЛЕНИИ HER2 СТАТУСА ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Ястребова А.А., Бураковский А.И., Карпенко Т.А., Тишкевич М.Н., Карпович М.В., Прохорова В.И., Красный С.А., Шишло Л.М.

ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси»,
Минск, Беларусь 220141, ул. Купревича 5/2
e-mail: aliraflame@yandex.ru

Разработка иммуноферментного подхода в определении HER2 статуса при раке молочной железы предоставит точный количественный критерий степени выраженности патологического процесса и эффективности проводимой терапии.

Ключевые слова: HER2, рак молочной железы, ИФА.

В доклинических и клинических исследованиях показано, что гиперэкспрессия HER2 имеет ключевое значение в онкотрансформации и онкогенезе ряда заболеваний, в частности, рака молочной железы (РМЖ), а также коррелирует с рядом неблагоприятных факторов прогноза, таких как размер опухоли, степень злокачественности и лекарственная резистентность к цитотоксическим агентам. Это обосновывает целесообразность создание новых методов тестирования данного аналита. В качестве альтернативы используемым на сегодняшний день методам (иммуногистохимия и флуоресцентная гибридизация *in situ*) выступают иммунохимические аналитические тест-системы, в частности, на основе принципов иммуноферментного анализа (ИФА), сочетающего в себе высокую чувствительность и специфичность, что выдвигает его в ряд приоритетных методов современного иммуноанализа.

Принимая во внимание тот факт, что сегодня наблюдается четко сформированная тенденция к росту числа случаев заболевания РМЖ, укрепление и оптимизация диагностических и лечебных стратегий является единственно возможным направлением дальнейших действий.

Разработка метода ИФА по определению HER2 статуса у женщин с РМЖ позволит с высокой точностью и специфичностью обнаруживать наличие гиперэкспрессии HER2 и, тем самым, диагностировать доклинические стадии РМЖ, а также предоставит исследователям точный количественный критерий контроля степени выраженности патологического процесса, эффективности проводимой терапии и прогнозирования развития и возникновения рецидивов заболевания.

UDC 57.083.3: 616-006

ENZYME IMMUNODETECTION IN HER2 STATUS DETERMINATION AT BREAST CANCER

Yastrabava H.A., Burakouski A.I., Karpenka T.A., Tsishkevich M.M., Karpovich M.V., Prokharava V.I., Krasnyy S.A., Shyshlo L.M.
Institute of Bioorganic Chemistry of NASB, Minsk, Belarus,
220141, 5/2 Kuprevich Str.
e-mail: aliraflame@yandex.ru

Development of enzyme immunoassay approach in HER2 status determination at breast cancer provides accurate quantitative criterion of the pathological process severity and the effectiveness of the therapy.

Keywords: HER2, breast cancer, ELISA.

In preclinical and clinical researches it have shown that HER2 overexpression has the key role in oncogenesis and oncotransformation of several diseases, in particular at breast cancer (BC), and correlates with negative prognostic factors such as tumor size, tumor grade and drug resistance to cytotoxic agents. This proves the advisability of new methods creation for the analyte testing. Immunochemical analytical test systems are an alternative to currently used methods (such as immunohistochemistry and fluorescent *in situ* hybridization). In particular, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) combines high sensitivity and specificity, which puts it in a number of priority methods of modern immunoassay.

Taking into account the fact that today there is a clearly defined trend of BC cases increasing, strengthening and optimization of diagnostic and therapeutic strategies is the only possible way forward. The development of ELISA approach for the HER2 status determination in women with BC will allow with high accuracy and specificity to detect the presence of HER2 overexpression and thereby diagnose the early stages of BC. It provides researchers with quantitative criterion to control the severity of the pathological process and the effectiveness of the therapy and disease recurrence.

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ РЕЛИЗ-АКТИВНЫХ ФОРМ АНТИТЕЛ К ИНТЕРФЕРОНУ-ГАММА МЕТОДОМ ИФА

Дон Е.С., Греченко В.В., Похил С.Э., Борщева А.А., Никифорова М.В., Тарасов С.А.
ООО «НПФ «Материа Медика Холдинг», Москва, Россия.
127473, Москва, 3-й Самотечный пер, д 9.
e-mail: gavrilovaes@materiamedica.ru

Разработана методика ИФА для контроля качества препаратов на основе релиз-активной формы антител к интерферону-гамма. Показано, что присутствие релиз-активной формы антител к интерферону-гамма приводит к изменению константы аффинности антител к интерферону гамма по сравнению с контролем.

Ключевые слова: релиз-активные антитела; иммуноферментный анализ; интерферон-гамма.

Препараты, содержащие релиз-активную форму антител давно и с успехом используются в лечении различных заболеваний, однако вопрос разработки новых методик контроля качества таких лекарственных средств не теряет свою актуальность. Было показано, что релиз-активная форма антител к интерферону-гамма (РА Ат к ИФНγ) может оказывать влияние на конформационные характеристики своей фармакологической мишени – ИФНγ, поэтому для количественного определения активности РА Ат к ИФНγ был выбран метод ИФА. В качестве особенности методики в пробоподготовку добавлен этап преинкубации моноклональных антител (мАт) к ИФНγ с раствором РА Ат к ИФНγ (раствор лактозы, насыщенной РА Ат к ИФНγ, в фосфатно-солевом буфере) или с контролем (та же серия интактной лактозы в фосфатно-солевом буфере). Точность, воспроизводимость, линейность, специфичность и робастность методики подтверждены в ходе работы с использованием различных серий препарата Анаферон детский, действующим веществом которого является РА Ат к ИФНγ. Препарат, изменяя конформацию молекулы ИФНγ, статистически значимо по сравнению с контролем изменял константу аффинности мАт к ИФНγ.

UDC 59.083

DEVELOPMENT THE ACTIVITY ASSAY FOR RELEASE-ACTIVE ANTIBODIES TO INTERFERON-GAMMA BY ELISA

Don E.S., Grechenko V.V., Pokhil S.E., Borshcheva A.A., Nikiforova M.V., Tarasov S.A.
OOO „NPF „Company Materia Medica Holding", Moscow, Russia
3-rd Samotechny per, 9, 127473 Moscow, Russia
e-mail: gavrilovaes@materiamedica.ru

ELISA technique for quality control of drugs based on release-active antibodies to interferon-gamma was developed. It was shown that the presence of release-active antibodies to interferon-gamma leads to alteration in the affinity constant of antibodies to interferon-gamma in comparison with the presence of the control.

Keywords: release-active antibodies; ELISA; interferon-gamma.

Despite release-active forms antibodies-based drugs successfully use in treatment for various diseases for a long time, the question of development of the new quality controls techniques for such medicines is still relevant in pharmaceutical industry. It was shown that release-active form

of antibodies to interferon-gamma (RA Abs to IFNγ) may influence the conformation characteristics of its pharmacological target – IFNγ, so for the quantitative assessment of RA Abs to IFNγ activity ELISA approach was chosen. As an assay feature the stage of pre-incubation of monoclonal antibodies to IFNγ with RA Abs to IFNγ solution (solution of lactose treated by RA Abs to IFNγ in phosphate buffered saline) or with control (the same lot of intact lactose in phosphate buffered saline) was added. Accuracy, precision, linearity, specificity and robustness of the assay were confirmed during the work using different lots of Anaferon for children, drug which active substance is RA Abs to IFNγ. Anaferon for children by impact on the IFNγ conformation statistically significant (in comparison with control) changed the affinity constant of monoclonal Abs to interferon-gamma.

УДК 577.112.083

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ ТРЕХ ИЗОФОРМ ЛИПИД-ТРАНСПОРТИРУЮЩЕГО БЕЛКА ЧЕЧЕВИЦЫ

Финкина Е.И., Богданов И.В., Стукачева Е.А., Мельникова Д.Н., Овчинникова Т.В.
Федеральное агентство научных организаций (ФАНО России) Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН), Москва, Россия
117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10
e-mail: finkina@mail.ru

Показано, что структуры трех изоформ LTP чечевицы Lc-LTP1–3 стабилизированы четырьмя дисульфидными связями и содержат а-спиральные участки. Продемонстрировано, что все три LTP с приблизительно одинаковой эффективностью связывают жирные кислоты и ингибируют рост фитопатогенных микроорганизмов, имеют схожие с аллергенными LTP иммунологические свойства, но Lc-LTP3 характеризуется менее выраженной иммунореактивностью.

Ключевые слова: липид-транспортирующие белки; изоформы; чечевица; аллерген; перекрестная реактивность; гетерологичная экспрессия; антимикробная активность; связывание липидов.

Известно, что гены, кодирующие липид-транспортирующие белки растений (LTP), организованы в мультигенные семейства. Множественные изоформы LTP из одного растения имеют различные свойства и, как полагают, могут выполнять различные функции. Изоформы аллергенных LTP, как правило, характеризуются разной иммунореактивностью. Изучение структурно-функциональных и иммунологических свойств изоформ LTP является необходимым этапом на пути исследования функциональной роли отдельных представителей данного класса белков и создания гипоаллергенных вариантов основных аллергенов, предназначенных для проведения аллерговакцинации.

Ранее нами была охарактеризована одна из изоформ LTP чечевицы, названная Lc-LTP2. Данный белок обладает антимикробной активностью и способностью связывать липиды, а также является основным аллергеном чечевицы, зарегистрированным нами в международной базе данных IUIS под аббревиатурой Len c 3.

Для проведения сравнительного исследования структурно-функциональных и иммунологических свойств изоформ LTP чечевицы был разработан биотехнологический способ получения трех белков Lc-LTP1–3 в клетках *E. coli*. Рекомбинантные белки экспрессировали в составе гибридных белков и выделяли из растворимой или нерастворимой клеточных фракций.

Несмотря на существенные различия в аминокислотных последовательностях трех изоформ LTP чечевицы, значительной разницы в структурно-функциональных свойствах белков выявле-

но не было. Было показано, что структуры Lc-LTP1–3 стабилизированы четырьмя дисульфидными связями и характеризуются высоким содержанием а-спиральной структуры. В структуре всех трех белков присутствует гидрофобная впадина, способная связывать жирные кислоты. В результате проведенного исследования антимикробной активности Lc-LTP1–3 было показано, что все изоформы LTP чечевицы обладают противогрибковой и слабовыраженной антибактериальной активностью и не характеризуются специфичностью антимикробного действия. В то же время, при исследовании иммунологических свойств рекомбинантных Lc-LTP1–3 была отмечена разница в иммунореактивности трех изоформ LTP чечевицы. Было показано, что Lc-LTP1 и Lc-LTP3, так же как и внесенный в базу данных аллергенов Len c 3 (Lc-LTP2), обладают способностью связывать специфические IgE из сывороток пациентов с пищевой аллергией, распознающие также основной аллерген персика Pru p 3, что может приводить к перекрестным аллергическим реакциям. Однако было отмечено, что Lc-LTP3 характеризуется менее выраженной, чем у других изоформ, иммунореактивностью. На основании полученных данных был сделан вывод, что Lc-LTP3 по предварительным данным является гипоаллергенной изоформой LTP чечевицы.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 13-08-00956).

COMPARATIVE STUDY OF THREE ISOFORMS OF THE LENTIL LIPID TRANSFER PROTEIN

Finkina E.I., Bogdanov I.V., Stukacheva E.A., Melnikova D.N., Ovchinnikova T.V.
M.M. Shemyakin & Yu.A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia
117997, Moscow, st. Miklukho-Maklaya, 16/10
e-mail: finkina@mail.ru

It was shown that Lc-LTP1–3 structures are stabilized by four disulfide bonds and contain α-helical regions. It was found that all the three LTP isoforms bound fatty acids and inhibited the growth of pathogenic microorganisms with about the same efficiency. Immunological properties of these isoforms are similar to those of allergenic LTP while Lc-LTP3 has lower immunoreactivity.

Keywords: lipid transfer proteins; isoforms; lentil; allergen; recombinant protein; cross reactivity; heterologous expression; antimicrobial activity; lipid binding.

Plant lipid transfer proteins (LTP) are known to be encoded by multigene families. Multiple isoforms of LTP may have different properties and various functions in plants. Generally, different isoforms of allergenic LTP possess different immunoreactivity. That is why study of structural, functional, and immunological properties of the LTP isoforms is a necessary step towards understanding the functional role of individual members of this protein family. Furthermore, it opens the way for creation of hypoallergenic variants of major allergens aimed for allergen specific immunotherapy (ASIT).

Previously we characterized one of the lentil LTP isoforms, termed as Lc-LTP2. This protein displays antimicrobial activity and ability to bind lipid molecules. Besides, it acts as a major lentil allergen, registered in the International Union of Immunological Societies (IUIS) database as Len c 3.

To carry out a comparative study of the structural, functional, and immunological properties of the lentil isoforms, a method for biotechnological production of these proteins in *E. coli* cells was developed. The recombinant lentil LTP isoforms were overexpressed in fusion proteins and purified from soluble or insoluble cell fractions.

In spite of significant differences in the amino acid sequences of the three isoforms, no considerable distinctions in their structural and functional properties were observed. It was shown that the spatial structures of Lc-LTP1–3 were stabilized by four disulfide bonds and characterized by a high content of α-helical structure. All the three isoforms have a hydrophobic cavity in their spatial structures, which has an ability to bind fatty acids. The study of antimicrobial properties of the proteins showed that all the three isoforms displayed antifungal and moderate antibacterial activities and did not exhibit specificity of antimicrobial action. At the same time, the study of immunological properties of the recombinant Lc-LTP1–3 revealed the difference in immunoreactivity of the three lentil LTP isoforms. It was shown that Lc-LTP1 and Lc-LTP3, as well as registered in the IUIS database allergen Len c 3 (Lc-LTP2), had the ability to bind specific IgE from sera of allergic patients which may cross-react with major peach allergen – Pru p 3. However, it was found that Lc-LTP3 has lower immunoreactivity in comparison with other lentil LTP isoforms. Based on the data obtained, we concluded that the Lc-LTP3 was a hypoallergenic lentil LTP isoform.

This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research (project No. 13–08–00956).

КРУГЛЫЙ СТОЛ «БИОМЕДИЦИНСКИЕ СЕНСОРЫ И ТЕХНОЛОГИИ»
SEMINAR "BIOMEDICAL SENSORS AND TECHNOLOGIES"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

УДК 008.2, 614.2

УНИВЕРСАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИМПЛАНТИРУЕМЫЙ БИОСЕНСОР: РЕАЛЬНОСТЬ ИЛИ ФАНТАСТИКА?

Балякин А.А., Жулего В.Г., Кунина Г.Е., Рубцов В.П.
НИЦ «Курчатовский институт»
123182, Россия, г. Москва, пл. ак. Курчатова, д. 1, Balyakin_AA@nrcki.ru

Предложена идея универсального медицинского биосенсора, обсуждаются его основные характеристики.

Ключевые слова: биосенсоры, высокотехнологичная медицина

В результате анализа мирового рынка имплантируемых устройств и перспективных научных исследований выявлено два наиболее эффективных направления развития медицинских биосенсоров: создание универсального имплантируемого устройства для организации высокотехнологичной профилактики заболеваний; и 3D печать устройств и органов.

Основное внимание уделено первому направлению, поскольку применение универсального имплантируемого устройства позволит принципиально изменить организацию, повысить качество и эффективность (экономическую и диагностическую) профилактической медицины. Показано, что такой прибор (условно называемый «Биосенсором мечты») должен сочетать в себе преимущества имплантируемых устройств (максимально малый размер, биосовместимость и прочее) и быть рассчитанным на массового потребителя. На сегодня существует большое количество эффективных медицинских биосенсоров, однако они осуществляют мониторинг лишь 1–2 важнейших показателей, тогда как идея «Биосенсора мечты» предполагает объединение их преимуществ в одно универсальное устройство.

Обсуждаются основные характеристики данного устройства (пассивное беспроводное устройство, изготовленное из биоразлагаемых полимеров, в комплекте с мобильными устройствами передачи информации, осуществляющее мониторинг основных показателей жизнедеятельности человека). Предполагаемый срок службы такого устройства до 1 месяца, ограниченный сроком службы используемой батарейки. Очевидно, что реализация такого устройства возможна лишь как итог полноценной государственной программы.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 13-02-12111.

UNIVERSAL MEDICAL IMPLANTABLE BIOSENSOR: DREAM OR REALITY?

Balyakin A.A., Zhulego V.G., Kunina G.E., Rubtsov V.P.
NRC "Kurchatov Institute"
1, ac. Kurchatovsq., Moscow, Russia, 123181, Balyakin_AA@nrcki.ru

The idea of universal medical biosensor is proposed, its main characteristics are discussed.
Keywords: biosensors, high-tech medicine, eMedicine.

Based on the analysis of the global market of implantable devices and related scientific research, we formulated 2 main trends of nowadays high-tech medical biosensors development: an attempt to create a universal implantable device for the organization of high-tech disease prevention; and 3D printing of devices and organs.

In our report we pay special attention to the first field, as the application of universal implantable device would allow to fundamentally change and improve the quality and efficiency (economic and diagnostic) of preventive medicine. It is shown that such a device (so called "Dream biosensor") should combine the benefits of currently existing implantable devices (small size, biocompatibility, etc.) and be designed for the mass market. By now, there are many effective medical biosensors, but they monitor only 1–2 most important indicators, while the idea of "Dream biosensors" involves pooling their advantages together.

We discuss the main characteristics of this device (passive wireless device, made of biodegradable polymers, complete with mobile devices transmitting information to monitor the vital signs of man). The expected life of the device is up to 1 month, that is limited by used batteries.

It is obvious that the implementation of such a device is only possible as a result of a full-fledged state program.

This work was supported by the RFBR grant 13-02-12111.

УДК 008.2, 614.2

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ ЭНЕРГООБЕСПЕЧЕНИЯ МЕДИЦИНСКИХ ИМПЛАНТИРУЕМЫХ БИОСЕНСОРОВ

Балякин А.А., Малышев А.С., Тараненко С.Б.
НИЦ «Курчатовский институт»,
123182, Россия, г. Москва, пл. ак. Курчатова, д. 1, Balyakin_AA@nrcki.ru

Обсуждается современное состояние проблемы энергообеспечения имплантируемых медицинских биосенсоров.
Ключевые слова: биосенсоры, зарядное устройство, беспроводная зарядка

По мнению большинства экспертов, решение вопроса с источником питания – основная проблема работоспособности имплантируемых медицинских устройств. Получение необходимой энергии возможно двумя путями: из внутреннего накопителя (батарейки) или же извне (передача энергии посредством электромагнитных волн, получение энергии за счет химических реакций или использование кровотока и/или сокращения мышц для выработки энергии). В любом случае, ввиду неравномерности использования энергии необходимо наличие в составе устройства элемента накопления и преобразования энергии. Оба этих аспекта (батарейка и преобразователь энергии) не являются специфическим вопросом медицинских биосенсоров, и решение задач миниатюризации батарей/аккумуляторов возможно и в других областях науки; как пра-

вило, в медицине используются уже хорошо себя зарекомендовавшие технические решения из смежных областей. В то же время проблема преобразования энергии должна быть сопряжена с решением вопроса биосовместимости (что отсекает ряд химических реакций) и удобства пациента (потребляемая/выделяемая энергия не должна представлять угрозу здоровью и жизни пациента).

В докладе приведен ряд примеров возможной передачи энергии медицинским биосенсорам: использование пьезоэлектрического эффекта; чрезкожная передача энергии; создание метаматериала (человек – наносимые на кожу вещества); создание многосотовой батареи из нескольких тысяч термоэлектрических генераторов и др.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 13-02-12111.

CURRENT STATE OF ENERGY PROVIDING FOR MEDICAL IMPLANTABLE BIOSENSORS

Balyakin A.A., Malyshev A.S., Taranenko S.B.
NRC "Kurchatov Institute"
1, ac. Kurchatovsq., Moscow, Russia, 123181, Balyakin_AA@nrcki.ru

The current state of batter and energy supplement for medical biosensor is considered.

Keywords: biosensors, wireless devices, battery.

According to most experts, the power supplement is regarded as key problem for the efficiency of implantable medical devices. Obtaining the necessary energy is possible in two ways: from the internal storage (batteries) or from outside (energy transfer by electromagnetic waves, generating energy through chemical reactions or the use of blood and/or contraction of the muscles for energy production). In any case, there is the need of energy storage and conversion. Both of these aspects (battery and power converter) are not a specific issue of medical biosensors, and problem solving miniaturization of batteries/accumulators possible in other areas of science; generally used in medicine are well-proven technical solutions of the adjacent fields. At the same time, the problem of energy conversion must be interfaced with the solution of biocompatibility (which cuts off a number of chemical reactions), and the convenience of the patient (consumption/energy released should not pose a threat to the health and life of the patient).

The report provides some examples of possible energy transfer to/from medical biosensors: the use of the piezoelectric effect; percutaneous energy transfer; the creation of a metamaterials (substances applied to the skin); the creation of a multi-battery from thousands of thermoelectric generators and others.

This work was supported by the RFBR grant 13-02-12111

УДК 617-089

СОВМЕЩЕНИЕ ПОКАЗАНИЙ ТЕРМОСЕНСОРОВ ИМАТЕМАТИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ДЛЯ ОНЛАЙН-РАСЧЕТА ХОДА РОБОТ-АССИСТИРОВАННЫХ ОПЕРАЦИЙ

Бурков И.А., Жердев А.А., Савельева С.К., Шакуров А.В.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Московский государственный технический университет имени Н.Э. Баумана (МГТУ им. Н.Э. Баумана), 105005, Москва, 2-я Бауманская ул., д. 5, стр. 1.

E-mail: Shakurov@bmstu.ru

Предлагается концепция программы для расчета тепловых полей при гипотермии тканей внутренних органов, имеющая обратную связь с термосенсорами, при взаимодействии с которым происходит уточнение параметров охлаждения, и сбора информации по ранее проведенным операциям.

Ключевые слова: гипотермия, математическое моделирование, автоматизация операции.

Современный уровень техники позволяет проводить частичную автоматизацию медицинских процедур. Существующие датчики автоматической обратной связи по температуре, подразделяющиеся на инвазивные, малоинвазивные (игольчатые), неинвазивные (пирометры, данные УЗИ), например, имеют применение в практике гипотермии [1,2], криохирургии [3]. Для успешного применения криометодов на практике необходимо произвести повышение точности обеспечения дозирования процедур. Предлагается использовать датчики температуры с обратной связью при проведении гипотермического охлаждения биоткани и совмещения в режиме реального времени показаний датчиков с расчетными тепловыми полями во время робот-ассистированных операций. Предлагаемая компьютерная программа позволяет рассчитывать температурные поля в охлаждаемой области биоткани основываясь на уравнениях термодинамики и на основании этого определять оптимальные параметры охлаждения, собирать и анализировать данные о ранее проведенных операциях. Таким образом будет уменьшен риск переохлаждения ткани органов пригипотермии. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 13–08–12030 офи_м.

Списоклитературы:

1. Greer D.M. Hypothermia for Cardiac Arrest // Current Neurology and Neuroscience Reports, Vol.6, №6, 2006, pp.518–524.

2. Update on therapeutic temperature management // Broessner G., Fischer M., Schubert G., Metzler B., Schmutzhard E. (Eds.) // Critical Care, Vol.16, Suppl.2, 2012, 42p.

3. URL: http://www.galilmedical.com/cryoablation-products/accessories/ (дата обращения: 30.11.2014).

COMBINATION OF THERMOSENSORS USAGE AND MATHEMATICAL MODELING FOR REAL TIME CALCULATION OF ROBOT-ASSISTED SURGERY

Burkov I.A., ZherdevA.A., Savelieva S.K., Shakurov A.V.,
Bauman Moscow State Technical University (BMSTU), Address: Moscow, Baumanskaya 2-ya st., 5, str.1, Postcode: 105005. E-mail: Shakurov@bmstu.ru

The concept of the program for the calculation of thermal fields during hypothermia tissue of internal organs is proposed. The program should have feedback from temperature sensors. Interaction with temperature sensors is necessary to refine cooling and collect information.

Keywords: hypothermia, mathematic modeling, automate surgery.

Modern level of technology allows to carry out partial automation of medical procedures. The existing sensors with automatic feedback on temperature are subdivided on invasive low-invasive (needle), noninvasive (the pyrometers, ultrasonography). This sensors have an application in practice of a hypothermia [1,2], cryosurgery [3].It is necessary to increase accuracy of ensuring dosing for successful application of methods in practice. It is offered to use temperature sensors with feedback during hypothermal cooling of tissues. The offered computer program allows to calculate temperature fields in the cooled area of tissues based on the equations of thermodynamics and to determine optimum parameters of cooling. Thus, the risk of overcooling of tissues during the hypothermic cooling will be reduced. The reported study was partially supported by RFBR, research project No. 13–08–12030 ofi_m.

List of references:

1. Greer D.M.Hypothermia for Cardiac Arrest // Current Neurology and Neuroscience Reports, Vol.6, №6, 2006, pp.518–524.
2. Update on therapeutic temperature management // Broessner G., Fischer M., Schubert G., Metzler B., Schmutzhard E. (Eds.) // Critical Care, Vol.16, Suppl.2, 2012, 42p.
3. URL: http://www.galilmedical.com/cryoablation-products/accessories/ (дата обращения: 30.11.2014).

УДК 57.083.3

ПУТИ ПОВЫШЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ЭКСПРЕССНЫХ ИММУНОСЕНСОРНЫХ СИСТЕМ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Дзантиев Б.Б., Жердев А.В.
Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия
119071, Москва, Ленинский проспект, д. 33, стр. 2
e-mail: dzantiev@inbi.ras.ru

Представлены экспериментальные данные по разработке и характеристике форматов иммуно хроматографического биосенсорного анализа, обеспечивающих снижение пределов обнаружения целевых аналитов: применению новых флуоресцентных маркеров, образованию агрегатов на основе наночастиц-маркеров, исключению неспецифических реагентов их детектируемых иммунных комплексов.

Ключевые слова: иммуносенсоры, иммунохроматографические тест-системы, усиление аналитического сигнала, наночастицы.

Решение современных задач диагностики требует контроля биомаркеров патологий и дисфункций, находящихся в биологических жидкостях организма в крайне низких концентрациях. В связи с этим крайне востребованы методические решения, обеспечивающие сочетание быстрого нетрудоемкого (в том числе внелабораторного) тестирования и низких пределов обнаружения. В докладе представлены результатыпо созданию высокочувствительных иммуносенсорных систем и характеристика современного уровня разработок.

Проведено сопоставление различных нанодисперсных маркеров, используемых для быстрого визуального детектирования иммунных комплексов. Обсуждаются преимущества полупроводниковых флуоресцентных наночастиц (квантовых точек). Дается характеристика различных способов амплификации сигнала и обеспечения максимального соотношения маркер : селективный иммунореагентпри проведении иммуно хроматографического анализа. Экспериментальная оценка эффективности предлагаемых подходов дается на примерах тест-систем для контроля низкомолекулярных (антибиотики, микотоксины) и высокомолекулярных (иммуноглобулины) соединений.

Работы выполнены при поддержке Российского научного фонда (грант 14-14-01131).

UDK 57.083.3

APPROACHES TO IMPROVE THE SENSITIVITY OF EXPRESS IMMUNOSENSORIC SYSTEMS FOR THE DETECTION OF BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS

Dzantiev B.B., Zherdev A.V.
A.N. Bach Institute of Biochemistry, Federal Research Centre «Fundamentals of Biotechnology» of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia
119071 Moscow, Leninsky prospect 33, bld. 2
e-mail: dzantiev@inbi.ras.ru

Experimental data on the development and characterization of immunochromatographic biosensoric assays are given that decrease the detection limits of target analytes via the use of new fluorescent markers, aggregation of nanoparticles, exclusion of non-specific reagents from the detected immune complexes.

Keywords: immunosensors, immunochromatographic test-systems, strengthening the analytical signal, nanoparticles.

Solution of modern diagnostic problems requires monitoring biomarkers of pathologies and dysfunctions that are in body fluids in extremely low concentrations. In this connection the methodical solutions that provide a combination of fast not-labour (including out-of-lab) testing and low detection limits are of high demands. The report presents the results of our development of new sensitive immunosensoric systems and characterization of the current level of investigations.

Different nanodisperse markers were compared as markers for rapid visual detection of immune complexes. The advantages of fluorescent semiconductor nanoparticles (quantum dots) are discussed. Different approaches to amplify the analytical signal and maximize the (marker: selective immunoreagent) ratio during immunoassay are characterized. Experimental evaluation of the effectiveness of the proposed approaches has been carried out on the examples of test-systems for the control of low- (antibiotics, mycotoxins) and high (immunoglobulins) molecular weight compounds.

This work was supported by the Russian Science Foundation (Grant 14-14-01131).

УДК 621.015.1

ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ БИОСЕНСОРНЫЕ СИСТЕМЫ: ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ

Шумянцева В.В., Булко Т.В., Супрун Е.В., Агафонова Л.Е., Кузиков А.В., Арчаков А.И.
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича» (ИБМХ), 119121 Москва, ул. Погодинская, д. 10,
e.mail: viktoria.shumyantseva@ibmc.msk.ru

Получены результаты по модификации электродов гибридными органо-неорганическими композитными материалами, а также полимерами с молекулярными отпечатками для анализа гемопротеинов. Разработаны методы анализа белков по электроокисляемым аминокислотам (тирозин, триптофан, цистеин) для регистрации посттрансляционных модификаций.

Ключевые слова: биосенсоры, гемопротеины, модифицированные электроды, кардиомаркеры

Разработаны методы электросинтеза синтетических биомимических материалов (МИП), осуществляющих, как и биореагенты, селективное комплементарное связывание определяемых веществ по принципу «ключ-замок». В качестве молекулы-шаблона был использован белок-кардиомаркер миоглобин. Получены композиционные материалы на основе синтетических биораспознающих молекул и наноматериалов для повышения чувствительности скрининга. Разработаны биосенсорные технологии на основе анализа электроокисляемых аминокислот (тирозин, триптофан, цистеин) в составе белков для анализа посттрансляционных модификаций первичной структуры белков и таких посттрансляционных событий, как фолдинг и окислительные модификации полипептидной цепи. Разработаны методы электроанализа белков, не содержащих электроактивные простетические группы, для выявления мишеней с функционально-значимыми модификациями, такими как модификация первичной структуры (фосфорилирование, нитрозилирование, окисление аминокислот), конформационные изменения.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министрерства науки и образования РФ (Соглашение № 14.576.21.0045 и 14.604.21.0074).

ELECTROCHEMICAL BIOSENSOR SYSTEMS: DEVELOPMENT PROSPECTS

Shumyantseva V.V., Bulko T.V., Suprun E.V., Agafonova L.E., Kuzikov A.B., Archakov A.I.
Institute of Biomedical Chemistry,
Pogodinskaya Street, 10, Moscow 119121, Russia
e.mail: viktoria.shumyantseva@ibmc.msk.ru

Results on modification of electrodes by hybrid organo-inorganic composite materials, molecular imprinted polymers for the analysis of hemeproteins are received. Methods for the analysis of proteins based on the electro oxidized amino acids (tyrosine, tryptophan, cysteine) are developed for registration of post-translational modifications.

Keywords: biosensors, hemeproteins, the modified electrodes, cardiac markers

Methods of electro synthesis of the synthetic biomimetic materials (Molecular imprinted polymers, MIP) which are carrying out, as well as bioreagents, selective complementary binding of the defined substances by the principle "key lock" are developed. As a molecule template protein cardiac marker

myoglobin was used. Composite materials based on molecular imprinted polymers and nanomaterials for increase of screening sensitivity are received. Biosensor technologies on the basis of the analysis of the electro oxidized amino acids (tyrosine, tryptophan, cysteine) are developed for the analysis of post-translational modifications of primary structure of proteins and such post-translational events, as a folding and oxidizing modifications of a polypeptide chain. Methods of the electro analysis of the proteins which aren't containing electro active groups are developed for identification of targets with functional and significant modifications, such as modification of primary structure (phosphorylation, nitrozilation, oxidation of amino acids), and conformational changes.

This work was supported by Ministry of Science and Education, Russian Federation (agreements № 14.576.21.0045 and 14.604.21.0074).

УДК 536.2+ 53.087

ПРИМЕНЕНИЕ ИНВАЗИВНЫХ ТЕРМОСЕНСОРОВ ДЛЯ ПРОВЕРКИ ТЕПЛОФИЗИЧЕСКОГО РАСЧЕТА

Пушкарев А.В., Морозова Н.В., Цыганов Д.И.

Государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования Российская медицинская академия последипломного образования (ГБОУ ДПО РМАПО),

г. Москва. Адрес: 125993, г. Москва, ул. Баррикадная, д.2/1,

e-mail: Pushkarev@bmstu.ru

Проведен теплофизический расчет криогенного воздействия на моделирующее биологическую ткань вещество. Выполнен сравнительный анализ результатов вычислительного и физического экспериментов при помощи инвазивных термосенсоров, используемых в разработанном экспериментальном стенде.

Ключевые слова: инвазивный термосенсор; биоткань; криоаблация.

В рамках исследовательской работы разработана базовая компьютерная программа моделирования тепловых полей в целевых зонах при воздействии низкими температурами. В качестве основы для работы над данной программой служила реальная хирургическая операция – криоаблация предстательной железы с использованием многозондовой системы. Зонды вводятся в ткань целевого органа через шаблонную решетку[1]. Возникла необходимость проверки теплофизических расчетов данной программы. Решением данной задачи явилось создание экспериментального стенда для изучения теплофизических процессов при криогенном воздействии на биологическую ткань и моделирующие ее вещества. Для регистрации значений температуры в контрольных точках целевого вещества применяются инвазивные термосенсоры. Выполнен сравнительный анализ значений температуры, получаемых при теплофизическом расчете и при эксперименте с помощью термосенсоров. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 13–08–12051 офи_м.

1. А.О. Васильев, А.В. Говоров, А.В. Пушкарев, Д.И. Цыганов, А.В. Шакуров Теплофизическое моделирование криохирургической операции на примере рака предстательной железы // Технологии живых систем. – 2014. – Т. 11, №. 4. – С. 47-53.

UDK: 536.2+ 53.087

THE USE OF INVASIVE THERMOSENSORS FOR CHECKING THERMOPHYSICAL CALCULATION

Pushkarev A.V., Morozova N.V., TsiganovD.I.
Russian Medical Academy of Postgraduate Education Studies, Address: 125993, Moscow, Barrikadnayast., 2/1, e-mail: Pushkarev@bmstu.ru

The thermophysical calculation of cryogenic impact on the modeling material of biological tissue were carried out. The comparative analysis of the results of computing and physical experiments using invasive thermosensors used in the designed experimental stand was carried out.

Keywords: invasive thermosensor, biological tissue, cryoablation

As part of the research work was developed a basic computer program of modeling of thermal fields in the target areas when exposed to low temperatures. As a basis for the work on this program serves a real surgical operation – cryoablation of the prostate using multiprobe system. The probes are introduced into the tissue of the target body through a template grating [1].There was a need to verify the thermal calculations of this program. The solution to this problem was the creation of experimental stand for studying thermal processes in cryogenic effects on biological tissues. The invasive thermal sensors are used to register temperature values at the control points of the target substance. The comparative analysis of the temperature values obtained by the thermophysical calculation and experiment with the use of thermal sensors was carried out.

The reported study was partially supported by RFBR, research project No. 13–08–12051 ofi_m.

1. A.O.Vasilyev, A.V.Govorov, A.V. Pushkarev, D.I. Tsiganov, A.V.Shakurov Thermophysical modeling of cryosurgery with the case study of prostate cancer // Technologies of Living Systems. – 2014. – Т. 11, №. 4. – С. 47–53.

УДК616-71

КЛЕТКА КАК БИОСЕНСОР В ДИАГНОСТИКЕ СОЦИАЛЬНО-ЗНАЧИМЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Василенко И.А., Метелин В.Б., Бельских Л.В., Насыров М.Р., Кузнецов А.Б., Беляков В.К., Агаджанян Б.Я.
Государственная классическая академия им. Маймонида,
Россия, 115035, Москва, ул. Садовническая, 52/45;
Российская медицинская академия последипломного образования,
Россия, 123995, Москва, ул. Баррикадная 2/1
e-mail: vasilenko0604@gmail.com

Предложена технология денситометрической сегментации, основанная на использовании количественной фазовой микроскопии и компьютерном анализе изменения оптической плотности интерфазного хроматина, выступающего в роли биосенсора.

Ключевые слова: интерференционная микроскопия, денситометрическая сегментация, интерфазный хроматин

Сложности ранней диагностики социально-значимых заболеваний диктуют необходимость поиска новых методов и современных неинвазивных технологий. Своеобразным биосенсором, датчиком ранних изменений морфофункционального состояния клетки является интерфазный хроматин. Модификации его структурыи плотности упаковки свидетельствуют об изменении

состояния клетки и могут быть спроектированы на организм в целом не только для доклинической диагностики, но и для оценки прогноза при кризисных состояниях. В интерфазном ядре развернутые хромосомы располагаются не хаотично, а строго упорядоченно. Эти компактные образования получили название «хромосомные территории». Объективным количественным критерием их динамики в норме и при патологических состояниях может служить рефрактерность ядер, отражающая особенности конформационного состояния нуклеолярных белков и степени деконденсации хроматина. Преимущества технологии заключаются в возможности изучения биообъектов без инвазивного вмешательства, высокой скорости регистрации данных, позволяющей отслеживать динамику внутриклеточных процессов; отсутствие необходимости фиксации и окрашивания клеток. Использование интерфазного хроматина как перспективного биосенсора открывает новые возможности в диагностике заболеваний.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ по Госзаданию №17.2608.2014/К.

УДК616-71

CELL AS A BIOSENSOR FOR DIAGNOSIS OF SOCIALLY SIGNIFICANT DISEASES

Irina Vasilenko, VladislavMetelin, Leonid Belskih, Marat Nasyrov, AleksandrKuznetsov, Vladimir Belyakov, BeniaminAgadzhanian
Maimonides State Classical Academy,
52/45Sadovnicheskaya str., Moscow, Russian Federation 115035;
Russian Medical Academy of Postgraduate Education,
2/1 Barrikadnaya str., Moscow, Russian Federation 123995
e-mail: vasilenko0604@gmail.com

The authors presented a technology of densitometric segmentation based on the quantitative phase microscopy (QPM) and computed analysis of the changes in the optic density of interphase chromatin as a biosensor.

Keywords: interference microscopy, densitometric segmentation, interphase chromatin

Difficulties of early diagnosis of the socially significant diseases demand searching for new modalities and contemporary non-invasive technologies. Interphase chromatin is an original biosensor, a detector of early changes in morphofunctional cell condition. Modification of its structure and compactness of its package are indicative of cell condition alteration and may be projected on the organism as a whole not only for the preclinical diagnostics but also for assessment of prognosis in crisis conditions. Location of decondensed chromosomes within the interphase nucleus is strictly regulated (not chaotic). These compact formations were called “chromosome territories”. Their nuclear refractivity reflecting the features of the nuclear proteins conformation and chromatin decondensation degree may be an objective quantitative criterium of their dynamics in norm and pathology. The authors presented a technology of densitometric segmentation based on the quantitative phase microscopy (QPM) and computed analysis of the changes in the optic density of interphase chromatin as a biosensor. The advantages of the technology include the opportunity of non-invasive studying bio-objects’ condition; high rate of data registration that allows close following dynamics of intracellular processes; avoiding cell fixation and staining, etc. Using the interphase chromatin as a promising biosensor opens up new possibilities in the diagnosis of diseases.

Research was fulfilled with financial support of Ministry of education and science according with governmental task № 17.2608.2014/K.

ПОСТЕРЫ
POSTERS

УДК 544.527.22

СИНТЕЗ НОВЫХ БИНАРНЫХ СИСТЕМ С ФОТОУПРАВЛЯЕМЫМИ СПЕКТРАЛЬНЫМИ СВОЙСТВАМИ

Мельникова И.А.[1,2], **Лукин А.Ю.**[1], **Беликов Н.Е.**[2], **Демина О.В.**[2], **Левин П.П.**[2], **Варфоломеев С.Д.**[2], **Ходонов А.А.**[1,2]

[1]*Московский государственный университет тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

[2]*Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук, Москва, Россия,119334, Москва, ул. Косыгина, 4.*

E-mail: khodonov@gmail.com

Были получены гибриды фотохрома – спиропирана с флуорофором (фрагментом стильбена) или ионогенной группой (азотсодержащий гетероцикл). Проведено исследование их фотохромного поведения.

Ключевые слова: фотохромизм, гибридные фотоуправляемые системы.

Фотохромные ионофоры и искусственные рецепторы, позволяющие контролировать процесс комплексообразования и свойства образующихся продуктов с помощью освещения светом с определенной длиной волны, привлекают особый интерес исследователей в различных областях [1]. В данной работе был разработан новый тип фотохромных систем, содержащих ионогенные или флуоресцентные группы, способные к эффективному взаимодействию с катионами металлов.

Для их получения нами была использована направленная модификация формильной группы в 5'-положении молекулы фотохрома с применением хорошо известных процедур органического синтеза: восстановительного аминирования или олефинирования по Виттигу. Производные спиробензопирана были получены в препаративных количествах, их структура была охарактеризована набором методов физико-химического анализа. Были проведены исследования фотохромного поведения растворов полученных соединений в толуоле и этаноле.

Работа была частично поддержана грантом РФФИ (проект 14–04–01701а).

[1]. Chambers J.J., Kramer R.H.Photosensitive Molecules for Controlling Biological Function. In: Neuromethods, v. 55, Springer, LLC, 2011.

UDC 544.527.22

SYNTHESIS OF NEW BINARY SYSTEMS WITH PHOTODRIVEN SPECTRAL PROPERTIES

Melnikova I.A.[1,2], **Lukin A.Yu.**[1], **Belikov N.E.**[2], **Demina O.V.**[2], **Levin P.P.**[2], **Varfolomeev S.D.**[2], **Khodonov A.A.**[1,2]

[1]*M.V. Lomonosov State University of Fine Chemical Technologies, Moscow, Russia*

[2]*N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics RAS, Moscow, Russia*

119334, Moscow, Kosygina 4. E-mail: khodonov@gmail.com

Hybrids of a photochromic compound – spiropyran with a fluorophore (stilbene fragment) and an ionogenic group (nitrogen-containing heterocycle) have been synthesized. Their photochromic behavior has been studied.

Keywords: photochromism, hybrid photodriven systems.

Photochromic ionophores and artificial receptors which allow to control the cation-binding process and the properties of the resulting products using irradiation by light with selected wavelengths, are of particular interest for researchers in different fields [1]. In present study a new type of photochromic systems containing ionogenic or fluorophoric groups, capable to effective interaction with metal cations, has been developed.

For their preparation we applied direct modification of the formyl group at the 5'-position of the photochromic molecule with using of well-known and efficient organic synthesis experimental procedures: reductive amination or Wittig olefination. The spirobenzopyran derivatives have been prepared in preparative amounts; their structure has been characterized by a number of physicochemical analysis methods. Their photochromic behavior has been studied in toluene and ethanol solutions.

This work was partly supported by the RFBR Grant (project № 14–04–01701a).

[1]. Chambers J.J., Kramer R.H.Photosensitive Molecules for Controlling Biological Function. In: Neuromethods, v. 55, Springer Science+Business Media, LLC, 2011.

СЕКЦИЯ «БИОМАТЕРИАЛЫ И ИХ РОЛЬ В СОВРЕМЕННЫХ БИОТЕХНОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ»

SECTION "BIOMATERIALS AND THERIS FUNCTION IN THE MODERN BIOTECHNOLOGY AND MEDICINE"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

УДК 548.735.6

СТРУКТУРА БИОКОМПОЗИТОВ НА ОСНОВЕ ГЕЛЬ-ПЛЕНКИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ *GLUCONACETOBACTER XYLINUS* И НАНОКРИСТАЛЛОВ ГИДРОКСИАПАТИТА КАК ПЕРСПЕКТИВНЫХ ЗАМЕНИТЕЛЕЙ КОСТНОЙ ТКАНИ

Архарова Н.А.[1], **Северин А.В.**[2], **Клечковская В.В.**[1], **Хрипунов А.К.**[3]
[1]*Институт кристаллографии им. А.В.Шубникова РАН, Москва*
[2]*Химический факультет МГУ им. М.В.Ломоносова, Москва*
[3]*Институт высокомолекулярных соединений РАН, Санкт-Петербург*
e-mail: natalya.arkharova@yandex.ru

Получены композиционные материалы на основе бактериальной целлюлозы и наночастиц гидроксиапатита двумя способами. Методами электронной микроскопии исследована структура исходных компонентов и полученных композитов. Показано, что композиты, полученные с помощью биомиметическиго подхода, близки по структуре к естественной костной ткани.

Ключевые слова: органо-неорганические композиты, бактериальная целлюлоза, наночастицы гидроксиапатита, электронная микроскопия.

Органо-неорганические композиты на основе гель-пленки бактериальной целлюлозы и наночастиц гидроксиапатита являются перспективными материалами для костной инженерии. При этом варьируя способы получения исходных компонентов, их соотношение, а также способ получения композита можно получить широкий спектр материалов для применения в костной хирургии.

Целью данной работы был сравнительный анализ структуры композитов диспергированная гель-пленка БЦ Gluconacetobacter xylinus (GX)/гидроксиапатит (ГАП) со структурными данными о естественной костной ткани. Биокомпозиты были получены двумя способами: совместным агрегированием суспензий ГАП и БЦ GX; проведением синтеза ГАП в среде БЦ (биомиметический подход, имитирующий процесс образования костной ткани в организме).

В полученных композитах обнаружено, что нанокристаллы ГАП текстурированы вдоль направления [0001] по направлению фибрилл БЦ. Такое взаимное расположение компонентов композита аналогично ориентации коллагеновых фибрилл и минеральной составляющей костной ткани. Линейные размеры нанокристаллов ГАП вдоль направления [0001] были определены при анализе темнопольных изображений, полученных в рефлексе 0002. А по полученным ВРЭМ изображениям отдельных наночастиц ГАП и сравнению их с моделированными изображениями удалось оценить их толщину. Размеры наночастиц ГАП в композитах, полученных с помощью биомиметическиго подхода, коррелируют с известными данными о размерах минеральной составляющей в костной ткани.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ №14-02-31258 мол_а.

UDC 548.735.6

STRUCTURE OF THE BIOCOMPOSITES BASED ON BACTERIAL CELLULOSE GEL-FILM *GLUCONACETOBACTER XYLINUS* AND HYDROXYAPATITE NANOPARTICLES AS PROMISING BONE SUBSTITUTE MATERIAL

Arkharova N.A.[1], **Severin A.V.**[2], **Klechkovskaya V.V.**[1], **Khripunov A.K.**[3]
[1]*Shubnikov Institute of Crystallography, RAS, Leninskii pr. 59, Moscow, 119333, Russia*
[2]*Moscow State University, chemical department, Moscow, 119991 Russia*
[3]*Institute of Macromolecular Compounds, RAS, Bol'shoi pr. 31, St. Petersburg, 199004 Russia*
e-mail: natalya.arkharova@yandex.ru

Composite materials based on dispersed bacterial cellulose and hydroxyapatite nanoparticles were prepared by two methods. Structure of the composites and its initial components was investigated by electron microscopy methods. It was found that structure of the composites, prepared by the biomimetic approach, close to the structure in natural bone.

Keywords: organic-inorganic biocomposites, bacterial cellulose, hydroxyapatite nanoparticles, electron microscopy.

Composites based on bacterial cellulose gel film and hydroxyapatite nanoparticles are rather promising materials for bone tissue engineering. Varying preparation methods of the initial components, their proportion and preparation methods of the composite it is possible to obtain a wide spectrum of materials for bone surgery applications.

The goal of this work was a structure comparative study of the composites based on dispersed bacterial cellulose Gluconacetobacter xylinus gel film (BC GX)/hydroxyapatite (HAP) with structure data of natural bone. Biocomposites were prepared by two methods: combined aggregation of dispersed BC GX gel film and HAP suspension; synthesis of HAP nanoparticles in the dispersed BC medium (biomimetic approach, simulation of the biosynthesis process in natural bone).

In the prepared composites HAP nanoparticels are textured along [0001] direction to the BC fibril direction. Such orientation between components of the composite is similarly to alignment of mineral nanocrystals on collagen fibrils in natural bone. Length of hydroxyapatite crystals along [0001] direction was determined from dark field images obtained in the 0002 reflection. Thickness of the particles was defined by comparison of the experimental HRTEM images with simulated ones till the best fitting. It was found that sizes of HAP nanoparticles in the composites, prepared by the biomimetic approach, close to those data in natural bone.

This work was supported by RFBR grant № 14-02-31258 mol_a.

ПОЛИМЕРНЫЕ ГИДРОГЕЛИ ДЛЯ МЕДИЦИНЫ И БИОТЕХНОЛОГИИ

Артюхов А.А., Моргачева А.А., Штильман М.И.
Российский химико-технологический университет им. Д.И.Менделеева, Москва, Россия
e-mail: artyukhow@yandex.ru

Разработаны новые полимерные гидрогели на основе ненасыщенных производных поливинилового спирта. Показано, разработанные материалы что при контакте с тканями организма полностью деградируют, замещаясь тканями организма

Ключевые слова. Гидрогель, поливиниловый спирт, гидроксиэтилкрахмал, биосовместимость, биодеградация

Полимерные гидрогели, в силу своих уникальных свойств (высокая биосовместимость, набухаемость в водных растворах, способность к биодеградации, эластичность, и т.д.), широко применяются в медицине и смежных с ней областях в качестве имплантатов, подложек в клеточной инженерии, материалов для заполнения послеоперационных полостей и др.

В качестве объектов исследования для создания материалов с заданными скоростями биодеградации нами были выбраны производные крахмала, поливинилового спирта и их смеси. При различных условиях нами были синтезированы несколько серий изотропных и анизотропных полимерных гидрогелей. В результате исследования процесса гелеобразования были выявлены оптимальные условия получения целевых продуктов. Также изучалась кинетика модификации производных крахмала и поливинилового спирта.

Проведенные биологические испытания показали отсутствие токсичности и высокую биосовместимость разработанных гидрогелевых материалов. Было продемонстрировано, что при контакте с живыми тканями организма синтезированные гидрогели практически не вызывали воспалительной реакции и полностью деградировали, замещаясь тканями организма. Скорость биодеградации определялась количественным составом полимерных гидрогелей, а также характером и степенью развитости пористой структуры и составляла от 1 до 4-х месяцев.

POLYMERIC HYDROGELS FOR MEDICINE AND BIOTECHNOLOGY

Artyukhov A.A., Morgacheva A.A., Shtilman M.I.
D.I. Mendeleyev University of Chemical Technology of Russia, Moscow, Russia
e-mail: artyukhow@yandex.ru

Novel polymeric hydrogels on baze of unsaturated derivates of polyvinyl alcohol were developed. It has been shown that hydrogels practically completely degraded, being replaced with organism tissues.

Polymeric hydrogels owing to their unique properties (high biocompatibility, swelling ability in water solutions, ability to biodegradation, elasticity, etc.) are widely applied in medicine and allied sciences in the capacity of implants, substrates in cellular engineering, materials for filling of post-operative cavities, etc. The problem of creation new hydrogel materials with the improved properties still faces to the scientists, working in the field of creation of polymeric biomaterials.

As objects of research for creation materials with the set speeds of biodegradation we have chosen derivatives of starch, polyvinyl alcohol and their mixtures. Under various conditions we had been synthesized some series of isotropic and anisotropic polymeric hydrogels. The process of gelation has been investigated in order to define the optimum conditions of reception of target products. Also it was studied modification kinetics of derivatives of starch and polyvinyl alcohol.

The carried out biological tests have shown absence of toxicity and high biocompatibility of developed hydrogel materials. It has been shown that at contact to organism living tissues the synthesized hydrogels practically did not cause inflammatory reaction, and completely degraded, being replaced with organism tissues. Speed of biodegradation was defined by character, degree of development of porous structure, quantitative composition of polymeric hydrogels and made from to 1 about 4 months.

МАКРОПОРИСТЫЕ ГИДРОГЕЛИ ПРОТИВ ТРАДИЦИОННЫХ ПЕРЕВЯЗОЧНЫХ СРЕДСТВ В ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКИХ РАН

Чудных С.М., Лесовой Д.Е.
Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова
127473, Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1
e-mail: chudnykh61@ya.ru

Регенерация тканей – естественный процесс, протекающий при повреждении кожи. Конечным результатом раневого процесса является образование рубцов. Исключительно важную роль в заживлении ран играет межклеточный матрикс, в силу этого значительный интерес привлекают раневые покрытия на основе синтетических материалов, способных стимулировать рост и/или замещать межклеточный матрикс. Ключесвые слова: хронические раны, трофические язвы, внеклеточный матрикс, раневые покрытия, макропористый гидрогель, поливиниловый спирт.

Одним из таких покрытий, материалов является раневое покрытие ММ-Гель-Ф, полученное на основе ненасыщенных производных поливинилового спирта[1,2]. Данное раневое покрытие по своим характеристикам значительно превосходит значительную часть известных перевязочных свойств и искусственных кожных трансплантатов, может быть эффективно использовано на всех стадиях протекания раневого процесса, характеризуется способностью контролируемого выделения водимых в него лекарственных, в том числе антибактериальных, препаратов[3]. Трехмерная пространственная структура данного материала обеспечивает возможность миграции и пролиферации клеток в организованном пространстве, что ведет к регенерации и, в конечном итоге, заживлению раны. Раневое покрытие удобно в применении, не иммуногенно, апирогенно, гипоаллергенно, а также значительно снижает уровень болевых ощущений в области раны. Настоящее исследование направлено на сравнении эффективности раневого покрытия ММ-Гель и традиционных перевязочных средств при лечении хронических ран.

Материалы и методы.

Был проведен анализ результатов лечения 120 пациентов, страдающих хроническими ранами, различной этиологии. Средний возраст пациентов составлял 50,2 года, при их лечении использовались как раневое покрытие ММ-Гель, так и традиционные раневые покрытия, в том числе содержащие сульфадиазин серебра, надифлокацин, повидон иодин, мед. Пациенты с сопутствующими заболеваниями, способными оказывать значимое влияние на течение раневого процесса, такими как неконтролируемый сахарный диабет, хроническая печеночная и почечная недостаточность и пр. в выборку включены не были. Пациенты были разделены на две группы – «гидрогель»-группу и «традиционные»-группу, по 60 человек в каждой. Проводился анализ состояния ран (размер, форма, глубина, состояние дна, наличие некротических масс, грануляционной ткани и пр.). С момента начала лечения для пациентов обоих групп проводилась оценка времени появления грануляционной ткани, полноты заживления, необходимости дополнительной пересадки кожи, удовлетворенность пациентов результатами лечения.

Результаты.

По истечении двух недель у 90% (P=0.03) пациентов «гидрогель»-группы раны оставались стерильными, среди пациентов «традиционные» -группы это число составило лишь 42% (P=0.03). У всех пациентов, для лечения которых использовалось гидрогелевое раневое покрытие, образование здоровой грануляционной ткани происходило раньше. По истечении 6 недель у 56 (93%) пациентов «гидрогель»-группы и 28 (47%) пациентов «традиционные»-группы (P=0,21) наблюдалось полное заживление ран. Двенадцати пациентов «традиционные»-группы потребовалась частичная сплит-пересадка кожи.

Заключение.

Проведенное исследование показало, что использование раневого покрытия ММ-Гель ведет к заметно лучшим, с позиций полноты заживления хронических ран, результатам по сравнению с традиционными раневыми покрытиями. На основании нашего опыта можно утверждать, что для всех пациентов использование данного раневого покрытия вело к полному восполнению дефектов тканей с образованием нормальных анатомических структур, сопровождающемуся заметным снижением болевых ощущений в области дефекта и приводящему к быстрой регенерации кожных покровов. При этом внешний вид, упругость и эластичность образованной в процессе заживления дермы заметно отличаются от рубцовой ткани и близки к аналогичным характеристикам нормальной кожи.

1. A.A. Artyukhov, A.P. Fomina, A.S. Golunova, A.N. Kuskov, D.E. Lisovyy, M.I. Shtilman. Polyvinyl alcohol macroporous hydrogels as new materials for medicine // 1st Russian – «Hellenic Symposium on Polymeric Biomaterials and Bionanomaterials: Recent Advances Safety and Toxicology Issues» [3–5 May, Heraklion], Crete-Greece, Heraklion, 2010.-P.34

2. A.P. Fomina, A.A. Artyukhov, A.S.Golunova, D.E. Lisovyy, M.I. Shtilman. Polymeric hydrogels on the basis of polyvinyl alcohol and starch derivatives. // 1st Russian – «Hellenic Symposium on Polymeric Biomaterials and Bionanomaterials: Recent Advances Safety and Toxicology Issues» [3–5 May, Heraklion], Crete-Greece, Heraklion, 2010.-P.59

3. A.A. Artyukhov, A.S. Golunova, A.N. Kuskov, A.V. Goryachaya, D.E. Lisovyy, M.I. Shtilman. Drug controlled release systems on the basis of macroporous polymeric hydrogels containing nano-aggregates of N-vinylpyrrolidone amphiphilic polymers. Biomaterials and Bionanomaterials: Recent Advances Safety and Toxicology Issues» [3-5 May, Heraklion], Crete-Greece, Heraklion, 2010.-P.59

MACROPOROUS HYDROGELS VERSUS CONVENTIONAL DRESSINGS IN THE TREATMENT OF CHRONIC WOUNDS

S.M. Chudnykh, D.E. Lisovyy
Evdokimov A.I.Moscow State University of Medicine and Dentistry
127473, Delegatskaya str.,20, bulding 1, Moscow, Russia
e-mail: chudnykh61@ya.ru

Tissue reparation is a natural process occurring any time the skin is injured. Scarring, the end result of the wound healing process. In fact recognition of the importance of the extra cellular matrix (EMC) in wound healing has led to development new synthetic covering materials that aim to stimulate and/or replace EMC.

Keywords: Chronic wounds, Leg ulcers, wound dressing, Macroporous hydrogels, Polyvinyl alcohol, Extracellular matrix

Newly fabricated macroporous hydrogels of polyvinyl alcohol by cross-linking of polyvinyl alcohol acrylic derivatives for wound dressing (MM-Gel-F) has advantages over conventional dressings and artificial skin grafts [1,2]. This covering material can be used in all phases of wound healing process, has a system of controlled release of drugs that can be used in bacterial dissemination wounds, its three-dimensional structure provides a temporary scaffold into which cells can migrate and proliferate in an organized manner, leading to tissue regeneration and ultimately wound closure[3]. MM-gel easy to apply, and it is non-immunogenic, non-pyrogenic, hypo-allergenic, and pain-free. This study aims to compare the efficacy of MM-Gel in treating chronic wounds with that of conventional dressing materials.

Materials and Methods.

The records of 120 patients with chronic wounds of varied etiologies and with mean age 50.2 years were collected and analyzed. The patients had been treated either with macroporous hydrogels or other conventional dressing materials including silver sulfadiazine, nadifloxacin, povidone iodine, or honey (traditional dressing material). Patients with co-morbidities that could grossly affect the wound healing like uncontrolled diabetes mellitus, chronic liver or renal disease, or major nutritional deprivation were not included. For the purpose of comparison the patients were divided into two groups; 'Hydrogel group' and 'Conventional group', each having 60 patients. For assessment the wound characteristics (size, edge, floor, slough, granulation tissue, and wound swab or pus culture sensitivity results) were recorded. With start of treatment, appearance of granulation tissue, completeness of healing, need for skin grafting, and patients' satisfaction was noted for each patient in both groups.

Results.

With two weeks of treatment, 90% of the 'collagen group' wounds and only 42% of the 'conventional group' wounds were sterile (P=0.03). Healthy granulation tissue appeared earlier over hydrogel-dressed wounds than over conventionally treated wounds (P=0.03). After six weeks, 56 (93%) of 'hydrogel group' wounds and 28 (47%) of 'conventional group' wounds were healed (P=0.21). Twelve patients in the 'conventional group' needed partial split-skin grafting (P=0.04). Hydrogel-treated patients enjoyed early and more subjective mobility.

Conclusion.

There is significant better results in terms of completeness of healing of chronic wounds between MM-Gel dressing and conventional dressing were found. According to our experience, in all of the patients suffering from deep and wide leg ulcers, the use of MM-Gel allowed for the complete refilling of the loss of tissue, with covering of the uncovered anatomical structures such as vendors and aponeuroses, fast and occasionally immediate disappearance of pain in all most cases, and rapid regeneration of a permanent dermis. The quality, flexibility, and elastic of the neodermis confirmed the difference from the scar tissue and its similarity to the normal skin.

1. A.A. Artyukhov, A.P. Fomina, A.S. Golunova, A.N. Kuskov, D.E. Lisovyy, M.I. Shtilman. Polyvinyl alcohol macroporous hydrogels as new materials for medicine // 1st Russian – «Hellenic Symposium on Polymeric Biomaterials and Bionanomaterials: Recent Advances Safety and Toxicology Issues» [3–5 May, Heraklion], Crete-Greece, Heraklion, 2010.-P.34

1. A.P. Fomina, A.A. Artyukhov, A.S.Golunova, D.E. Lisovyy, M.I. Shtilman. Polymeric hydrogels on the basis of polyvinyl alcohol and starch derivatives. // 1st Russian – «Hellenic Symposium on Polymeric Biomaterials and Bionanomaterials: Recent Advances Safety and Toxicology Issues» [3–5 May, Heraklion], Crete-Greece, Heraklion, 2010.-P.59

2. A.A. Artyukhov, A.S. Golunova, A.N. Kuskov, A.V. Goryachaya, D.E. Lisovyy, M.I. Shtilman. Drug controlled release systems on the basis of macroporous polymeric hydrogels containing nano-aggregates of N-vinylpyrrolidone amphiphilic polymers. Biomaterials and Bionanomaterials: Recent Advances Safety and Toxicology Issues» [3-5 May, Heraklion], Crete-Greece, Heraklion, 2010.-P.59

УДК 544.473:577.15

БИОНАНОМАТЕРИАЛЫ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ВЫЗЫВАЕМЫХ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*: СИНТЕЗ, ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА, ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ В МЕДИЦИНЕ

ФилатоваЛ. Ю., Клячко Н.Л., Кабанов А.В.
Московский государственный университетимениМ.В. Ломоносова, Москва, Россия
119991, Москва, ул. Ленинские горы, д. 1, стр. 11
e-mail: luboff.filatova@gmail.com

Получены наночастицы на основе рекомбинантных антистафилококковых эндолизинов (в том числе химерных генно-инженерных конструкций) и полимеров различной природы. Охарактеризованы структуры белков и полимеров в составе наночастиц, стабильность наночастиц, выявлена высокая эффективность их действия в лизисе (разрушении) клеток антибиотикорезистентных штаммов *Staphylococcusaureus*.

Ключевые слова: наночастицы, полимеры, рекомбинантные эндолизины, Staphylococcus-aureus, эффективность действия

Грамположительная бактерия *Staphylococcus aureus* (золотистый стафилококк) представляет собой распространенный микроорганизм, взаимодействие различных штаммов которого с организмом человека и животных вызывает острые кожные, раневые, респираторные и кишечные заболевания. Ситуация осложняется тем, что 90% штаммов *Staphylococcus aureus* устойчиво к одному и более антибиотикам. В связи с этим возникла проблема поиска альтернативных путей лечения стафилококковых инфекций. Антибактериальные препараты должны обладать такими свойствами как нетоксичность, биоразложимость, стабильность во времени, удобная форма использования (водный раствор, порошок, гель), простота получения.

Наночастицы, содержащие рекомбинантные антистафилококковые эндолизины и полимеры, могут быть предложены в качестве альтернативы антибиотикотерапии. Индивидуальные антистафилококковые эндолизины (ферменты, разрушающие клетки *Staphylococcus aureus*за счет гидролиза химических связей в пептидогликане) не могут быть использованы ввиду их нестабильности, токсичности, иммуногенности. Путем подбора полимернойнаноматрицы удалось понизить токсичность ряда стафилолитических ферментов (LysK, LysPhi11, Lys-LysO). При формировании наночастиц стафилолитических ферментов с полимерами происходит структурирование молекул эндолизинов, это обеспечивает высокую стабильность и эффективность лизиса клеток *Staphylococcusaureus*.

UDC 544.473:577.15

BIONANOMATERIALS FOR *STAPHYLOCOCCAL* INFECTIONS TREATMENT: SYNTHESIS, PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES, THE MEDICAL APPLICATIONS

FilatovaL. Y., KlyachkoN. L., KabanovA. V.
M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia
119991, Moscow, Leninskiegory, 1 – 11
e-mail: luboff.filatova@gmail.com

Nanoparticles were constructed on the base of recombinant antistaphylococcalendolysins (including chimeric constructions) and polymers of different nature. Structures of proteins and polymers in nanoparticles, and the stability of nanoparticles were investigated; high effectiveness of their actions in the lysis (destruction) of cells of antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* strainswas shown.

Keywords: nanoparticles, polymers, recombinant endolysins, Staphylococcusaureus, effectiveness of action

Gram-positive bacteria *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) is a widely distributed microorganism which causes skin, wound, respiratory and intestinal diseases of humans and animals. The situation is complicated by the fact that 90% of *Staphylococcus aureus* strains are resistant to one or more antibiotics. All the above-mentionedcontribute to an intensive search for new ideology of staphylococcal infections treatment. Antibacterial agents must possessa number of importantproperties such as non-toxicity, biodegradability, stability over time, simplicity of synthesis, easy-to-use (aqueous solution, powder, gel).

Nanoparticles containing recombinant antistaphylococcalendolysins and polymers can be offered as an adequate alternative to antibiotics. Individual antistaphylococcalendolysins (enzymes which degrade *Staphylococcus aureus* cells by hydrolysis of chemical bonds in the peptidoglycan) have limited use due to their instability, toxicity, immunogenicity. Toxicity of a number of staphylolytic enzymes (LysK, LysPhi11, LysK-LysO) was reduced via selection of optimal polymer nanomatrices. Protein-polymer interactions provide a high stability of nanoparticles and their efficiency inlysis of *Staphylococcus aureus* cells.

ВЫСОКОПОРИСТЫЕ ПОЛИМЕРНЫЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ МЕДИЦИНЫ И БИОТЕХНОЛОГИИ

Кильдеева Н.Р.[1], Лозинский В.И.[2]
[1]*Московский государственный университет дизайна и технологии, 117997, Москва, Садовническая ул, д. 33, стр.1, email: nkildeeva@yandex.ru*
[2]*Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН 119991 Москва, ул. Вавилова, 28*

Проблема получения высокопористых материалов на основе биодеградируемых и биосовместимых полимеров в последние годы встает наиболее остро в связи с развитием современных реконструктивных медико-биологических технологий, в частности восстановления структурной целостности кожных покровов и мягких тканей, поврежденных в результате ожогов или иных воздействий. Для этой цели используют биополимерные пористые полимерные матрицы. Широкопористые материалы выполняют роль каркаса обеспечивающего поверхность для адгезии и роста клеток, который должен постепенно замещаться формирующимися из этих клеток живыми тканями. Кроме того система сообщающихся пор необходима для интерсификации массопереноса при использовании материала в качестве биосорбента в процессах детоксикации организма или системы контролируемого выделения лекарственного вещества.

Существует целый ряд методов, позволяющих увеличить удельную поверхность полимерного материала, но не все из них пригодны для получения биополимерных материалов.

В докладе рассмотрены три основных метода получения материалов с большим объемом пор: метод фазового разделения, электроформования и криотропного гелеобразования. Метод фазового разделения рассмотрен на примере системы биодеградируемых полиэфиров: полигидроксибутирата и поликапролактона. Из смешанных растворов полиэфиров в хлороформе получены композитные пленки с различным размером пор и градиентным составом, а также нановолокна, обладающие антимикробной и протеолитической активностью. Широкопористые биосорбенты для выделения из растворов радионуклидов получены методом криотропного гелеобразования из растворов аминосодержащего полисахарида хитозана и его производных в присутствии сшивающих реагентов.

HIGHLY POROUS POLYMERIC MATERIALS FOR MEDICINE AND BIOTECHNOLOGY

N.R.Kildeeva[1], V.I. Lozinsky[2]
[1]*Moscow State University of Design and Technology, Moscow,*
e-mail: kildeeva@mail.ru
[2]*A.N. Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds, RAS, Moscow*

A highly porous materials based on biodegradable and biocompatible polymers in recent years has become particularly urgent owing to the development of modern reconstructive biomedical technologies: when restoring the structural integrity of the skin and soft tissues damaged by burns or other influences.

For this purpose use biodegradable porous polymer matrix. Porous materials act as a skeleton for the surface for adhesion and cell growth, which should gradually replace evolving from these cells living tissues. In addition, the system of interconnected pores is required for mass transfer when using the material as a sorbent in detoxification of the body or of drug controlled release system.

There are a number of techniques to increase the specific surface of a polymer material, but not all of them are suitable for biopolymer materials.

The report discusses the three main methods of obtaining porous polymeric materials: a method of phase separation, electrospinning and the preparation of composite cryogels method. Phase separation method is considered on the example of the mixture of biodegradable polyesters: polyhydroxybutyrate and polycaprolactone. Mixed solutions of polyesters in chloroform received composite film with different pore size and composition, as well as the repetition of nanofibers with antimicrobial and proteolytic activity. Highly porous biosorbent for selection of radionuclides produced by cryogelation of chitosan in the presence of cross-linking reagents.

УДК: 615.462-036.5

БИОДЕГРАДИРУЕМЫЕ ПРОТИВОСПАЕЧНЫЕ МЕМБРАНЫ, ОБЛАДАЮЩИЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫМ ЭФФЕКТОМ

Насонова М.В.[1], Ходыревская Ю.И.[1], Бураго А.Ю.[1], Доронина Н.В.[2], Ежов В.А.[2], Кудрявцева Ю.А.[1]
[1]*Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, г. Кемерово, Россия*
650002, г. Кемерово, Сосновый бульвар, 6
E-mail: kudrua@kem.cardio.ru
[2]*Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К.Скрябина РАН, г. Пущино, Московская область, Россия*

Включение дипиридамола в состав противоспаечных мембран, на основе биодеградируемого полигидроксибутирата/оксивалерата, способствует последующему равномерному выделению препарата в окружающие ткани, снижает воспалительную реакцию и позволяет снизить риск образования спаек.

Ключевые слова: спаечный процесс; биодеградируемые мембраны; биосовместимые полимеры; противовоспалительный эффект.

Цель. изучение противовоспалительных и антиадгезивных свойств биодеградируемых противоспаечных мембран на основе полигидроксибутирата/оксивалерата и дипиридамола.

Материалы и методы: Мембраны изготовлены на основе 8% раствора полигидроксибутирата/оксивалерата (ПГБВ) с молекулярной массой 404 кДа на установке для электроспиннинга Nanon 01A. Концентрация дипиридамола (ДП) – 0,5 мг/мл. Препарат включали во внутреннюю часть волокна. Структуру волокна изучали при помощи люминесцентного микроскопа «Axio Imager.A1» (Carl Zeiss). Для оценки противовоспалительной активности, мембраны имплантировали внутрибрюшинно крысам-самцам Wistar (300–350 г., n=30). Через 14 и 28 суток в сыворотке крови методом ИФА оценивали TNF α, Il 6 и MCP-1. Биоптаты мембран забирали с окружающими тканями для гистологического изучения.

Результаты. При использовании коаксиальной насадки дипиридамол содержится только во внутренней части волокна. При имплантации мембран ПГБВ достоверно повышается уровень TNFα (p=0,027) и IL6 (p=0,014), в тоже время, животным, которым имплантировали мембраны ПГБВ+ДП, уровень TNFα (p=0,62) и IL6 (p=0,14) не имел достоверных отличий от контрольной группы. Уровень MCP-1 свидетельствовал о минимальной воспалительной реакции на имплантацию мембран ПГБВ и ПГБВ+ ДП. Макроскопически через 28 суток после имплантации в 60% случаев не обнаружено спаек между мембраной и брюшной полостью. Сопоставление реакции тканей на мембраны из ПГБВ, ПГБВ+ДП показывает значительно лучшую реакцию тканей на мембраны, содержащие лекарственный препарат во внутренней структуре волокна.

Выводы. Противоспаечные мембраны на основе ПГБВ обладают высокими биосовместимыми свойствами, вызывают умеренную воспалительную реакцию. Включение в состав мембраны дипиридамола уменьшает воспалительную реакцию, ускоряет сроки деградации мембран и позволяет снизить риск образования послеоперационных спаек.

УДК: 615.462-036.5

BIODEGRADABLE ANTI-ADHESION MEMBRANES WITH ANTI-INFLAMMATORY ACTION

M.V. Nasonova[1], Y.I. Khodyrevskaya[1], A.Yu. Burago[1], N.V. Doronina[2], V.A. Ezhov[2], Y.A. Kudryavtseva[1]

[1]*Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Disease, Kemerovo, Russia*
650002, Kemerovo, Sosnovy boulevard, 6
E-mail: kudrua@kemcardio.ru
[2]*Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, RAS,*
Puschino, Moscow reg., Russia

Dypiridamol inclusion in anti-adhesion membranes based on biodegradable polyhydroxibutirate/oxivalerate copolymer promotes subsequent even excretion of the preparation into surrounding tissues, reduces inflammatory process and the risk of adhesion formation.

Keywords: adhesion formation, biodegradable membranes, biocompatible polymers, anti-inflammatory action.

Aim. Biodegradable anti-adhesion membranes based on polyhydroxibutirate/oxivalerate and Dypiridamol. Study of anti-inflammatory and adhesive properties.

Materials and methods.

The membranes are produced using 8% polyhydroxibutirate/oxivalerate solution (PHBV) of 404 kDa molecular weight in an electrospinning apparatus Nanon 01A. Dypiridamol (DP) concentration makes up 0.5 mg/ml. The preparation is introduced within the fiber. The fiber structure was studied with Axio Imager.A1 luminous microscope (Carl Zeiss). To estimate the anti-inflammatory action

the membranes were implanted intraperitoneally in Wistar male rats (300–350 g., n=30). The ELISA method was used in 14 and 28 days to evaluate TNF α, IL6 и MCP-1. Membrane/surrounding tissue samples were then extracted for further histological study.

Results. With the coaxial setting, dypiridamol is only contained within a fiber. Implantation of PHBV membranes significantly increases TNFα (p=0,027) и IL6 (p=0,014) levels. Whereas in the animals that had received PHBV+DP membrane implants TNFα and IL6 levels were not significantly different from the controls – p=0,62 and p=0,14 resp. The MCP-1 level proved minimum inflammatory reaction to PHBV, PHBV+DP membrane implantation. In 60% of cases no adhesions were microscopically found between membranes and the abdominal cavity in 28 postoperative days. Comparative study of the PHBV, PHBV+DP membranes showed much lesser inflammatory effect of those containing the preparation within fibers.

Conclusions. Anti-adhesion PHBV membranes are highly biocompatible only causing moderate inflammatory reaction. Dypiridamol introduction in a membrane reduces inflammation, accelerates membrane degradation and reduces the risk of postoperative adhesion formation.

УДК 615.468.72

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСПЛУАТАЦИОННЫХ СВОЙСТВ БИОМАТЕРИАЛОВ В ФОРМЕ ГУБОК, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В КАЧЕСТВЕ ПЕРЕВЯЗОЧНЫХ СРЕДСТВ

Легонькова О.А.[1], Васильев В.Г.[2], Асанова Л.Ю.[1]
[1]*ФГБУ «Институт хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России, Москва, Россия*
117997, Москва, ул. БольшаяСерпуховская, д. 27
e-mail: ospolimed@mail.ru
[2]*ФГБУ «Институт элементоорганических соединений имени А.Н. Несмеянова Российской академии наук» (ИНЭОС РАН), Москва, Россия.*
119991, ГСП-1, Москва, В-334, ул. Вавилова, 28

Проведены технические испытания перевязочных средств в форме губок различных производителей, с целью сравнения эксплуатационных свойств.

Ключевые слова: перевязочные средства, деформационно-прочностные характеристики, эксплуатационные свойства.

Раневой процесс представляет собой сложный комплекс разнообразных защитных реакций, которые развиваются в организме в ответ на повреждение тканей [1]. При лечении ран различной этиологии применяются и разные перевязочные средства.

Поэтому целью работы являются сравнительные испытания эксплуатационных свойств повязок производителей: Urgo, Starmedix, Cellonex, Baymedix, Advancismedical, Smith&Nephew, Cureamedical, Vancive, ООО НПП «Наносинтез», ОАО «Асфарма», ООО «НПЦ Амфион». Повязки дифференцируются по назначению для ран с различным количеством выделяющегося экссудата: высоко-, средне-, низкоэкссудирующие.

Поглощающая способность перевязочных средств зависит от материала. Например, впитывающий слой повязки Cureamedical из целлюлозы с поверхностной плотностью 481,2±26,6 г/м^2, его поглощающая способность равна 41,8±2,6 г/г; у полиуретана с поверхностной плотностью в 293,1±0,2 г/м^2, поглощающая способность равна 15,1±0,5 г/г.

Что касается деформационно-прочностных характеристик, результат закономерен: с увеличением поверхностной плотности увеличивается прочность образцов. Численные значения

модулей упругости при растяжении имеют одинаковый порядок, при этом губки обладают близкими значениями впитывающей способности в пределах доверительных интервалов.

Из результатов исследования стало очевидно, что модуль упругости является определяющим критерием атравматичности перевязочного материала; губки, предназначенные для средне- и низкоэкссудирующих ран могут быть рекомендованы и для высокоэкссудирующих ран, будучи атравматичными для самой раны, при этом обладая примерно одинаковой поглощающей способностью.

Список литературы

1. Биологически активные перевязочные средства в комплексном лечении гнойно-некротических ран/ под ред. В.Д. Федорова– М.: МЭ РФ, 2000, 37 с.

INVESTIGATION OF OPERATIONAL PROPERTIES OF BIOMATERIALS IN THE FOAM FORM, USED AS WOUND DRESSINGS

Legonkova O.A.[1], Vasil'ev V. G.[2], Asanova L.Y.[1]
[1]*The A.V.Vishnevsky Institute of Surgery, Moscow, Russia, 117997, Moscow, BolshayaSerpukhovskaya Street, 27*
e-mail: ospolimed@mail.ru
[2]*The A.N.Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds of Russian Academy of Sciences (INEOS RAS), Moscow, Russia, 119991, GSP-1, Moscow, V-334, Vavilova Street, 28.*

Trials of wound dressings in the form of foams from different manufactures were carried out to compare operational properties.

Keywords: wound dressing, deformation and strength characteristics, operational properties.

Wound healing process is a complex variety of defensive reactions, being developed in organism, in response to tissue damage [1]. In treatment of wounds with different etiology different wound dressings are used.

Therefore the target of the investigation is to compare trials of operational properties of wound dressings from different manufactures: Urgo, Starmedix, Cellonex, Baymedix, Advancis medical, Smith&Nephew, Curea medical, Vancive, Russia. Wound dressings are varied in the purpose for wounds with different amounts of releasing exudate: high, medium and low.

Swelling behavior depends on the material. For example, absorbent layer of Curea medical wound dressing, made from cellulose, with surface density of 481,2±26,6 g/m^{2}has swelling capability equal to 41,8±2,6 g/g. And polyurethane with surface density 293,1±0,2 g/m^2 has swelling capability equal to 15,1±0,5g/g.

As for deformation and strength characteristics the result is appropriate: with increasing of surface density, the strength of the sample increases. The numerical values of the tensile modules are of the same order and foams have similar values of swelling capability within confidence intervals.

From the results of the investigation it became evident, that tensile modulus is a determinative atraumatic criterion of wound dressings; foams for medium and low exudating wounds can be recommended for high exudating wounds, being atraumatic to the wound itself and having approximately identical swelling capability.

List of references

1. Biologically active wound dressings in complex treatment of purulent-necrotic wounds/by Fedorov V.D. – M.: MERF, 2000, 37 p.

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ БЕЗОПАСНОСТИ ДЛЯ РАЗРАБАТЫВАЕМЫХ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ ИЗ БИОМАТЕРИАЛОВ

Перова Н.В., д.б.н.
Институт медико-биологических исследований и технологий (АНО) Москва

Безопасность медицинских изделий (МИ) в современном аспекте рассматривается с точки зрения менеджмента риска. Такой подход объединяет рассмотрение и оценку существующих данных по материалу (изделию) из всех источников, включая литературные. Может потребоваться выбор и применение, по необходимости, дополнительных испытаний, что позволяет провести полную оценку биологических ответов, относящихся к безопасности МИ при использовании. Взаимодействия с тканями, признанные неблагоприятными, вызванные материалом в одном применении, могут не являться таковыми в другой ситуации. По мере роста научных знаний и нашего понимания основных механизмов тканевых ответов, такой подход снижает количество и использование лабораторных животных, отдавая предпочтение исследованиям химического содержания и моделям *invitro*, в ситуациях, где таковые методы производят сходные данные с полученными на моделях *invivo*.

Дополнительные испытания *invivo* согласноновой тенденции не проводятся, если: 1) доступны результаты соответствующих ранее проведенных испытанийили 2) существующие доклинические и клинические данные, включая историю безопасного применения, отвечают требованиям биологической оценки, что, таким образом, делает испытания на животных неэтичными. При оценке применимости данных предыдущего использования материала к биологической оценке, необходимо учитывать степень уверенности в используемых данных.

Наиболее частые ошибки, встречающиеся при планировании испытаний, – это чрезмерные требования (исследования биосовместимости для продукции не имеющий контакта с пациентом), недооценка риска от применения (если продукция имеет модельный ряд, где отличиями является добавка того или иного химического элемента или компонента, либо обработка поверхности). Самый распространенный пример: металлические штифты для травматологии или ортопедии с гладкой или модифицированной поверхностью. Модификация в зависимости от метода (лазер, плазма или химическое покрытие) может существенно влиять на биосовместимость.

Полная оценка безопасности МИ с позиции возможных рисков с одной стороны повышает надежность применения, а с другой оптимизирует и удешевляет программу исследований, хотя на первый взгляд это кажется странным.

TOPICAL ISSUES (QUESTIONS) OF SAFETY FOR THE DEVELOPED MEDICAL DEVICESBASED ON BIOMATERIALS

Perova N.V., Dr. Sci. Biol.
Institute of medicobiological researches and technologies
(Autonomous Non-Commercial Organization) Moscow

Now days, safety of medical devices is considered risk management from point of view. Such approach unites consideration and assessment of existing data concerning material (product) from all aspects, including the literary. The choice and application of additional tests can be demanded additionally, that allows to carry out full assessment of the biological answers relating to safety of medical devices being used. The interactions with tissues caused by material being considered as adverse,

could be used in other applications. In process of growth of scientific knowledge and our understanding of the main mechanisms of tissues answers such approach reduces quantity and use of laboratory animals, giving preference to researches of the chemical contents and *in vitro* models, in situations where those methods make similar data with received on *in vivo* models.

Additional tests of *in vivo* according to a new tendency are not carried out, in cases: 1) the results of the corresponding earlier carried out tests are available, or 2) the existing preclinical and clinical data, including history of safe application, meet the requirements of a biological assessment that does tests for animals unethical. It is necessary to consider the degree of confidence in the used data at an assessment of applicability of data of the previous use of material in biological assessment.

The excessive requirements (investigations of biocompatibility for production not having contact with the patient), underestimation of risk from application (if production has a model range where differences is the additive of this or that chemical element or a component, or processing of a surface) are the most frequent mistakes. Metal pins for traumatology or orthopedics with the smooth or modified surface are the most widespread examples. Method of modification (the laser, plasma or a chemical covering) can significantly influence biocompatibility.

The full assessment of safety of medical devices increases reliability of application from a position of possible risks, on the one hand, and from another one optimizes and reduces the price of the program of researches, though at first sight it seems strange.

УДК 541.124:542.952.6:547.313

СИНТЕЗ МОЛЕКУЛЯРНО ИМПРИНТИРОВАННЫХ ПОЛИМЕРНЫХ СОРБЕНТОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИИ

Полякова И.В.[1], **Осипенко А.А.**[2], **Боровикова Л.Н.**[1], **Ежова Н.М.**[1], **Писарев О.А.**[1,2]
[1]*Институт высокомолекулярных соединений Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия, 199004, Санкт-Петербург, В.О. Большой пр., 31*
[2]*Санкт-Петербургский государственный политехнический университет, Санкт-Петербург, Россия, 195251, Санкт-Петербург, Политехническая ул., 29*
pol_irina_val@list.ru

Разработаны методы синтеза блочных и гранульных гибридных органо-неорганических полимерных сорбентов, молекулярно импринтированных холестерином (ХС-МИПов). Наиболее высокая селективность сорбции холестерина (ХС) из плазмы крови *in vitro* достигалась на гранульном ХС-МИПе, и была обусловлена амфифильной структурой сорбента и локализацией специфичных к ХС импринт-сайтов в ограниченном поверхностном слое гранул.

Ключевые слова: гиперхолестеринемия, молекулярный импринтинг, селективные сорбенты, гемосорбция.

Для эфферентного экстракорпорального лечения гиперхолестеринемии необходимо создание гемосовместимых и клинически эффективных сорбентов, селективно удаляющих ХС из крови. В последнее время молекулярный импринтинг активно используется как метод создания высокоселективных сорбентов, имитирующих природные рецепторы. Целью нашей работы являлось создание гемосовместимых ХС-МИПов. Были исследованы два подхода: 1) молекулярный импринтинг в полимерном блоке на основе гемосовместимых мономеров 2-гидроксиэтилметакрилата (ГЭМА) и диметакрилата этиленгликоля (ДМЭГ); 2) молекулярный импринтинг в полимерном слое ГЭМА-ДМЭГ, формирующемся на поверхности наночастиц селена (Se).

Сравнительный анализ физико-химических и сорбционных свойств синтезированных ХС-МИПов и их неимпринтированных аналогов свидетельствовал о формировании в импринтированных матрицах сорбционных сайтов с большим сродством к ХС. Это способствовало более высокой селективности сорбции ХС из плазмы крови *in vitro* на импринтированных полимерах по сравнению с контрольными неимпринтированными полимерами.

УДК 541.124:542.952.6:547.313

SYNTHESIS OF MOLECULARLY IMPRITNTED POLYMER SORBENTS FOR TREATING HYPERCHOLESTEROLIMIA

Polyakova I.V.[1], **Osipenko A.A.**[2], **Borovikova L.N.**[1], **Ezhova N.M.**[1], **Pisarev O.A.**[1,2]
[1]*Institute of macromolecular compound of Russian Academy of sciences, Saint-Petersburg, Russia, 199004, Saint-Petersburg, V.O. Bolshoi pr., 31*
[2]*Saint-Petersburg state polytechnic university, Saint-Petersburg, Russia, 195251, Saint-Petersburg, Polytechnicheskaya str., 29*
pol_irina_val@list.ru

The methods of synthesis of block and granular hybrid organic-inorganic polymer sorbents, molecular imprinted with cholesterol (Ch-MIPs) are elaborated. The highest sorption selectivity of cholesterol (Ch) from the blood plasma *in vitro* was achieved at the granular Ch-MIP, and was caused by the amphiphilic structure of the sorbent and the location of the specific to Ch imprint sites in a limited surface layer of granules.

Keywords: hypercholesterolemia, molecular imprinting, selective sorbents, hemosorption.

For efferent extracorporeal treating hypercholesterolemia it is necessary to create hemocompatible and clinically effective sorbents that selectively remove Ch from the blood. Recently, molecular imprinting has widely been used as a method of creating high selective sorbents mimicking natural receptors. The purpose of our work was to create hemocompatible Ch-MIPs. Two approaches were investigated to synthesize the Ch-MIPs: 1) bulk polymerization based on biocompatible monomers 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) and ethylene glycol dimethacrylte (EGDMA); 2) molecular imprinting in the HEMA-EGDMA polymer layer that is formed on the surface of the nanoparticles of selenium (Se). Comparative analysis of the physico-chemical and sorption properties of synthesized Ch-MIPs and their non-imprinted analogues evidenced of forming sorption sites with high affinity to Ch in the imprinted matrices. This contributed to the higher adsorption selectivity of Ch from the blood plasma *in vitro* on imprinted polymers as compared to control non-imprinted polymers.

УДК 533.9.07

БИОКОМПОЗИТЫ НА ОСНОВЕ КАЛЬЦИЙ ФОСФАТНЫХ ПОКРЫТИЙ, НАНОСТРУКТУРНЫХ И УЛЬТРАМЕЛКОЗЕРНИСТЫХ БИОИНЕРТНЫХ МЕТАЛЛОВ, ИХ БИОСОВМЕСТИМОСТЬ И БИОДЕГРАДАЦИЯ*

Псахье С.Г.[1,2], **Шаркеев Ю.П.**[1,2]

[1]*Институт физики прочности и материаловедения Сибирского отделения Российской академии наук (ИФПМ СО РАН), Томск, Россия*
634055, г. Томск, пр. Академический, 2/4, e-mail: sharkeev@ispms.tsc.ru
[2]*Национальный исследовательский Томский политехнический университет, Томск, Россия*
634050, г. Томск, пр. Ленина, 30

Представлены результаты исследования и разработки биокомпозитов на основе кальций-фосфатных покрытий и ультрамелкозернистых биоинертных сплавов. Изучены закономерности формирования кальцийфосфатных покрытий методами микродугового оксидирования. Исследованы аспекты электрохимической, трибологической и биологической деградации биокомпозитов. Описаны результаты медицинских испытаний комплекта дентальных имплантатов из ультрамелкозернистого титана с микродуговым покрытием на основе фосфатов кальция.

Ключевые слова: биокомпозит, ультрамелкозернистый титан, покрытие, фосфаты кальция, структура, свойства, биосовместимость, биодеградация

В современной медицинской практике широко используются имплантаты, которые состоят из биоинертных металлов (титан, цирконий, ниобий) и их сплавов и биосовместимого покрытия на основе фосфатов кальция.

Комбинированный метод интенсивной пластической деформации, включающий abc-прессование и последующую многоходовую прокатку, применен, чтобы сформировать в биоинертной матрице ультрамелкозернистое состояние со средним размером элементов зеренно-субзеренной структуры 0,1–0,2 мкм, что приводит к значительному улучшению физико-механических характеристик (микротвердость, предел упругости, предел прочности, усталостная прочность, циклическая долговечность) в 1,5–2,5 раза.

Предварительная подготовка поверхности, включающая пескоструйную обработку и химическое травление, позволяет сформировать требуемую пористую поверхность и повысить адгезионную прочность кальцийфосфатных покрытий, полученных методом микродугового оксидирования, в 1,5–2 раза.

Для придания биоактивных свойств имплантатам и усиления их остеоинтеграции с костной тканью на их поверхность наносят кальцийфосфатное покрытие, содержащие в своем составе «родные» для костных тканей соединения фосфатов кальция. Эффективный и простой метод микродугового оксидирования в водных растворах электролитов предложен для получения кальцийфосфатных покрытий с хорошими физико-химическими свойствами на поверхности имплантатов сложной формы.

Покрытия на основе фосфатов кальция являются биосовместимыми и способствуют остеоинтеграции с костной тканью. При этом фазовый состав и кристалличность покрытий являются менее значимыми и определяющими факторами для контроля биоинженерии костной ткани по сравнению с его рельефом. Выявлен оптимальный диапазон шероховатости кальцийфосфатных покрытий, Ra = 2–3 мкм, способствующий остеогенной дифференцировке стромальных стволовых клеток. Микродуговое кальцийфосфатное покрытие на поверхности ультрамелкозернистой

подложки снижает величины коррозионных токов в области пассивации в физиологических солевых растворах.

На основе экспериментальных результатов рассмотрены модели физико-механических процессов, контролирующих рост покрытий и их растворение в биологической жидкости, и механических свойств кальцийфосфатных покрытий.

Для описания деформации и разрушения пористых кальцийфосфатных покрытий предложены многоуровневые модели на основе метода подвижных клеточных автоматов. Покрытия рассматриваются как иерархически организованные пористые материалы. На основе построенных моделей исследованы эффективные прочностные и упругие свойства покрытий с учетом распределения элементного состава по глубине покрытия, а также особенности их деформации и разрушения при различных типах механического нагружения.

Приведены примеры применения биокомпозита на основе наноструктурного и ультрамелкозернистого титана и кальцийфосфатных покрытий в медицинской практике.

Авторы признательны коллегам за участие в выполнении работы на всех ее этапах, обработке и обсуждении результатов и подготовке публикаций.

*Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Программы фундаментальных исследований СО РАН 2013-2016, III.23.2.

UDK 533.9.07

BIOCOMPOSITES ON THE BASE OF CALCIUM-PHOSPHATE COATINGS, NANOSTRUCTURED AND ULTRAFINE GRAINED BIOINERT METALS, THEIR BIOCOMPTABILITY AND BIODEGRADATION*

Psakhie S.G.[1,2], **Sharkeev Yu.P.**[1,2]

[1]*Institute of Strength Physics and Materials Science of Siberian Branch Russian Academy of Sciences (ISPMS SB RAS), Tomsk, Russia,*
634055, Tomsk, 2/4, pr. Akademicheskii, e-mail: sharkeev@ispms.tsc.ru

[2]*National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk,*
Russia, 634050, Tomsk, Lenin Avenue, 30

The results research and development of biocomposites based on calcium-phosphate coatings and ultrafine-grained bioinert alloys are presented. The regularities of the formation of calcium-phosphate coatings by the method of micro-arc oxidation were studied. Electrochemical, tribological and biological degradation of biocomposites is analyzed. Results of medical tests of dental implants from ultrafine-grained titanium with micro-arc calcium phosphate coatings are described.

Keywords: biocomposite, ultrafine grained titanium, biocoating, calcium phosphates, structure, properties, biocompatibility, biodegradation

In modern medical practice implants consisting of bioinert metals (titanium, zirconium, or niobium) and their alloys and biocompatible coatings based on calcium phosphates are widely used.

The combined method of severe plastic deformation including abs-pressing and subsequent multiple rolling is used to form an ultrafine-grained state with average size of grain-subgrain structure elements 0.1–0.2 mm in the bioinert matrix. This leads to a considerable improvement of the physicomechanical characteristics (microhardness, elasticity limit, ultimate strength, fatigue strength, and cycle life) by a factor of 1.5–2.5.

The preliminary preparation of the surface, including sandblasting and chemical etching, allowed the required porous surface to be formed and the adhesive strength of calcium phosphate coatings to be increased by the method of microarc oxidation by a factor of 1.5–2.

To bioactivate implants and to strengthen their osteointegration with bone tissue, the calcium phosphate coating containing calcium phosphate compounds native to bone tissues were deposited on their surface. The efficient and simple method of microarc oxidation in aqueous solutions of electrolytes was suggested to obtain calcium phosphate coatings with good physical and chemical properties on the implant surface with complicated shape.

The coatings based on calcium phosphates are biocompatible and promote osteointegration with bone tissue. Moreover, the phase composition and crystallinity of coatings are less important factors for bioengineering of the bone tissue in comparison with the coating relief. The optimal range of roughness of the calcium phosphate coatings, Ra = 2–3 mm, that promoted osteogenous differentiation of stromal stem cells, was established. The microarc calcium phosphate coating on the surface of the ultrafine-grained substrate reduced corrosion currents in the region of passivation in physiological salt solutions.

Based on the experimental results, models of the physicomechanical processes regulating the growth of coatings and their dissolution in biological liquids are considered togather with the mechanical properties of calcium phosphate coatings.

To describe the deformation and destruction of porous calcium phosphate coatings, multilevel models were suggested based on the method of mobile cellular automation. The coatings were considered as hierarchically organised porous materials. Based on the constructed models, the effective strength and elastic properties of coatings were investigated taking into account the depth distribution of elemental composition of the coating and the salient features of their deformation and destruction upon mechanical loading of various types.

Examples of the biocomposite based on nanostructured and ultrafine-grained titanium and calcium phosphate coatings used in medical practice are presented.

The authors are grateful to their colleagues for participation in this work in all stages, processing, and discussion of the results obtained and preparation of publications.

**This work was carried out partially under financial* support *of the Russian Basic Research Program* of *SB RAS* 2013-2016, III.23.2.

УДК 544.72-024

ПРИМЕНЕНИЕ КОМПОЗИЦИОННЫХ ПОЛИМЕРНЫХ ЧАСТИЦ ПРИ РАЗРАБОТКЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ТЕСТ-СИСТЕМ

Волкова Е.В.[1], **Гусев С.А.**[1], **Грицкова И.А.**[2]

[1]*ФГБУН «Научно-исследовательский институт физико-химической медицины ФМБА России», Россия, г. Москва*

[2]*ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова», Россия, г. Москва*

119435, Россия, г. Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1А

e-mail: ek.vl.volkova@gmail.com

Предложен новый тип частиц носителей биолигандов и показана возможность их использования в диагностических тест-системах

Ключевые слова: композиционные полимерные частицы, реакция пассивной латексной агглютинации (РПЛА), дифтерийный латексный диагностикум

Был предложен новый подход к созданию частиц полимерного носителя биолигандов, суть которого заключалась в получении композиционных полимерных частиц путем формирования на поверхности полимерных микросфер большого диаметра оболочки из полимерных частиц малого диаметра за счет химического связывания функциональных групп, содержащихся в их поверхностном слое [1].Для этого были использованы полимерные микросферы со средним диаметром 5 мкм, полученныеметодом затравочной полимеризации стирола в присутствии аминосодержащего кремнийорганического гемини-ПАВ, и полимерные частицы со средним диаметром 0,4 – 0,7 мкм, синтезированные методом гетерофазной полимеризации стирола в присутствии того же функционального кремнийорганического гемини-ПАВ [2].

На основе полученных композиционных частиц была разработана диагностическая тест-систем для определения уровня антител к дифтерийному анатоксину методом реакции пассивной латексной агглютинации. Результаты определения специфической активности с помощью контрольной противодифтерийной сыворотки (10 МЕ/мл) показали, что полученная диагностическая тест-система является более чувствительной (титр 1:51200), чем существующие гемагглютинационные диагностикумы (титр 1:6400).

Литература:

1. Волкова Е.В.Создание диагностических тест-систем с использованием полимерных микросфер: дис…. канд. хим. наук. – М., 2014. – С. 89–97.

2. Прокопов Н.И., Грицкова И.А., Черкасов В.Р., Чалых А.Е.Синтез монодисперсных функциональных полимерных микросфер для иммунодиагностических исследований // Успехи химии. – 1996. – Т. 65., №. 2. – С. 178-192.

УДК 544.72-024

RASPBERRY-LIKE POLYMER PARTICLES AND THEIR APPLICATION TO DIAGNOSTIC ASSAYS

Volkova E.V.[1], **Gusev S.A.**[1], **Gritskova I.A.**[2]
[1]*The Scientific Research Institute of Physical-Chemical Medicine, Russia, Moscow*
[2]*Lomonosov Moscow State University of Fine Chemical Technologies, Russia, Moscow*
1A Malaya Pirogovskaya str., Moscow, Russia, 119435
ek.vl.volkova@gmail.com

A new type of polymer particles and their application as carriers for biomolecules to diagnostic assays have been described

Keywords: raspberry-like polymer particles, reaction of passive latex agglutination (RPLA), diphtheria latex agglutination assay

A new type of polymer particles with a raspberry-like structure and their application as carriers for biomolecules have been developed. In general, raspberry-like polymer particles were fabricated by formation of small-size polymer particle shell on the surface of large-size polymer particle core by covalent binding between their surface functional groups. Two types of polymer particles were used: polymer microspheres with average size of 5 μm prepared by seeded polymerization of styrene in the presence of amino-functional organosilicon surfactant andpolymer particles with average size of 0.4 – 0.7 μm prepared by heterophase polymerization of styrene in the presence of the same surfactant.

Raspberry-like polymer particles with surface amino groups were used ina passive latex agglutination assay fordetection of specific antibodies to diphtheria toxoid. The titration of standard antidiphtheria sera (10 IU/ml) showed that the latex agglutination assay is more sensitive (titer of standard antisera 1:51200) thanhemagglutination assays (titer of standard antisera 1:6400).

Литература:

1. Волкова Е.В.Создание диагностических тест-систем с использованием полимерных микросфер: дис…. канд. хим. наук. – М., 2014. – С. 89–97.

2. Prokopov N.I., Gritskova I.A., Cherkasov V.R., Chalykh A.E.Synthesis of monodispersefunctional polymeric microspheres for immunoassay // Russ. Chem. Rev. – 1996. – V. 65., №. 2. – P. 167-181.

ПОСТЕРЫ
POSTERS

УДК 577.15.08+606.61:677.494

СТАБИЛИЗАЦИЯ ХИТОЗАНОМ И ЛИЗАТОМ КЛЕТОК *HALOBACTERIUM SP.* ПРОТЕИНАЗ ИЗ ГЕПАТОПАНКРЕАСА КРАБА, ИММОБИЛИЗОВАННЫХ НА ЦЕЛЛЮЛОЗНЫХ НОСИТЕЛЯХ

Досадина Э.Э., Каленов С.В., Белов А.А.
РХТУ им. Д.И.Менделеева, каф. биотехнологии; НИИ текстильных материалов
Москва, РФ, 125480, Москва, ул. Героев Панфиловцев, д. 20, корп. 1
E-mail: ABelov2004@ yandex.ru

Получены иммобилизованные на хитозансодержащей диальдегидцеллюлозе производные гидролаз из гепатопанкреаса краба. Показана стабилизация хитозаном и лизатом клеток Halobacterium sp. иммобилизованных ферментов в процессе хранения и термоинактивации при повышенной температуре.

Ключевые слова: хитозан, диальдегидцеллюлоза, иммобилизация, медицина, Halobacterium sp.

Стабильность лекарственных форм и фармацевтических препаратов в процессе хранения определяется "сроком годности", в течение которого уровень качественных и количественных изменений характеристик лекарственной формы достигает предела, определяемого требованием действующей Государственной Фармакопеи или иной НТД на данное медицинское изделие.

Были синтезированы хитозан (Хт) содержащие целлюлозные носители содержащие иммобилизованные протеиназы гепатопанкреаса краба (ПК). Использованные нами Хт и его производные обладают биоцидными свойствами по отношению к широкому спектру микроорганизмов раневого отделяемого (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*). Исследована кинетика выхода Хт с целлюлозной матрицы в присутствии глицерина(Гл) и без. Гл способствует закреплению Хт на матрице. Максимальное количество Хт выходит в жидкую среду (pH 6,2) в первые часы. Впервые для стабилизации ферментативной активности использован лизат клеток галобактерий, которые могут синтезировать каротиноиды, обладающие антиоксидантной активностью, клеточные метаболиты могут обладать протекторными свойствами в отношении ферментов ПК. Изучено влияние Хт и лизата биомассы галобактерий на ферменты ПК. Полученные данные показывают, что лизированные клетки галобактерий не влияют на ферментативную активность ПК. Оценка биоцидных свойств хитозансодержащих целлюлозных носителей с иммобилизованным Хт, ПК и Хт показала, что Хт в присутствии ферментов ПК, Гл, лизата клеток галобактерий теряет свои антимикробные свойства.

THE CHITOSAN AND HALOBACTERIUM CELL LYSATE STABILIZATION OF THE CRAB HEPATOPANCREATIC PROTEINASES IMMOBILIZED ON THE CELLULOSE CARRIERS

Dosadina E.E., Kalenov S.V., Belov A.A.
MUCTR, ch. Biotechnology, Research Institute of textile materials, Moscow, Russian Federation
E-mail: ABelov2004@ yandex.ru

It was obtained the hydrolases derivatives from the Crab hepatopancreatic proteinases immobilized on the chitosan containing dialdehydecellulose. It was shown that chitosan and halobacterium cell lysate stabilize the immobilized enzymes in the process of the storage and thermoinactivation at high temperature.

Keywords: chitosan, chitosan-coated dialdehydecellulose, proteinases, medical applications

The medicine and pharmaceutical chemicals stability is determined by its shelf life which is limited by the level of the quantitative and qualitative changes in the medicine's properties.

The chitosan and its derivatives are known to have antibacterial activity against a wide range of microorganisms which can be found in the wound: (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*). The kinetics of a chitosan release from the cellulose devices in the presence and absence of glycerin. The results indicate that glycerin promotes a better chitosan fixing on the matrix. The maximum of chitosan releases in the fluid (pH=6.2) during the first hours. For the first time the halobacterium cell lysate was used for the enzyme's activity stabilization. The halobacterium can synthesize carotinoids which are known to have an antioxidant activity, cell metabolites also seem to have some protective properties towards PC enzymes. It was also investigated the chitosan and halobacterium cell lysate influence on the PC enzymes. The results obtained show that halobacterium lysed cells don't have any effect on the on the PC enzymatic activity. The estimate of the antibacterial properties of the chitosan-containing cellulose carriers with chitosan and chitosan-PC immobilized on the matrix showed that chitosan loses all its bactericidal properties in the presence of the enzymes, glycerin and halobacteruim cell lysate.

УДК 543.421/.424, 577.352.24

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СТЕПЕНИ ПЭГИЛИРОВАНИЯ БИОМАКРОМОЛЕКУЛ НА ОСНОВЕ ИК-СПЕКТРОСКОПИИ ФУРЬЕ

Дейген И.М., Кудряшова Е.В.
Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия
119991, Москва, Ленинские горы, 1
e-mail: i.m.deygen@gmail.com

Разработан новый универсальный подход к определению степени ПЭГилирования биомолекул, основанный на ИК-спектроскопии Фурье. Предлагаемый метод основан на анализе интенсивности характеристической полосы поглощения С-О-С связи в цепи ПЭГ, представленной в ИК-спектрах ПЭГилированных соединений. Применимость разработанного подхода продемонстрирована на примере ПЭГ-хитозана (ММ хитозан 15 и 90 кДа, ММ ПЭГ – 5 кДа) и нековалентных электростатических комплексов ПЭГ-хитозана с анионными липосомами 80% ДПФХ, 20% кардиолипина.

Ключевые слова: ПЭГилрование, ИК-спектроскопия, анионные липосомы, хитозан

ПЭГилирование является наиболее широко применяемым подходом к регуляции свойств биомолекул. Для разработки и успешного применения ПЭГилированнных молекул в биотехнологии и медицине необходимо иметь высокопроизводительный и чувствительный метод определения содержания ПЭГ в различных системах. Нами разработан новый эффективный подход для определения степени ПЭГилирования биомолекул с применением ИК спектроскопии Фурье. Метод основан на анализе интенсивности характеристической полосы поглощения С-О-С связи в ИК спектре ПЭГ. Применимость данного похода была продемонстрирована на примере конъюгатов хитозана (ММ 15кДа и 90кДа) с ПЭГ. Для контроля параметров, полученных методом ИК-спектроскопии использовали методы титрования свободных аминогрупп с ТНБС и ортофталиевым альдегидом. Результаты находятся в хорошем соответствии, что определяет применимость разработанного метода ИК спектроскопии. Основные преимущества разработанного метода заключаются в высокой чувствительности метода, в его экспрессности, малых объемах пробы, необходимых для анализа. Разработанный подход был далее применен для анализа состава нековалентных комплексов, содержащих ПЭГ, на примере комплексов анионных липосом с поликатионным сополимером, ПЭГ-хитозаном. Из анализа изотерм адсорбции полимера на липосомах с использованием координат Скетчарда установлено, что в условиях полного насыщения стехиометрический состав комплекса в системе липосомы-ПЭГхитозан соответствует соотношению 1:1,2 (осново-моль). Комплексообразование сопровождается увеличением радиуса везикул от 80 нм до 110нм и нейтрализацией дзета-потенциала от -20mV и до -5 mV. Разработанный метод определения степени ПЭГилирования позволит проводить высокопроизводительный скрининг ПЭГилированных препаратов, в том числе, медицинского назначения.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 14-04-00325А, Правительства РФ № 11G34.31.0004 и программы развития МГУ.

UDK 543.421/.424, 577.352.24

NEW APPROACH FOR PEGYLATION DEGREE ANALYSIS IN BIOMACROMOLECULES BY USING FTIR SPECTROSCOPY

Deygen I.M., Kudryashova E.V.
Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia
119991, Moscow, Leninskie gory 1
e-mail: i.m.deygen@gmail.com

New versatile approach based on FTIR-spectroscopy has been developed for determination the PEGylation degree of biomolecules. The proposed method is based on the analysis of the intensity of the characteristic narrow absorption band of C-O-C bond in PEG chains presented in IR spectra of all PEGylated objects. The applicability of the developed approach was studied by the example of PEG-chitosan copolymer composition (where chitosan MW was 15 and 90 kDa; PEG MW was 5 kDa) and non-covalent electrostatic complexes of PEG-chitosan copolymers with anionic liposomes.

Keywords: PEGylation, FTIR spectroscopy, aninonic liposomes, chitosan

PEGylation is the most widely used approach to regulation properties of biomolecules. For the development and successful application of PEGylated molecules in biotechnology and medicine one shoud employ highly efficient and sensitive method for the determination of PEG content in different systems. In this study, a new efficient approach to determine the PEGylation degree of biomolecules by means of Fourier IR spectroscopy is described.

The method is based on the analysis of the characteristic absorption band intensity of PEG (for C-O-C bond) in IR spectrum. The applicability of this approach has been demonstrated by the example of the conjugates of chitosan (MW 15kDa and 90kDa) with PEG. To control the parameters obtained by IR spectroscopy the titration of free chitosan aminogroups by TNBS or OPA was cariied out. The results are in good agreement, hence the applicability of the developed method of IR spectroscopy is demonstrated. The main advantages of this method is the high sensitivity, rapidity, small volumes of sample required for analysis.

Designed approach was further employed to analyze the composition of non-covalent complexes containing PEG with using liposome anionic complexes with polycationic copolymer PEG-chitosan as an example. From the analysis of the adsorption isotherms of the polymer to liposomes by using Scatchard coordinate it was established that at saturation liposome-PEGchitosan base-molar ratio is 1: 1.2. Complexation is accompanied by an increase in the radius of the vesicles from 80 nm to 110 nm, and the neutralization of the zeta potential from -20mV and to – 5 mV.

The method for determining the degree of PEGylation will allow for high-throughput screening of PEGylated objects for medical application.

This work was supported by grants RFBR 14-04-00325A, the Government of the Russian Federation № 11G34.31.0004 and development programs of MSU.

УДК 615.032.23

СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ НАНОАЭРОЗОЛЕЙ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

Канев И.Л., Морозов В.Н.
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук. 142290, г. Пущино Московской обл. ул. Институтская, 3
E-mail: 4kanev@gmail.com

Разработан новый метод генерации субмикронных и наноаэрозолей биологически-активных веществ. Он основан на электрораспылении растворов с последующей газофазной нейтрализацией продуктов распыления противоионами небольшого размера, полученными распылением нейтрального растворителя. Специальные исследования показали универсальность такого метода атомизации и полное сохранение структуры и функциональных свойств молекул в наноаэрозоле.

Ключевые слова: наноаэрозоль, новые лекарственные формы, электрораспыление.

Наноаэрозоли привлекают большое внимание в качестве перспективного средства доставки лекарственных средств в организм. В отличие от микронных аэрозолей, генерируемых коммерчески доступными небулайзерамии ингаляторами, наноаэрозоли проникают глубоко в легкие – в альвеолы, что обеспечивает более длительное воздействие лекарства и более полное попадание распылённого вещества в кровь. В случае лёгочных заболеваний использование аэрозолей позволяет доставлять лекарственное средство напрямую в пораженные ткани лёгких, причём, изменяя размер частиц аэрозоля, можно контролировать область его преимущественного осаждения в разных участках легкого. Нами создана конструкция генератора аэрозолей, которая позволяет получать аэрозоли с размером частиц 10-300 нм и концентрацией до 1 мкг/л воздуха из растворов различных веществ при скорости потока воздуха до 9 л/мин. Выяснено как влияют основные параметры распыления (сила тока, диаметр капилляра, скорость потока

воздуха и свойства распыляемого раствора) на размер частиц, форму спектра и концентрацию наноаэрозоля. Технология применима для генерации наноаэрозолей из широкого круга субстанций: органических нелетучих веществ, антибиотиков, белков и водных суспензий наночастиц. Показана возможность генерации наноаэрозолей белков с полным сохранением структуры и функциональной активности. В ходе предварительных испытаний на лабораторных животных установлено, что разработанный генератор создает наноаэрозоль, который оседает в лёгких мышей в количестве ~0,5 мкг в час.

UDC 615.032.23

A NEW METHOD FOR GENERATION OF NANOAEROSOLIZED DRUGS

Kanev I.L., Morozov V.N.
Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences
Pushchino, Moscow Region, Russia 142290
E-mail: 4kanev@gmail.com

We report a new method of generating submicron and nano-aerosol particles from biologically active substances. It is based on the electrospraying solutions followed by gas phase neutralization of charged electrospray products with small counter-ions generated by electrospraying of an inert solvent. Special studies have demonstrated versatility of this atomization technique and complete preservation of the structure and functional properties of atomized biological molecules.

Keywords: nanoaerosol, new forms of drugs, electrospray.

Nanoaerosols attract much attention as a perspective way of delivering drugs into organism. Unlike micron-sized aerosol particles generated by commercial nebulizers and inhalers, nanoparticles penetrate deep into the lungs – in the alveoli, enabling a prolonged exposure to the drug and a complete transfer of the substance into the bloodstream. In the case of lung diseases drug in the form of nanoaerosol may be directly delivered into the affected tissue. By changing the size of nanoaerosol particles the latter may be preferentially deposited in different lung areas. We have developed a prototype of a nanoaerosol generator which produces particles, 10-300 nm in diameter, at a concentration of 1 mg/m^3 from various substances with the volumetric output of 9 L/min. The main parameters affecting the spray (electric current, capillary diameter, air flow rate and solution properties) have been evaluated for their effects on the particle average size, size distribution (spectrum) and nanoaerosol concentration. The technology enables generation of nanoaerosols from a variety of substances: nonvolatile organic compounds, antibiotics, proteins, aqueous suspensions of nanoparticles. It was demonstrated that proteins retained full structure and functional activity in the nanoaerosol generated. In the preliminary tests on laboratory animals it was found that our device allowed deposition of approximately 0.5 µg of substance in the lungs of a mouse within one hour.

УДК 669.691.5, 532.614, 532.64

ИССЛЕДОВАНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК МИКРОДУГОВЫХ КАЛЬЦИЙФОСФАТНЫХ ПОКРЫТИЙ НА НИЗКОМОДУЛЬНОМ СПЛАВЕ Ti-40 мас.%Nb

Комарова Е.Г.[1], **Шаркеев Ю.П.**[1,2], **Чебодаева В.В.**[2], **Толкачева Т.В.**[1]
[1]*Институт физики прочности и материаловедения СО РАН, Томск, Россия*
[2]*Национальный исследовательский Томский политехнический университет, Томск, Россия*
634021, г. Томск, пр. Академический, 2/4, ИФПМ СО РАН, e-mail: katerina@ispms.tsc.ru

Исследовано влияние электрофизических параметров микродугового оксидирования: напряжение и длительность процесса, на характеристики кальцийфосфатных покрытий (толщина, морфология, рельеф поверхности и смачиваемость) на поверхности низкомодульного сплава Ti-40 мас.%Nb. Выявлен оптимальный режим нанесения покрытия, позволяющий формировать гидрофильные покрытия с пористой градиентной структурой и большой свободной поверхностью.

Ключевые слова: кальцийфосфатное покрытие; микродуговое оксидирование; гидрофильность; свободная поверхностная энергия.

Важными требованиями, предъявляемыми к металлическим биоматериалам, являются низкий модуль упругости, сравнимый с модулем кости человека, и отсутствие токсичности легирующих элементов, входящих в состав сплава. Привлекательным в части повышенной биомеханической совместимости являются сплавы системы титан-ниобий. Для предотвращения послеоперационных осложнений, связанных с отторжением активного металла, целесообразно наносить кальцийфосфатное (CaP) покрытие, обладающее биоактивными и биосовместимыми свойствами. Для получения таких покрытий эффективен микродуговой метод. В работе исследовано влияние напряжения и длительности оксидирования на морфологию, рельеф поверхности и смачиваемость CaP покрытий. Показано, что с повышением напряжения до 200-350 В и длительности оксидирования до 5-15 мин толщина и шероховатость покрытий линейно увеличиваются, в то время как значения краевых углов с водой и глицерином линейно уменьшаются. CaP покрытия являются гидрофильными с большой свободной поверхностью 73-86 мН/м, благодаря их развитому рельефу и наличию сильных полярных химических связей (OH-группы, оксиды и фосфаты).

UDC 669.691.5, 532.614, 532.64

INVESTIGATION OF PHYSICAL AND CHEMICAL CHARACTERISTICS OF MICRO-ARC COATINGS PUT ON LOW-MODULUS Ti-40 Mas.%Nb ALLOY

Komarova E.G.[1], **Sharkeev Yu.P.**[1,2], **Chebodaeva V.V.**[2], **Tolkacheva T.V.**[1]
[1]*Institute of Strength Physics and Materials Science of SB RAS, Tomsk, Russia*
[2]*National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia*
634021, Tomsk, pr. Academicheskii, 2/4, ISPMS SB RAS, e-mail: katerina@ispms.tsc.ru

The influence of electro-physical parameters as voltage and duration of the microarc oxidation process on the characteristics of calcium phosphate coatings put on the low-modulus Ti-mas.%Nb alloy surface (thickness, morphology, surface topography and wettability) was investigated. The optimal parameters of the microarc oxidation allowing obtaining the hydrophilic coatings with a gradient porous structure and a large free surface were found.

Keywords: calcium phosphate coating; micro-arc oxidation; hydrophilicity; free surface energy.

Important requirements for metallic biomaterials are low elasticity modulus comparable to the human bone module, and the absence of toxicity of the alloying elements in the alloy composition. Titanium-niobium alloys are attractive in part the increased biomechanical compatibility. It is advisable to form calcium phosphate (CaP) coatings with bioactive and biocompatible properties to prevent postoperative complications associated with rejection of the active metal. The micro-arc method is an effective technique to obtain such coatings. The influence of voltage and duration of oxidation on the morphology, surface topography and wettability of the CaP coatings is investigated. It was shown that the increase in the oxidation voltage (200-350 V) and duration (5-15 min) leads to the linear increasing of the coating thickness and roughness and to the linear decreasing of contact angles with water and glycerol. CaP coatings are hydrophilic with high free surface energy of 73-86 mN/m, due to their rough topography and the presence of strong polar chemical bonds in coatings (OH-groups, oxides and phosphates).

УДК 615.466:547.917

КРИОГЕЛИ НА ОСНОВЕ ПЕКТИНА И ХИТОЗАНА КАК ПРОТИВОСПАЕЧНЫЕ БАРЬЕРНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Коновалова М.В.[1], **Марков П.А.**[2], **Никитина И.Р.**[2], **Попов С.В.**[2], **Курек Д.В.**[1], **Варламов В.П.**[1]
[1]*ФГБУН Центр «Биоинженерия» РАН, Москва, Россия*
117312, Москва, пр-т60-летия Октября, д. 7, корп. 1
[2]*ФГБУН Институт физиологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, Сыктывкар, Россия*
167982, Сыктывкар, ГСП-2, ул. Первомайская, д. 50
e-mail: mariya.v.konovalova@gmail.com

Полученыкриогели на основе биополимеров пектина и хитозана с различными физико-химическими характеристиками (ФХХ). Внесение с состав криогеляхитозанов усиливает прочность и адгезию материалов к поверхности брюшины. Выявлено, что криогели на основе яблочного пектина и различных хитозанов ингибируют спайкообразованиев брюшной полости. Полученные криогелимогут быть рекомендованы к использованию в качестве новых барьерных материалов для хирургии.

Ключевые слова: барьерный материал; спайки; криогели; пектин; хитозан.

Применение барьерных материаловиз биодеградируемых, биосовместимых и нетоксичных полимеров, которые разделяют травмированные поверхности на срок достаточный для их восстановления, является перспективным направлением профилактики спаечной болезни – одного из основных осложнений абдоминальной хирургии. Для получения криогелей использовали природные биополимеры: яблочный пектин и крабовый хитозанс различными ФХХ. Исследовано их влияние на механические свойства и адгезию материалов к внутренней поверхности брюшины, а также влияние условий деградации на механические свойства. Внесение с состав криогеляхитозановс различными ФХХ усиливает прочность и адгезию материалов к поверхности брюшины. Выявлено, что в условиях *invivo* прочность криогелей, независимо от их химического состава, снижается более интенсивно, чем при инкубации *invitro*. Способность полученных материалов предотвращать спайкообразование была изучена *invivo*. Обработка раневых поверхностей гелями на основе яблочного пектина и хитозана ингибирует спайкообразование. Таким образом, разработанные криогелина основе пектина и хитозана могут быть рекомендованы к использованию в качестве новых барьерных материалов для хирургии.

UDC 615.466:547.917

PECTIN/CHITOSAN-BASED CRYOGELS ASANTIADHESION BARRIER MATERIALS

Konovalova M.V.[1], **Markov P.A.**[2], **Nikitina I.R.**[2], **Popov S.V.**[2], **Kurek D.V.**[1], **VarlamovV.P.**[1]
[1]*Centre "Bioengineering", Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation*
117312, Moscow,60-let. Oktyabryaav., 7, bld. 1
[2]*Institute of Physiology, Komi Science Centre, the Urals Branch of the Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, Russian Federation*
167982, Syktyvkar, Pervomaiskaya str., 50
e-mail: mariya.v.konovalova@gmail.com

Cryogels based on such biopolymers as pectin and chitosan with different physico-chemical characteristics (PCC) were prepared. The inclusion of chitosan with different PCC to cryogel composition enhanced the strength and adhesion of materials to the abdominal tissues. Cryogels based on the apple pectin and chitosan were found to inhibit adhesion formation in the abdominal cavity. Pectin/chitosan cryogels obtained may be recommended for application as new barrier materials for abdominal surgery.

Keywords: barrier materials; adhesions; cryogels; pectin; chitosan.

Barrier materials based on biodegradable, biocompatible and non-toxic polymers, capable of physical separation of injured abdominal tissues during the critical period of mesothelial repair and healing are promising approach to prevent adhesion formation – one of the serious complications of abdominal surgery. Natural polysaccharides as follows apple pectin and crab shell chitosan with different PCC were used for cryogels preparation. Influence of PCC on mechanical properties and adhesion capacity of gel materials to the abdominal tissues and the effect of degradation conditions on the mechanical properties were investigated. The iclusion of chitosan with different PCC to cryogels composition enhanced the strength and adhesion of materials to the abdominal membrane. The cryogels strength was found to decrease more rapidly *in vivo*, than during incubation *in vitro*, independently on its chemical composition. The ability of the materials to prevent adhesion formation has been studied *in vivo*. Treatment of wound surfaces with gels based on apple pectin and chitosan was shown to inhibit adhesion formation. Thus, pectin/chitosan cryogels obtained may be recommended for application as new barrier materials for abdominal surgery.

УДК 577.15.08+606.61:677.494

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ПОЛУЧЕНИЯ, ТЕМПЕРАТУРЫ И СРОКОВ ХРАНЕНИЯ НА ИЗМЕНЕНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНЫХ АКТИВНОСТЕЙ ГИДРОЛАЗ ИЗ ГЕПАТОПАНКРЕАСА КРАБА ИММОБИЛИЗОВАННЫХ НА ЦЕЛЛЮЛОЗНЫХ НОСИТЕЛЯХ

Кульметьева М.А., Дубовикова О.Э., Коротаева А.И., Досадина Э.Э., Аль Окби Хидаер Махмуд, Медушева Е.О., Белов А.А.
РХТУ им. Д.И.Менделеева, каф. биотехнологии; Институт хирургии им. А.В.Вишневского; НИИ текстильных материалов,
Москва, РФ, 125480, Москва, ул. Героев Панфиловцев, д. 20, корп. 1
e-mail: ABelov2004@ yandex.ru

Получены иммобилизованные препараты гидролаз гепатопанкреаса краба на окисленной целлюлозе содержащие хитозан. Изучено влияние получения иммобилизованных форм на со-

хранение ферментативных активностей гидролаз на остаточную активность в процессе хранения и инактивации в модельных условиях.

Ключевые слова: хитозан, диальдегидцеллюлоза, иммобилизация, медицина.

Проблема создания биологически активных волокнистых материалов в последние десятилетия вызывает опять возрастающий интерес. Показано, что лечебный эффект медицинских материалов с полиферментными препаратами выше, чем у моноферментных препаратов (при сравнении сроков очищения и полного заживления ран). Кроме того, изделия, полученные на основе полиферментных препаратов, обычно имеют меньшую себестоимость. На основе окисленной целлюлозы, хитозана и гидролаз был создан лечебный слой полиферментной перевязочной повязки «Мультиферм». Выбор условий получения препаратов иммобилизованных протеиназ, для медицинских целей, заключается не только в получении максимальной активности препарата в конце срока хранения (минимальное значение эффективной константы скорости инактивации), но и соблюдение необходимых санитарно-гигиенических характеристик готового изделия (pH-водной вытяжки, механическая прочность и др.). Были найдены оптимальные условия, метод модификации и степень модификации целлюлозного носителя для иммобилизации. Выбор оптимальных условий иммобилизации: pH, температура, состав раствора для иммобилизации и тому подобное, заключался в выборе таких параметров, чтобы в процессе иммобилизации относительная ферментативная активность достигала максимального значения и не изменялась до начала высушивания образцов.

EFFECT OF PREPARATION CONDITIONS, TEMPERATURE AND PERIOD OF STORAGE TO CHANGE FROM ENZYMATICALLY ACTIVE HYDROLASE CRAB HEPATOPANCREAS IMMOBILIZED ON CELLULOSE CARRIERS

Kulmetieva M.A., Dosadina E.E., Dubovikova O.E., Korotaeva A.I., Okbi Hidaer Al Mahmoud, Medusheva E.O., Belov A.A.
MUCTR, Mendeleev Univ., ch. Biotechnology, Research Institute of textile materials, Institute surgery, Moscow, Russian Federation
E-mail: ABelov2004@ yandex.ru

Preparations obtained immobilized hydrolases crab hepatopancreas on the oxidized cellulose containing chitosan. The effect of obtaining immobilized forms to preserve the enzymatically active hydrolase in the residual activity during storage and inactivation under model conditions.

Keywords: chitosan, dialdehydecellulose, immobilization, medicine

The problem of creating biologically active fibrous materials in recent decades is the growing interest again. It is shown that the therapeutic effect of medical materials multienzyme complexes higher than monofermentnyh drugs (when compared and complete clearance of the wound healing). Furthermore, products derived from multienzyme preparations generally have lower production costs. On the basis of oxidized cellulose, chitosan and hydrolases was established therapeutic layer polyenzyme dressing bandages "Multiferm." The choice of conditions for obtaining preparations of immobilized proteases, for medical purposes, is not only to obtain the maximum activity of the drug at the end of the retention period (the minimum value of the effective inactivation rate constant), but compliance with the necessary sanitary and hygienic characteristics of the finished product (pH of the aqueous extract, mechanical strength et al.). Optimal conditions have been found, and the degree of modification of the method of modifying cellulosic carrier for immobilization. Selection of optimum immo-

bilization conditions: pH, temperature, composition of the solution for immobilization and the like, was to select parameters such that during the relative immobilization of the enzyme activity reached a maximum value and not changed before drying samples.

УДК 533.9.07

СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ТОНКИХ ВЧ-МАГНЕТРОННЫХ БИОПОКРЫТИЙ НА ОСНОВЕ ФОСФАТОВ КАЛЬЦИЯ*

Куляшова К.С.[1], **Шаркеев Ю.П.**[1,2], **Саинова А.Б**[1,3], **Gross K.A**[4].
[1]*Институт физики прочности и материаловедения Сибирского отделения Российской академии наук (ИФПМ СО РАН), Томск, Россия*
634021, г. Томск, просп. Академический, 2/4, e-mail: kseniya@ispms.tsc.ru
[2]*Национальный исследовательский Томский политехнический университет, Томск, Россия*
634050, г. Томск, пр. Ленина, 30
[3]*Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия*
634050, г. Томск, пр. Ленина, 36
[4]*Riga Technical University, Riga, Latvia, 1 Kalku Street, Riga LV 1658*

Исследована структура покрытий, полученных методом вч-магнетронного распыления мишеней на основе фосфатов кальция: гидроксиапатита и b-трикальцийфосфата. Изучено влияние состава мишени на положение основных характеристический линий фосфатов в инфракрасных и Рамановских спектрах покрытий.

Ключевые слова: биопокрытие, гидроксиапатит, b-трикальцийфосфат, вч-магнетронное распыление, структура

Проведено исследование структуры тонких вч-магнетронных покрытий на основе фосфатов кальция с помощью методов ИК- и Раман-спектроскопии, оптической эллипсометрии и рентгеноструктурного анализа. При вч-магнетронном распылении мишени как на основе гидроксиапатита (ГА), так и b-трикальцийфосфата (ТКФ)) образуется текстурированное покрытие, содержащее апатит с разупорядоченной фосфатной решёткой. Об этом свидетельствует расположение линии симметричного колебания PO_4^{3-} (n_1) в области 945–950 см$^{-1}$ Рамановских спектров и отличие основных параметров (амплитуда, ширина) линий в ИК-спектре в покрытии от соответствующих параметров ГА, что вызвано изменением связей в окружении ионов PO_4^{3-} в составе элементарной ячейки и ориентации кристаллитов в составе покрытия. Формирующееся вч-магнетронное покрытие в исходном состоянии является аморфным, о чём свидетельствуем гало на рентгеновких дифрактограммах в области малых углов 2Q = 10–15°. После изотермического отжига при 700°C появляются плохоразрешённые пики в диапазоне углов 2Q = 31–34°, характеризующие наличие фазы $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$.

*Работа выполнена при поддержке проекта №612691 “An international network on new strategies for processing calcium phosphates” 7th Framework Program for Research

UDK 533.9.07

THE STRUCTURAL FEATURES OF THIN RF MAGNETRON BIOCOATING BASED ON CALCIUM PHOSPHATE*

Kulyashova K.S.[1], **Sharkeev Yu.P.**[1,2], **Sainova A.B.**[1,3], **Gross K.A**[4].

[1]*Institute of Strength Physics and Materials Science of Siberian Branch Russian Academy of Sciences (ISPMS SB RAS), Tomsk, Russia,*
634021, Tomsk, 2/4, pr. Akademicheskii, e-mail: kseniya@ispms.tsc.ru
[2]*National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia, 634050, Tomsk, Lenin Avenue, 30*
[3]*National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia, 634050, Tomsk, Lenin Avenue, 36*
[4]*Riga Technical University, Riga, Latvia, 1 Kalku Street, Riga LV 1658*

The structure of coatings produced by rf magnetron sputtering targets based on calcium phosphates (hydroxyapatite and b-tricalcium phosphate) was investigated. The influence of the phase composition of RF target on the position of the main characteristic phosphate bands in the Fourier transform infrared and Raman spectra of coatings was studied.

Keywords: biocoating, hydroxyapatite, b-tricalcium phosphate, rf-magnetron sputtering, structure

A study of the structure of thin rf magnetron coatings based on calcium phosphate was performed with FTIR and Raman spectroscopy, optical ellipsometry and X-ray diffraction method . The rf-magnetron sputtering targets was formed from the hydroxyapatite (HA) and b-tricalcium phosphate (TCP) powders. The textured coating structure containing phosphate apatite with a disordered lattice is formed. It is evidenced by the location of the symmetrical vibration of PO_4^{3-} bonds (n_1) at 945–950 cm^{-1} which observed on Raman and FTIR spectra. The value is contrasted with basic parameters of the bands (amplitude, width) in the spectra HA. It is caused by a change in the environment of the PO_4^{3-} bonds and the unit cell orientations of the crystallites in the structure of coating.

The initial state of coating structure is amorphous. It characterized by amorphous halo at small angles 2Θ = 10–15°. After isothermal annealing at 700°C the structure is became quasi-crystalline. Peaks in the range of angles 2Θ = 31–34 are characterized the presence of phase $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$.

*This work was carried out under support of the 7th Framework Program for Research, Technological Development and Demonstration, project № 612691.

УДК 615.032.23

ДЕТЕКЦИЯ НОЗОКОМИАЛЬНЫХ ПАТОГЕНОВ С ПОМОЩЬЮ ВОДОРАСТВОРИМЫХ НАНОФИЛЬТРОВ

Михеев А.Ю.[1], **Владимирский М.А.**[2], **Морозов В.Н.**[1]

[1]*Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, 142290, г. Пущино Московской обл.*
[2]*НИИ фтизиопульмонологии им. И.М. Сеченова, Первый Московский Государственный Медицинский Университет, г. Москва*
E-mail: 2miheev@gmail.com

Предложен новый метод концентрирования биологических аэрозолей, основанный на использовании водорастворимых нанофильтров, получаемых электроформованием из инертного полимерного материала – поливинилпирролидона. Продемонстрирована возможность использования нанофильтров для детекции следовых количеств нозокомиальных патогенов в воздухе больничных палат.

Ключевые слова: нанофильтры, нозокомиальные инфекции, электроформование.

Основным механизмом заражения нозокомиальными (внутребольничными) инфекциями является аэрозольное инфицирование. Однако, не существует методов быстрого и чувствительного определения аэрозолей опасных патогенов в воздухе больничных учреждений. Известные на рынке средства сбора аэрозолей, основанные на инерционном осаждении, имеют низкую эффективность, шумны и энергозатратны.

Нами разработан новый метод эффективного сбора микро- и наноаэрозолей, основанный на использовании электротканных нанофильтров из водорастворимого, химически инертного полимера – поливинилпирролидона.

Показано, что данные нанофильтры эффективно улавливают как субмикронный аэрозоль, 0.3 мкм (97%), так и наноаэрозоли, 50 нм (75%), при линейных скоростях воздушного потока до 10 м/с. Таким образом, становится возможным эффективное концентрирование аэрозолей в микрообъем жидкой пробы в 10^8-10^9 раз в течение 15 минут. В сочетании с методом ПЦР использование водорастворимых нанофильтров становится быстрым и ультрачувствительным методом для обнаружения патогенов как в помещениях, так и вне их.

Метод был испытан в клинике при ММА им. Сеченова, где с помощью водорастворимых нанофильтров была показана возможность детекции следовых количеств ДНК туберкулезной палочки в воздухе палат с больными открытой формой туберкулеза.

UDC 615.032.23

DETECTION OF NOSOCOMIAL PATHOGENS USING WATER-SOLUBLE NANOFILTERS

Mikheev A.Y.[1], **Vladimirsky M.A.**[2], **Morozov V.N.**[1]
[1]*Institute of Theoretical and Experimental Biophysics of the Russian Academy of Sci., Pushchino, Moscow region*
[2]*Phthisiopulmonology Research Institute of the Sechenov First State Medical University, Moscow*
E-mail: 2miheev@gmail.com

A new method for collection of biological aerosols in a highly concentrated form was developed which is based on use of water-soluble nanofilters manufactured by electrospinning of inert polymer (polyvinylpirrolidone) solution. Nanofilters capability was demonstrated by detection of trace amounts of nosocomial pathogens in the probes collected in hospital wards.

Keywords: Nanofilters, nosocomial infections, electrospinning

Infection by airborne pathogens emerges as a major source of nosocomial diseases and there are no rapid and sensitive technique to detect airborne pathogens indoors of hospital buildings. Known commercial means for collection of aerosols based on inertial principle have a low collection efficiency, consume much energy and are quite noisy.

We have developed a new effective technique for collection of both micro- and nanoaerosols based on use of nanofilters electrospun from water-soluble inert polymer materials, such as polyvinylpirrolidone.

It was shown that these filters effectively collect both sub-micron (0.3 μm with the efficiency not less than 97%) and nano-aerosols (50 nm with the efficiency of not less than 75%) at a face velocity as high as 10 m/sec. Their use enabled quite efficient and rapid concentrating of particulate matter from a high volume of air: in 15 minutes 10^8-10^9-fold concentration was achieved. In combination with

PCR water-soluble analytical filters provide a rapid ultra-sensitive technique for detection of airborne pathogens both indoors and outdoors.

The method has been tested in the Phthisiopulmonology Research Institute where trace amounts of micobacterial DNA were detected in the probes collected in the wards occupied by patients with an open form of tuberculosis.

РАЗРАБОТКА И ПРОИЗВОДСТВО КОСМЕТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ НА ОСНОВЕ РЕКОМБИНАНТНОГО АНГИОГЕНИНА ЧЕЛОВЕКА

Пуртов А.А.[1], Пылкова С.В.[1], Мирошниченко С.М.[2], Рамазанов Ю.А.[3], Беклемишев А.Б.[2]
[1]*Общество с ограниченной ответственностью ООО «ФармоГель», Новосибирск, Россия*
[2]*ФГБУН НИИ биохимии, Новосибирск, Россия*
[3]*ООО «Центр вихревых технологий», Новосибирская область, Новосибирский район, р.п. Кольцово, Россия*
sveta_pylkova@ngs.ru

Разработана и производится серия уникальных биологически активных косметических средств на основе гелей, содержащих рекомбинантный ангиогенин человека и предназначенных для восстановления местного кровоснабжения, ускорения заживления ран и снижения вероятности образования рубцовой ткани.

Ключевые слова: рекомбинантный ангиогенин, косметические гели, регенерация, капиллярное кровообращение.

В компании ООО «ФармоГель» на основе рекомбинантного ангиогенина человека, полученного экспрессией синтетического гена в клетках *E. coli*, была разработана линейка косметических средств, предназначенных для устранения проблем, связанных с нарушением капиллярного кровообращения. В частности, гель «Ангиофарм регенерирующий» применяют для ускорения естественного заживления ран и снижения вероятности образования рубцовой ткани. Гель способствует восстановлению местного кровоснабжения, снижает отечность и болевые ощущения и особенно эффективен для профилактики образований повреждений кожи при состояниях, связанных с нарушением кровоснабжения, в том числе диабетических трофических язв, синдрома диабетической стопы, пролежней. Гель «Ангиофарм стоматологический» предназначен для профилактики заболеваний десен, способствует устранению отечности и раздражения от коронок и зубных протезов, снижает болевую чувствительность. Гель «Ангиофарм венотонизирующий» способствует укреплению стенок сосудов, улучшает кровоснабжение нижних конечностей и, тем самым, снижает отечность и болевые ощущения в ногах. Кроме того, снижает видимые проявления расширенных капилляров (сосудистых звездочек).

DEVELOPMENT AND PRODUCTION OF COSMETIC BASED ON RECOMBINANT HUMAN ANGIOGENIN

Purtov A.A.[1], Pylkova S.V.[1], Miroshnichenko S.M.[2], Ramazanov Yu.A.[3], Beklemishev A.B.[2]
[1] *"Farmogel" LLC, Novosibirsk, Russia*
[2]*Research Institute for Biochemistry, Novosibirsk, Russia*
[3]*OOO "Center of vortex technology", Novosibirsk region, Koltsovo, Russia*
sveta_pylkova@ngs.ru

Designed and produced a series of unique biologically active cosmetics gels containing recombinant human angiogenin and intended to restore the local blood circulation, accelerate wound healing and reduce the probability of scar tissue formation.

Keywords: recombinant angiogenin, cosmetic gels, regeneration, capillary circulation.

In the company "PharmoGel" LLC on the basis of recombinant human angiogenin, obtained by the expression of synthetic gene in the cells of *E. coli*, was developed the rule of the cosmetic means, intended for eliminating the problems, connected with the disturbance of capillary blood circulation.

In particular, gel "Angiopharm regenerating" use for accelerating the natural healing of wounds and reduction in the probability of the formation of scar tissue. Gel contributes to the restoration of local blood supply, are decreased swelling and pains and it is especially effective for the preventive maintenance of the formations of the damages of the skin with the states, connected with the ischemia, including of diabetic trophic ulcers, the syndrome of diabetic foot, bedsores.

Gel "Angiopharm stomatological" is intended for the preventive maintenance of the diseases of gums, it contributes to the elimination of swelling and irritation from the crowns and the dental prostheses, painful sensitivity is decreased.

Gel "Angiopharm venotoniziruyushchiy" contributes to strengthening the walls of vessels, improves the blood supply of lower extremities and, thus, swelling and pains in the feet are decreased. Furthermore, are decreased the visible manifestations of the extended capillaries (vascular asterisks).

УДК 544.722.5

ПЛЁНКА ИЗ КАРБОКСИМЕТИЛЦЕЛЛЮЛОЗЫ КАК СУБСТРАТ ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ МИКРОЧИПОВ, ОБЛАДАЮЩИЙ НИЗКОЙ АДГЕЗИЕЙ

Шляпников Ю.М., Морозов В.Н.
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук.
142290, г. Пущино Московской обл. ул. Институтская, 3
E-mail: shlyapnikov@online.stack.net

Разработан новый субстрат для изготовления микрочипов, характеризующийся низкой адгезией к магнитным частицам, – термически сшитая плёнка из карбоксиметилцеллюлозы. Предел чувствительности иммуноанализа бактериальных токсинов на таком микрочипе составил 0,1 нг/мл.

Ключевые слова: карбоксиметилцеллюлоза, микрочип, иммобилизация, иммуноанализ, магнитные частицы.

Поверхности, обладающие низкой адгезией, востребованы в современной биотехнологии. Например, они необходимы для тест-систем на основе микрочипов с детекцией сигнала с помощью суперпарамагнитных микрочастиц (МЧ). Нами получен и охарактеризован новый тип субстратов для изготовления микрочипов, обладающий низкой адгезией к МЧ, – термически сшитая плёнка из карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ). Разработана простая и дешёвая технология изготовления таких субстратов на стандартных микроскопных стёклах. Получаемая КМЦ-плёнка имеет плотность сшивки ~ 1 на мономерное звено, обладает гладкой поверхностью в нанометровом масштабе. На основе КМЦ-субстратов изготовлены микрочипы для детекции трёх бактериальных токсинов: холерного токсина, стафилококкового энтеротоксина А и токсина синдрома токсического шока. Тест-система на основе иммобилизованных на КМЦ-плёнке антител с детекцией связанных антигенов биотинилированными вторичными антителами и МЧ, покрытыми стрептавидином, имела предел чувствительности около 0,1 нг/мл. Микрочипы на основе КМЦ-плёнки сохраняли свою активность в течение года хранения при комнатной температуре.UDC 544.722.5

LOW-ADHESIVE CARBOXYMETHYL CELLULOSE FILM AS A MICROARRAY SUBSTRATE

Shlyapnikov Y.M., Morozov V.N.
Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences
Pushchino, Moscow Region, Russia 142290
E-mail: shlyapnikov@online.stack.net

We report a new type of low-adhesive substrate for manufacturing microarrays – a film of thermally cross-linked carboxymethyl cellulose (CMC). Its efficiency was demonstrated in the detection of three bacterial toxins where sensitivity as low as 0.1 ng/mL was obtained.

Keywords: carboxymethyl cellulose, microarray, immobilization, immunoassay.

Low-adhesive surfaces are of high importance in modern biotechnology, for example, in the microarray-based immunoassays with magnetic beads (MB) used as labels. We report here a new type of substrate for microarrays with a low adhesion to MB – a thermally cross-linked carboxymethyl cellulose (CMC) film. This substrate can be readily fabricated on a conventional glass slide. A highly cross-linked CMC film (~1 cross-link per monomer unit) possesses a surface smooth at a nanometer scale and a low adhesion to protein-coated MB, which partly originates from the electrostatic repulsion of MB from negatively charged CMC surface. The efficiency of the CMC substrate was demonstrated hereby by fabrication of microarrays for the detection of three bacterial toxins: cholera toxin, staphylococcal enterotoxin A, and toxic shock syndrome toxin. The assay employing primary antibodies arrayed on a CMC surface and detection of the bound bacterial toxins with a biotinylated secondary antibodies followed by decorating spots with streptavidin-coated MB resulted in a limits of detection as low as 0.1 ng/mL. The CMC-based microarrays demonstrated very high storage stability; their activity did not change after one year storage at room temperature.

СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА

Шведченко Д.О., Суворова Е.И.
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт кристаллографии имени А.В. Шубникова Российской академии наук, Россия, Москва
119333, Ленинский проспект, дом 59
e-mail: dmitrymephi@mail.ru

С помощью просвечивающей и сканирующей просвечивающей электронной микроскопии выполнен статистический анализ размеров наночастиц серебра, синтезированных с использованием полимера диметиламиноэтилметакерилата (ДМАЭМ) и его сополимеров с метакриламидоглюкозой (МАГ). (Со)полимеры выступали как в роли восстановителей ионов, так и стабилизаторов наночастиц.

Ключевые слова: наночастицы серебра, зелёная химия, ПЭМ, СПЭМ, ДМАЭМ

В нашей работе мы установили зависимость между структурой используемых для синтеза (со)полимеров и морфологическими характеристиками наночастиц серебра в соответствующих коллоидах. В качестве восстановителей ионов серебра и стабилизаторов наночастиц использовался перспективный в биомедицине полимер диметиламиноэтилметакрилат (ДМАЭМ) и его сополимеры на основе нетоксичной водорастворимой метакриламидоглюкозы (МАГ) в различных мольных соотношениях.

Мы предположили, что в мономере ДМАЭМ единственным восстанавливающим центром ионов серебра является азот, тогда как в мономере МАГ восстановление может происходить на четырёх кислородсодержащих группах (альдегидной и спиртовых). Таким образом, мы ожидали, что сополимерам с меньшей мольной долей ДМАЭМ будет соответствовать больший средний диаметр наночастиц серебра.

Синтез наночастиц был осуществлён с использованием гомополимера ДМАЭМ и сополимеров МАГ-ДМАЭМ с мольной долей ДМАЭМ 75, 71, 45 и 18%. Статистический анализ был произведён с использованием просвечивающей и сканирующей просвечивающей электронной микроскопии. Для каждого образца были измерены диаметры нескольких сотен наночастиц серебра.

Самое узкое распределение с наименьшим средним диаметром соответствует гомополимеру ДМАЭМ. Образовавшиеся частицы не превышают 10 нм, их средний диаметр составляет 2 нм. Установлено, что снижение мольной доли ДМАЭМ приводит, как и предполагалось, к увеличению среднего диаметра наночастиц серебра, также распределения становятся более широкими и в них появляются выраженные хвосты.

Мы попытались связать наиболее вероятный диаметр с мольным соотношением полимеров МАГ и ДМАЭМ, развив простую модель роста частиц. Полученные результаты удовлетворили нашим ожиданиям, а развитая простая модель, возможно, позволит синтезировать наночастицы с заданным распределением по диаметрам, используя соответствующий сополимер.

STATISTICAL ANALYSIS OF SILVER NANOPRATICLES

D.O. Shvedchenko, E.I. Suvorova
Federal State Budgetary Institution of Science Shubnikov Crystallography Institute of Russian Academy of Sciences, Russia, Moscow
119333, LeninskyProspekt, 59
e-mail: dmitrymephi@mail.ru

Statistical analysis of silver nanoparticles synthesized with DMAEMA polymer and its copolymers with MAG was performed with the help of transmission and scanning transmission electron microscopy. (Co)polymers acted as both reducing and capping agents.

Keywords: silver nanoparticles, green chemistry, TEM, STEM, DMAEMA

We have determined the dependence between structures of the (co)polymers used forthe synthesis process and morphological properties of silver nanoparticles in the corresponding colloids. Polydimethyl-aminoethyl-methacrylate (DMAEMA) which of great interest in biomedicine and its copolymers in different mole ratios with methacrylamidoglucose (MAG) were used as silver ions reducing and nanoparticle capping agents.

We assumed that DMAEMA monomer had only nitrogen as reducing site whereas MAG monomer can have four O-containing reducing sites (aldehyde and ethanolic ones). Thus we expected that larger average diameter of silver nanoparticles would correspond to copolymers with smaller DMAEMA mole fractions.

The nanoparticle synthesis was performed using poly-DMAEMA and MAG-DMAEMA copolymers with DMAEMA mole fractions of 75, 71, 45 and 18%. The statistical analysis was carried out with the use of transmission and scanning transmission electron microscopy. Diameters of several hundreds of nanoparticles were measured for each specimen.

The thinnest distribution with the smallest average diameter corresponds to poly-DMAEMA andall the nanoparticles formed are less than 10 nm with the average diameter of 2 nm. The decrease in DMAEMA mole fraction as expected was proved to lead to increase of the average diameter of the silver nanoparticles. Also the distributions became wider and pronounced tails of distributions appeared.

We have attempted to relate the mode diameter with the MAG:DMAEMA mole ratio by the simple growth model. The results obtained have met our expectations and ourdeveloped simple model probably will allow manufacturing nanoparticles withþ desired size distribution using a corresponding copolymer.

УДК 678

ПОЛИМРНЫЕ СМЕСИ НА ОСНОВЕ БИОПОЛИМЕРА-ПОЛИЛАКТИДА И ПОЛИЭТИЛЕНА: СТРУКТУРА И СВОЙСТВА

Тертышная Ю.В.[1], **Подзорова М.В.**[2], **Шибряева Л.С.**[1], **Карпова С.Г.**[1]

[1]*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт биохимической физики имени Н.М. Эмануэля РАН», Москва, Россия,119334, Москва, ул. Косыгина, 4,*
e-mail: mariapdz@mail.ru,

[2]*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский экономический университет имени Г.В. Плеханова», Москва, Россия*

В силу различных экологических и экономических причин необходимо создавать биоразлагаемые полимерные материалы, которые будут разлагаться под действием окружающих факторов. Полилактид, как биоразлагаемый полимер может являться основой для будущих модификаций полимерных композиций. В работе изучается влияние полилактида на свойства смесей.

Ключевые слова: полилактид, полиэтилен, композиционный материал, деструкция, дифференциальная сканирующая калориметрия, УФ-облучение

Полилактид – биоразлагаемый полимер, получаемый из возобновляемого сырья путем поликонденсации молочной кислоты или полимеризации лактида.

В качестве объектов исследования были изготовлены пленки на основе полиэтилена низкой плотности (ПЭНП) и полилактида (ПЛА). Количество ПЛА в смеси было кратно 10 мас.%. Для исследования были использованы различные методы: дифференциальная сканирующая калориметрия, ИК-спектроскопия, ЭПР, метод водопоглощения, определялись основные механические показатели, деструкция в почве и под действием УФ.

В результате исследования было выявлено, что смеси ПЭ-ПЛА гидрофобны. При инкубации в почве наблюдается незначительное уменьшение массы испытываемых образцов. Механические показатели смесей изменяются при увеличении процентного содержания ПЛА – увеличивается прочность. При облучении образцов УФ = 254нм после 50 часов Тплавления ПЛА уменьшается с 165°С до 152°С и произошло охрупчивание. При исследовании методом ЭПР было выявлено, что при 60-100% ПЛА в композиции уменьшается время корреляции и количество проникаемого радикала, что свидетельствует о увеличении жесткости цепи.

UDC 678

COMPOSITIONS BASED ON BIOPOLYMER-POLILAKTIDE AND POLYETHYLENE: STRUCTURE AND PROPERTIES

Tertyshnaya Yu. V. [1], **Podzorova M.V.**[2], **Shibryaeva L.S.**[1], **Karpova S.G.**[1]

[1]*Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia 119334, Moscow, st. Kosygina, 4*

e-mail: mariapdz@mail.ru

[2]*Plekhanov Russian University of Economics, Moscow, Russia*

Various ecological and economic reasons promote creation biodegradable polymeric materials, which will decay under the influence of surrounding factors. Polylactide is biodegradable polymer, which can be base for future modifications of polymeric compositions. This work studies influence of polylactide on compositions.

Keywords: polylactide, polyethylene, polymer composites, degradation, the differential scanning calorimetry, UV-radiation

Polylactide acid (PLA) is a biodegradable polymer, which is produced from renewable raw materials by polycondensation of lactic acid or polymerization of a lactic (in the industry both methods are used).

As objects of research films on the low density polyethylene (LDPE) and polylactide basis (PLA) were prepared. The PLA content in composition was multiple 10 wt %. For research various methods were used: the differential scanning calorimetry, IR-spectroscopy, the electronic paramagnetic resonance analysis, water absorption method. The main mechanical properties, degradation in the soil and under the influence of UV-light were investigated.

As a result of research it was found that PE-PLA composites were hydrophobic. After the period of compost burial the insignificant mass loss of the tested samples is observed. With increasing content of PLA, the mechanical properties showed an increasing tendency. The strength of composites has risen. After 50 hours of UV-treatment at the wave length λ= 254nm, the melting temperature of PLA decreased from 165°C to 152°C and the samples became brittle. EPR analysis showed that time of correlation and quantity of the reacted radical decreased when the content of PLA was 60-100 wt% in composition as a consequence of increasing rigidity of a chain length.

УДК 62.408.62, 54.084, 66.099, 57.017

ВЫБОР БАЗОВОЙ ПОДЛОЖКИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В СИСТЕМЕ КЛЕТКА-ПОВЕРХНОСТЬ МЕТОДОМ ИЗМЕРЕНИЯ КОНТАКТНОЙ РАЗНОСТИ ПОТЕНЦИАЛОВ

Тявловский А.К[1]., Цедик Л.В[2]., Жарин А.Л.[1], Антоневич Н.Г.[3]

[1]*Белорусский национальный технический университет, Минск, Беларусь*
220013, Минск, проспект Независимости 65
[2]*Государственное научное учреждение «Институт порошковой металлургии», Минск, Беларусь*
220005 Минск, Платонова, 41
[3]*Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, Минск, Беларусь*
220114 г. Минск, ул. Филимонова, 23, e-mail: tslara@rambler.ru

Исследована возможность изучения взаимодействия в системе поверхность-клетка на примере культуры клеток амниона человека и базовых пластиковых и стеклянных подложек с применением установки для измерения пространственного распределения контактной разности потенциалов (КРП). Показано, что использование базовой стеклянной подложки обеспечивает возможность сканирования КРП в динамическом режиме.

Ключевые слова: распределение поверхностного заряда, подложка, пластик, стекло, взаимодействие поверхность-клетка

Анализ данных литературных источников, показывает, что выбираемое стволовыми клетками (СК) направление дифференцировки зависит не только от химического состава, но и физической структуры используемой подложки. «Рисунок» и физическая структура подложки (плоской, объемной) оказывает зачастую более значимое влияние на экспрессию вырабатываемых клетками генов и позволяет индуцировать СК и перепрограммировать зрелые дифференцированные клетки в СК без использования химических индукторов и стимуляторов. Исследование и описание взаимодействия в системе клетка–поверхность представляет фундаментальный и практический интерес, в том числе связанный с проектированием и контролем свойств поверхностей.

Высокочувствительным методом контроля состояния поверхности, позволяющим регистрировать свойства тонкого поверхностного слоя на достаточно большой площади, является метод, основанный на регистрации изменений работы выхода электрона по поверхности исследуемого материала (метод Кельвина). Заключающийся в измерении контактной разности потенциалов U мВ между исследуемой поверхностью и поверхностью эталонного образца метод Кельвина нашел применение в исследованиях поверхностей твердых тел, подвергающихся деформации, трению, физико-химических исследованиях.

В данной работе изучена возможность применения данного метода для изучения взаимодействия в системе «исследуемые поверхность–клетка» в динамическом режиме.

В качестве базовой подложки, на которую впоследствии могут быть нанесены различные функционализирующие покрытия, использовали предметные стеклянные (алюмоборосиликатное стекло «Пирекс») и пластиковые (полистирол) пластины (группа 1 и группа 2 соответственно). Измерения выполняли в режиме двухкоординатного сканирования по площади 25 мм^2 с разрешающей способностью 1,5 мм для сокращения времени измерений.

Для возможности сопоставления данных выполняли сканирование одновременно для 3 образцов: 1) подложка; 2) подложка с нанесенной культуральной средой (DMEM); 3) подложка с нанесенной клеточной культурой (FL-клетки амниона человека).

На основании полученных численных значений данных *U мВ* (в табличной форме) с использованием специализированного программного обеспечения строили визуализированную

цветную карту распределения КРП и рассчитывали $U_{ср}$ *мВ* – среднее значение КРП по сканированной поверхности, затем определяли разность средних значений трех исследуемых образцов (U_2-U_1) и (U_3-U_2) в каждой исследуемой группе.

Все исследуемые образцы выдерживали на воздухе в течение 0,5 и 1 часа для частичного испарения культуральной среды, затем измерения повторяли.

Установлено, что исходная полистирольная подложка с Uср=190 мВ после выдержки в течение 0, 5 часа «заряжается», приобретая предельные для измеряющей установки значения Uср=340 мВ, при этом наличие на непроводящей полистирольной поверхности проводящего раствора (содержащей соли культуральной среды) оказывается недостаточным для стекания накопленного заряда.

При использовании стеклянной подложки (U_2-U_1) и (U_3-U_2) до и после выдержки в течение 0,5 и 1 часа имели практически одинаковые значения.

Сделан вывод о возможности использования метода пространственного распределения разности потенциалов для изучения взаимодействия в системе поверхность-клетка с использованием предметных алюмоборосиликатных стекол в качестве базовых.

УДК 62.408.62, 54.084, 66.099, 57.017

CHOICE OF THE BASIC SUBSTRATE FOR STUDYING OF INTERACTION IN SYSTEM THE CAGE-SURFACE BY METHOD OF MEASUREMENT OF THE CONTACT POTENTIAL DIFFERENCE

Tyavlovsky A.K.[1], **Tsedik L.V.**[2], **Zharin A.L.**[1], **Antonevich N.G.**[3]
[1]*Belarusian national technical university, Minsk, Belarus*
220013, Minsk, Nezavisimosti Avenue 65
[2]*State Scientific Institution " Powder Metallurgy Institute", Minsk, Belarus*
220005 Minsk, Platonov 41
[3]*Republican scientific and practical center of epidemiology and microbiology, Minsk, Belarus*
220114 of Minsk, Filimonov St., 23, e-mail: tslara@rambler.ru

Possibility of studying of interaction in system surface-cage on the example of culture of cages of an amnion of the person and basic plastic and glass substrates with application of installation for measurement of spatial distribution of the contact potential difference (CPD) is investigated. It is shown that use of a basic glass substrate provides possibility of scanning of KRP in the dynamic mode.

Keywords: distribution of a superficial charge, substrate, plastic, glass, interaction surface-cage

The analysis of these references, shows that the direction of a differentiation chosen by the stem cells (SC) depends not only on a chemical composition, but also physical structure of the used substrate. "Drawing" and physical structure of a substrate (flat, volume) has often more significant impact on an expression of the genes developed by cages and allows to induce SK and to reprogram the mature differentiated cages in SK without use of chemical inductors and stimulators. Research and the description of interaction in system the cage surface represents the fundamental and practical interest including connected with design and control of properties of surfaces.

The highly sensitive control method of a condition of a surface allowing to register properties of a thin blanket on rather big square is the method based on registration of changes of work of an exit of an electron on a surface of the studied material (the Kelvin method). The method of Kelvin consisting in measurement of a contact potential difference of U mV between the studied surface and a surface of a reference sample found application in researches of surfaces of the solid bodies which are exposed to deformation, friction, physical and chemical researches.

In this work possibility of application of this method for studying of interaction in system "investigated a surface cage" in the dynamic mode is studied.

As a basic substrate on which various funktsionaliziruyushchy coverings can be applied subsequently, used subject glass (alyumoborosilikatny Pyrex glass) and plastic (polystyrene) plates (group 1 and group 2 respectively). Measurements carried out in the mode of two-coordinate scanning in the area of 25 mm^2 with resolution 1,5 mm for reduction of time of measurements.

For possibility of comparison of data carried out scanning at the same time for 3 samples: 1) substrate; 2) a substrate with the put cultural environment (DMEM); 3) a substrate with the caused cellular culture (a FL cage of an amnion of the person).

On the basis of the received numerical values of the given $U\ mV$ (in a tabular form) with use of the specialized software built the visualized color card of distribution of KRP and counted $U\ mV$ – average value of KRP on the scanned surface, then defined a difference of average values of three studied samples (U_2-U_1) and (U_3-U_2) in each studied group.

All studied samples maintained on air within 0,5 and 1 hours for partial evaporation of the cultural environment, then measurements repeated.

It is established that the initial polystyrene substrate with average value $U=190\ mV$ after endurance within 0, 5 hours "is loaded", getting limit for the measuring average value $U_{ср}=340\ mV$ parameter setting, thus existence on a nonconducting polystyrene surface of the carrying-out solution (the containing salt of the cultural environment) is insufficient for running off of the saved-up charge.

When using a glass substrate (U_2-U_1) and (U_3-U_2) before and after endurance within 0,5 and 1 hours almost identical values had.

The conclusion is drawn on possibility of use of a method of spatial distribution of a potential difference for studying of interaction in system a surface-cage with use subject the alyumoborosilikatnykh of glasses as the basic.

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

УДК 636.52/58.083.085.16.

ВОДОРАСТВОРИМЫЕ ФОРМЫ ХИТОЗАНА ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В МЕДИЦИНЕ И ВЕТЕРИНАРИИ

Албулов А.И., Самуйленко А.Я., Фролова М.А., Гринь А.В., Мурадян Ж.Ю., Немцев Д.С.
Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности,
141142, Московская обл., Щелковский р-н, п. Биокомбината,
E-mail: vnitibp@mail.ru;
ЗАО «Биопрогресс»,
141142, Московская обл., Щелковский р-н, п. Биокомбината,
E-mail: info@bioprogress.ru

Разработаны технологии получения натриевой соли сукцината и аскорбата хитозана без использования органических растворителей для применения в медицине и ветеринарии.

Ключевые слова: сукцинат хитозана, аскорбат хитозана, технология получения

Основные требования, предъявляемые к качеству препаратов для применения в медицине и ветеринарии – водорастворимость, биосовместимость, нетоксичность, деградируемость в организме человека и животных. Существующие технологии получения производных хитозана во многом соответствуют этим критериям, но требуют применения токсичных органических растворителей, полное удаление которых из полимеров и олигомеров хитозана возможно лишь из их тонких пленок в высоком вакууме и при повышенных температурах, что для макрообъемов хитозана не представляется возможным. Нами были проведены исследования по разработке промышленных технологий получения N – замещенных производных хитозана, лишенного этого недостатака. Синтез солевых форм хитозана является наиболее простым и удобным способом получения водорастворимых производных. Разработанные нами технологии получения натриевой соли сукцината и аскорбата хитозана заключаются во взаимодействии активированного хитозана с янтарным ангидридом или аскорбиновой кислотой, нейтрализации свободных карбоксильных групп янтарной или аскорбиновой кислот раствором гидроокиси натрия, фильтровании полученного геля хитозана с последующим высушиванием на распылительной или лиофильной сушке.

UDC 636.52/58.083.085.16.

WATER-SOLUBLE FORMS OF CHITOSAN FOR USE IN MEDICINE AND VETERINARY MEDICINE

Albulov A.I., Samuyilenko A.J., Frolov, M. A., Grin, A. C., Muradyan J.Y., Germans, D. C.
All-Russia research and technological Institute of biological industry,
141142, Moscow region, Shchelkovo district, PA Biocarbonate,
e-mail: vnitibp@mail.ru;
CJSC "Bioprogress",
141142, Moscow region, Shchelkovo district, p. Biocarbonate,
e-mail: info@bioprogress.ru

The technologies developed to obtain sodium salt of succinate and chitosan ascorbate without the use of organic solvents for use in medicine and veterinary.

Keywords: chitosan succinate, ascorbate, chitosan, production technology

The main requirements to quality of products for use in medicine and veterinary – solubility, biocompatibility, non-toxicity, degradability in humans and animals. Existing technologies for derivatives of chitosan largely meet these criteria, but require the use of toxic organic solvents, the complete removal of the polymers and oligomers of chitosan is possible only from their thin films in high vacuum and at elevated temperatures, for macrovolume of chitosan is not possible. We have conducted research on the development of industrial technology of obtaining N – substituted derivatives of chitosan, deprived of this nedostatki. The synthesis of the salt form of chitosan is the most simple and convenient method of obtaining water-soluble derivatives. We have developed technologies for sodium salts of succinate and chitosan ascorbate lie in the interaction of activated chitosan with succinic anhydride or ascorbic acid, neutralization of free carboxyl groups of succinic or ascorbic acid with sodium hydroxide solution, filtering the obtained chitosan gel with subsequent spray drying or freeze drying.

УДК 57.085.23

ОЦЕНКА РЕГЕНЕРАЦИОННЫХ СПОСОБНОСТЕЙ ГИДРОГЕЛЕЙ И МИКРОГЕЛЕЙ НА ОСНОВЕ РЕКОМБИНАНТНОГО СПИДРОИНА

Белова М.С.[1], Легонькова О.А.[1], Савченкова И.П.[2], Давыдова Л.И.[3], Богуш В.Г.[3]
[1]*ФГБУ «Институт хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России, Москва, Россия*
117997, Москва, ул. Большая Серпуховская, д. 27
e-mail: ospolimed@mail.ru
[2]*ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко», Москва, Россия*
109428, Москва, Рязанский проспект, д. 24, к. 1
[3]*ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов» (ФГУП «ГосНИИгенетика»), Москва, Россия*
117545, Москва 1-й Дорожныйпроезд, д. 1

В результате исследования выяснено, что в присутствии гидрогелей и микрогелей жизнеспособность клеточных культур превышает контроль, что может способствовать регенеративным процессам при заживлении ран. При этом деструктированные образцы гидрогелей и микрогелей на основе рекомбинантного спидроина нетоксичны и биобезопасны.

Ключевые слова: культура клеток, жизнеспособность, ожог, порез, биобезопасность, регенерация, витальность.

Вопросы об этическом и экономическом использовании животных в рамках современных медико-биологических испытаниях привлекают все большее внимание специалистов и общественности. В данной работе для оценки медико-биологических свойств экспериментальных образцов гидрогелей и микрогелей разных серий, как нативных, так и деструктированных в процессах стерилизации при различных способах и режимах были использованы эмбриональные фибробласты мыши (STO) и мультипотентные мезенхимные стволовые клетки (ММСК), выделенные из костного мозга крупного рогатого скота.

Полученные данные свидетельствуют о проявлении регенеративной способности клеток ММСК в присутствии экспериментальных образцов, как при моделировании ожога, так и при моделировании пореза. В случае культур клеток STOрегенеративные способности ниже, чем в случае клеток ММСК, однако витальность в случае моделирования ожога превышает значения, получаемые при моделировании пореза.

Работа выполнена в рамках Соглашения о субсидии № 14.579.21.0017 от 05 июня 2013 г.

УДК 57.085.23

ASSESSMENT OF REGENERATIVE CAPACITY OF HYDROGELS AND MICROGEL BASED ON RECOMBINANT SPIDROIN

Belova M.S.[1], Legonkova O.A.[1], Savchenkova I.P.[2], Davudova L.I.[3], BogushV. G.[3]

[1]*A.V. Vishnevsky Institute of Surgery, Moscow, Russia*
117997, Moscow, BolshayaSerpukhovskaya Street, 27
e-mail: ospolimed@mail.ru

[2]*Y.R. KovalenkoAll-Russian Research Institute of Experimental Veterinary, Moscow, Russia109428, Moscow, RyazanskiyProspekt, 24-1*

[3]*Research Institute ofGeneticsandSelectionof Industrial Microorganisms («Genetika»), Moscow, Russia 117545, Moscow, 1-st DorozhnyDriveway, 1*

The study found that the vitaliy of the cell cultures combined specimenshydrogels and microgelsexceed there ferencevalues. This can contribute to regenerative processes in the healing of wounds. Also degraded samples of the hydrogels and microgels based on recombinantspidroin non-toxicandbiosafety.

Keywords: cell culture, viability, a burn, a cut, biosafety, regeneration, vitality.

Questions about the ethical and economic using of animals in contemporary medical and biological tests are increasingly attracting professionals and the public. In this work for evaluating the properties of biomedical hydrogels and experimental samples microgels different series, both native and degraded in sterilization processes at various ways and modes were used mouse embryonic fibroblasts (STO) and multipotent mesenchymal stem cells (MMSC), extracted from bone marrow of cattle.

The obtained data indicate the ability of regenerative cells manifestation MMSC in the presence of of experimental samples, as in the simulation burn and cut at modeling. In the case of cell cultures STO regenerative ability is lower than in the case of cells MMSC, but in case of simulation vitality burn exceeds the values obtained by simulation cut.

The work was carried out under Grant № 14.579.21.0017 dated 05 of June 2013 .

УДК 616.71-003.93

ПОВЫШЕНИЕ РЕГЕНЕРАТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ КОСТНОГО КОЛЛАГЕНА И РЕКОМБИНАНТНОГО КОСТНОГО МОРФОГЕНЕТИЧЕСКОГО БЕЛКА ЧЕЛОВЕКА RHBMP-2

Громов А.В., Бартов М.С., Никитин К.Е., Савина Д.М., Соболева Л.А., Субботина М.С., Грунина Т.М., Семихин А.С., Карягина А.С., Лунин В.Г.
ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф.Гамалеи» Минздрава России, г. Москва, РФ
123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д.18.
e-mail: alexander.v.gromov@gmail.com

Разработаны остеопластические материалы на основе высокоочищенного костного коллагена с добавлением рекомбинантного фактора роста кости rhBMP-2, обладающие высоким регенеративным потенциалом. Биологическая активность композитного материала и его компонентов показана в экспериментах *in vitro* и *in vivo*, проведены клинические испытания.

Ключевые слова: рекомбинантный костный морфогенетический белок человека 2, костный коллаген, деминерализованный костный матрикс, остеопластический материал, регенерация костной ткани.

Согласно результатам расширенной клинической апробации, остеоиндуктивность композиционных материалов, содержащих рекомбинантные костные морфогенетические белки (recombinant human bone morphogenetic proteins, rhBMPs), соответствует остеоиндуктивности аутологичного костного материала или превосходит ее. Костные морфогенетические белки являются важнейшими локальными факторами роста и регенерации костной ткани. Нами была разработана технология получения остеопластических материалов нового поколения «Гамалант» на основе деминерализованного костного матрикса (ДКМ), представляющего собой костный коллаген, с добавлением рекомбинатного rhBMP -2.

Биологическая активность полученного препарата rhBMP-2 показана в экспериментах *in vitro* по индукции синтеза щелочной фосфатазы в культурах эукариотических клеток C2C12 и C3H10T1/2. Оригинальная технология получения ДКМ включает биохимический контроль эффективности процессов по ряду параметров: содержание жира, кальция, фосфора, нативного BMP-2, влажность, pH, стерильность. Создана широкая линейка продуктов «Гамалант»: костная крошка различных размеров, композитные материалы, мембраны и др.

Остеоиндуктивность продуктов «Гамалант» оценивали в экспериментах на крысах на модели эктопического остеогенеза и при внутрикостной имплантации. Биохимический и гистологический анализ имплантируемых биокомпозитов демонстрировал высокую биосовместимость и остеоиндуктивность .

Клинические испытания разработанных материалов «Гамалант», проведенные в ведущих клиниках РФ, свидетельствуют о высоких потребительских качествах препаратов: у пациентов отсутствовали осложнения, регенерация проходила более эффективно, чем в среднем при аналогичных операциях. На разработанные изделия медицинского назначения получены регистрационные удостоверения и сертификаты соответствия.

INCREASE OF REGENERATION CAPABILITY OF OSTEOPLASTIC MATERIALS BASED ON BONE COLLAGEN AND RECOMBINANT BONE MORPHOGENETIC PROTEIN-2 (RHBMP-2)

Gromov A.V., Bartov M.S., Soboleva L.A., Subbotina M.S., Grunina T.M., Karpova T.A., Mishina D.M., Nikitin K.E., Semikhin A.S., Galushkina Z.M., Sergienko O.V., Karyagina A.S., Lunin V.G.

Gamaleya Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Russian Federation.
123098, Russian Federation, Moscow, Gamalei Str., 18
e-mail: alexander.v.gromov@gmail.com

Osteoplastic materials based on highly purified bone collagen containing recombinant bone regeneration factor rhBMP-2 with high regeneration capability are developed. Biological activity of composite material and its components was demonstrated by *in vitro* and *in vivo* experiments, clinical trials were performed.

Keywords: recombinant bone morphogenetic protein 2, bone collagen, demineralized bone matrix, osteoplastic material, bone tissue regeneration.

According to the results of expanded clinical testing, osteoinductivity of composite materials containing recombinant bone morphogenetic proteins (rhBMPs) corresponds to that of an autologous bone graft and even exceeds it. BMPs are local factors essential for bone growth and regeneration. Technology of production of the new generation osteoplastic material "Gamalant" based on demineralized bone matrix (DBM) constituting bone collagen with immobilized recombinant rhBMP-2 was developed.

Biological activity of rhBMP-2 was demonstrated by alkaline phosphatase assay in C2C12 and C3H10T1/2 cells. The original technology of DBM production involves biochemical control of the process efficiency by a number of parameters, that are lipid, calcium, phosphorus, native BMP-2 content, humidity, pH, and sterility. A wide range of "Gamalant" products was created, including bone chips of various grain size, composite materials, and membranes.

Osteoinductivity of "Gamalant" products was evaluated in experiments on rats in a model of ectopic osteogenesis and under conditions of intrabone grafting. Biochemical and histological analysis of the implanted biocomposites demonstrated their high biocompatibility and osteoinductivity.

Clinical trials of the developed Gamalant materials performed in leading clinical centers of the Russian Federation evidenced their great performance in patients: they lacked implications and regeneration proceeded faster than it is typical of the same procedures. The developed medical products were registered and certificates of suitability were received.

УДК 577

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СПОСОБОВ СТЕРИЛИЗАЦИИ НА СВОЙСТВА БИО ДЕГРАДИРУЕМЫХ ГИДРОГЕЛЕЙ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ НА ОСНОВЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ ПАУТИНЫ

Коротаева А.И.[1], **Легонькова О.А.**[1], **Винокурова Т.И.**[1], **Давыдова Л.И.**[2], **Богуш В.Г.**[2]

[1]*ФГБУ «Институт хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России, Москва, Россия*
117997, Москва, ул. БольшаяСерпуховская, д. 27
e-mail: ospolimed@mail.ru
[2]*ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов» (ФГУП «ГосНИИгенетика»), Москва, Россия*
117545, Москва 1-й Дорожныйпроезд, д. 1

Проведен сравнительный анализ реологических, органолептических и физико-химических свойств гидрогелей на основе рекомбинантного спидроина до и после стерилизации радиационным способом (доза облучения – 15 и 35 кГр, РХМ-γ-20, источник излучения ^{6}°Co, температура 293 К.) и методом тиндализации (3 цикла прогревания объектов исследования при температуре 90°С в течение 1 часа, выдерживания при температуре 25°С в течение суток). Показано, радиационная стерилизация оказывает дестабилизирующее воздействие на молекулы белка гидрогеля, что приводит к изменению технических и физико-химических показателей гидрогелевого изделия.

Ключевые слова: рекомбинантный спидроин, гидрогели, шелк паутинной нити.

Шелк паутинной нити является уникальным материалом, сочетающим высокую прочность и эластичность. Эти свойства, наряду с хорошей биологической совместимостью, делают шелк перспективным материалом для использования в тканевой инженерии. Спидроины– биосовместимые и биоинертные материалы, способные к биодеградации, подобны природному шелку и могут стать основой при создании матриксов для тканевой инженерии. Матриксы из рекомбинантного спидроина могут быть использованы для создания медицинских изделий. Одним из применений рекомбинатного спидроина может стать получение на его основе гидрогелевых раневых покрытий для лечения ран [1]. К таким покрытиям предъявляются требования биобезопасности, технические требования, обеспечивающие функциональные свойства разрабатываемых материалов, а также требования по стерильности. Различные способы стерилизации способны по-разному влиять на нативные свойства конечного изделия.

Анализ результатов проведенных исследований показал, чторадиационная стерилизация приводит к увеличению вязкости гидрогелей на основе рекомбинантного спидроина, уменьшению значения водородного показателя, изменению цвета и гомогенности. Обусловлено это тем, что при действии на полимеры ионизирующих излучений может происходить как деструкция, так и сшивка макромолекул. Тиндализация является длительным и энергозатратным процессом по сравнению с радиационной стерилизацией, однако, данный способ стерилизации является наиболее приемлемым для биологически активных веществ, в частности для рекомбинантных белков, поскольку он не приводит к потере нативных свойств препарата.

Работа выполнена в рамках Соглашения о субсидии № 14.579.21.0017 от 05 июня 2013 г.

Список литературы:

1. Пустовалова О.Л.Свойства трёхмерных матрико свизрекомбинатного аналога спидроина: Автореф. дисс. канд. биол. наук, 2010. – 23 с.

Работа выполнена в рамках ГК № 14.579.21.0017 от 05 июля 2013 г.

УДК577

INVESTIGATION OF STERILIZATION METHODS INFLUENCE ON THE PROPERTIES OF HYDROGEL MEDICAL DEVICES BASED ON RECOMBINANT SPIDERWEB PROTEINS

Korotaeva A.I.[1], **LegonkovaO. A.**[1], **VinokurovaT. I.**[1], **Davudova L.I.**[2], **BogushV. G.**[2]
[1]*A.V. Vishnevsky Institute of Surgery, Moscow, Russia*
117997, Moscow, Bolshaya Serpukhovskaya Street, 27
e-mail: ospolimed@mail.ru
[2]*Research Institute of Genetics and Selection of Industrial Microorganisms («Genetika»),*
Russia, 117545, Moscow, 1-st Dorozhny Driveway, 1

A comparative analysis of rheologic, organoleptic and physico-chemical properties of hydrogel based on recombinant spidroin was carried out before and after radiation sterilization (exposure dose – 15 and 35 kGy, PXM-γ-20, radiation source ^{60}Co, temperature 293 K) and tyndallization method (3 cycles of heating of the investigation objects at the temperature 90°C within 1 hour and aging at the temperature 25°C during the day). It was showen that radiation sterilization has a destabilizing effect on protein hydrogel molecules that leads to changes in technical and physico-chemical parameters of hydrogel devices.

Keywords: recombinant spidroin, hydrogel, arachnoid silk thread.

Arachonoid silk thread is unique material which combines high strength and elasticity. These properties along with good biocompatibility make silk promising material for use in tissue engineering. Spidroins are biocompatible and bioinertness materials are capable to biodegradation, they are like natural silk and can be the basis for creation of scaffolds for tissue engineering. Scaffolds out of recombinant spidroincan be used for creation of medical devices. Hydrogel wound dressings can be one of applications of recombinant spidroin [1]. Biosafety, technical and functional properties as well as sterility are requirements for such kinds of coatings. Various methods of sterilization have different impact on native properties of the final device.

Analysis of the obtained research results show that the radiation sterilization method leads to increase of viscosity of hydrogel, also it leads to reduction the pH value, discoloration and homogeneity change. It happens due to degradation and cross-linking of polymer macromolecules under the action of ionizing radiation. Tyndallization method is long and energy-intensive process in compression with radiation sterilization. However, this method of sterilization is the most suitable for our proteins.

The work was carried out under Grant № 14.579.21.0017 dated 05 of June 2013 .

List of references:

1. Pustovalova O.L.The properties of three-dimensional scaffolds of recombinant spidroinanalogue: Abstract of the thesis of Candidate of Biology, 2010. – 23 p.

Work is performed within SC No. 14.579.21.0017 of July 05, 2013.

УДК 615.45.015

НАНОРАЗМЕРНАЯ СИСТЕМА ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ АМФИФИЛЬНЫХ ПОЛИМЕРОВ ПОЛИ(N-ВИНИЛ-2-ПИРРОЛИДОНА)

Куликов П.П., Кусков А.Н., Лусс А.Л., Штильман М.И.
Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия
125047, Москва, Миусская пл., д. 9
e-mail: p.kulikov.p@gmail.com

Целью данной работы является разработка методов получения новой наноразмерной полимерной системы доставки лекарственных веществ на основе амфифильных полимеров N-винил-2-пирролидона. В качестве модельного лекарственного препарата предложенно использовать антибиотик широкого спектра действия рифабутин.

Ключевые слова: амфифильный полимер, наночастицы, поли(N-винил-2-пирролидон), рифабутин.

Были получены амфифильные производные поли(N-винил-2-пирролидона) с различной молекулярной массой гидрофильного фрагмента и одной гидрофобной концевой алкильной группой. Полимерные частицы с гидрофобным ядром были получены ультразвуковым методом с последующим испарения растворителя. По результатам измерения методом динамического светорассеяния размер загруженных рифабутином частиц не превышал 300 нм. ζ-потенциал частиц находился в диапазоне от -4 до -6 мВ. Критическая концентрация агрегации (ККА), определенная методом флуоресцентной спектроскопии, находилась в микромолярном диапазоне, что значительно ниже чем у существующих поверхностно активных веществ.

Была снята кинетика выделения рифабутина из наноразмерной формы. Результаты представлены на Рисунке 1.

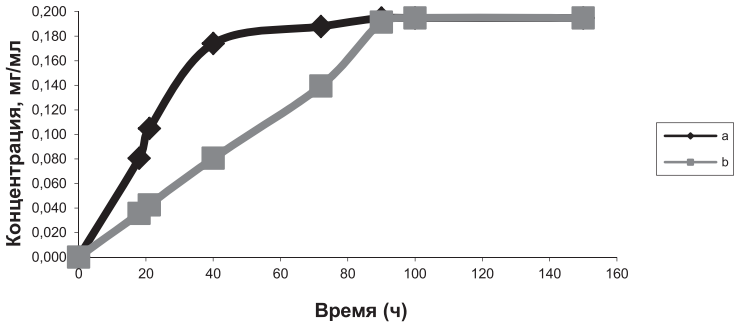


Рисунок 1. Кинетика выделения рифабутина из наноразмерная формы со слабым гидрофобным ядром (a) и с сильным гидрофобным ядром (b).

Из полученных данных можно сделать вывод, что скорость выделения лекарственного вещества можно регулировать путем изменения степени гидрофобности ядра.

NANOSCALE TRANSPORT SYSTEM FOR DRUG DELIVERY BASED ON AMPHIPHILIC POLY(N-VINYL-2-PYRROLIDONE)

P.P. Kulikov, A.N. Kuskov, A.L. Luss, M.I. Shtilman
Mendeleyev University of Chemical Technology of Russia, Moscow, Russia.
125047, Miusskaya sq. 9, Moscow, Russia.
e-mail: p.kulikov.p@gmail.com

The aim of this work is to develop methods for producing the new nanoscale polymeric form of the model drug based on amphiphilic polymers of N-vinyl-2-pyrrolidone. As a model drug in this paper proposed to use a broad-spectrum antibiotic rifabutin.

Keywords: amphiphilic polymer, nanoparticles, poly-N-vinylpyrrolidone, rifabutin.

Amphiphilic poly-N-vinylpyrrolidone derivatives (Amph-PVP) with different molecular weight of hydrophilic PVP fragment and one terminal hydrophobic n-alkyl fragment of different length were synthesized. The polymeric particles with hydrophilic core were prepared by solvent evaporation methods. From the dynamic light-scattering measurements, the size of the RB-loaded particles formed was less than 300 nm. Zeta potential of the particles was in the range from – 4 to – 6 mV. The critical aggregation concentration values determined by fluorescence spectroscopy were in micromole range which is lower than it is for common low molecular weight surfactants.

The kinetics of rifabutin release was determined for nanoscale polymeric form. The results are shown in Figure 1.

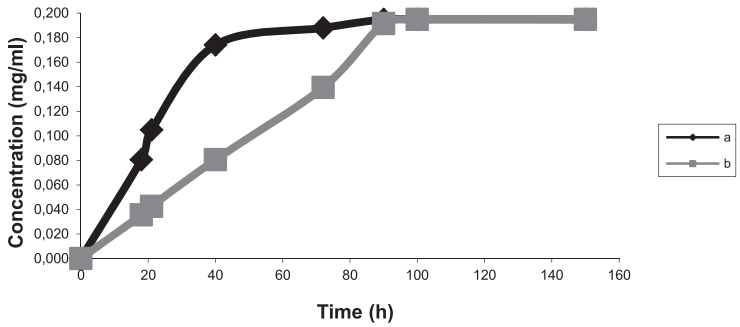


Figure 1. The kinetics of rifabutin release from nanoscale polymeric form with low hydrophobicity (a) and with high hydrophobicity (b).

From the data obtained it can be concluded that the rate of drug release can be controlled by varying the hydrophobicity of the core.

УДК 576.526.

ИММОБИЛИЗАЦИЯ ТРОМБОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА НА АДГЕЗИВНЫХ СУБСТРАТАХ С ПОМОЩЬЮ ТИКАГРЕЛОРА

Макаров М.С., Хватов В.Б., Боровкова Н.В.
ГБУЗ Научно-исследовательский институт скорой помощи имени Н.В. Склифосовского Департамента Здравоохранения г. Москвы
129090, Москва, Большая Сухаревская пл., д. 3.
e-mail: mcsimmc@yandex.ru.

Исследована возможность иммобилизации тромбоцитов человека на биоактивном стекле и коллагене 1-го типа с помощью антиагреганта тикагрелора. Установлено, что добавление в среду с адгезирующими тромбоцитами тикагрелора в конечном объеме 0,02% блокирует дальней-

шие структурные изменения в тромбоцитах, связанные с выбросом биологически активных веществ, что позволяет использовать тикагрелор для длительного закрепления тромбоцитов в составе комбинированных биотрансплантатов

Ключевые слова: тромбоциты, гранулы, тикагрелор, адгезия, иммобилизация.

Насыщение тромбоцитами биотрансплантатов позволяет значительно повысить их репаративный и регенеративный потенциал. Вместе с тем, использование необработанных или активированных тромбоцитов связано с риском потери значительной части их биологически активных компонентов. Для длительного закрепления тромбоцитов на поверхности адгезивных субстратов предлагается использовать блокатор тромбоцитарной активации, антиагрегант прямого действия тикагрелор.

В качестве адгезивных субстратов использовали бусины из биоактивного стекла и коллагеновые повязки на основе коллагена человека 1-го типа. Исследование адгезирующих тромбоцитов проводили с помощью метода оценки морфофункционального статуса тромбоцитов человека, основанного на анализе витально окрашенных клеток с помощью флуоресцентной микроскопии. Было установлено, что в присутсвии 0,02% тикагрелора адгезия тромбоцитов на стекле и коллагене останавливалась на стадии максимального распластывания, при этом порядка 90% адгезировавших клеток сохраняли гранулы в своем составе и не дегранулировали в течение 24 часов, тогда как в пробах без тикагрелора адгезия тромбоцитов сопровождалась их массовой дегрануляцией и необратимой активацией уже в течение 1 часа. Средняя концентрация закрепленных на субстрате тромбоцитов с гранулами составила 100 тыс/см^2, что эквивалентно 130-150 фемптограмм тромбоцитарного фактора роста. Таким образом, антиагрегант тикагрелор может быть использован для иммобилизации биологически полноценных тромбоцитов на адгезивных субстратах.

HUMAN PLATELET IMMOBILIZATION ON ADHESIVE SUBSTRATES, USING TIKAGRELOR

Makarov M.S., Khvatov V.B., Borovkova N.V.
Emergency Aim Research Institute of N.V. Sklifosovsky,
129090, Moscow, Bol'shaya Sukharevskaya squar, 3.

We investigated the possibility of human platelets immobilization on bioactive glass and I-type collagen by antiagregant tikagrelor. Adding of 0.02% tikagrelor to adhesing platelets blocks their further structural changes, associated with the release of biologically active substances, that allows the use of tikagrelor for a long-termed platelets immobilization inside combined biotransplants

Keywords: platelet, granules, tikagrelor, adhesion, immobilization

Producing of combined biotransplants with human platelets can objectively enhance their reparative and regenerative potency. The influx of untreated or activated platelets may be accompanied by high rate loss of biological active platelet components. With a view to blocking terminal stages of platelet one could use antiagregant agents, such as tikagrelor, fixing these cells on adhesive substrate surface.

The aim of our study was to assess the ability of human platelet immobilization on the bioactive glass and I-type human collagen, using antiagregant ticagrelor. Platelet analyzis was performed with morphofunctional platelet rate valuing, based on vital stained cells analysis with fluorescent microscopy. It was shown, that presence of 0,02% tikagrelor in plasma stabilized flattened form of adhesing

platelets, saving granules inside cytoplasm of 90% cells without subsequent degranulation during 24 hours, whereas in the samples without tikagrelor adhesion of platelets induced total degranulation and non-reversible activation within 1 hour. The average concentration of substrate-immobilized platelets with granules was $100*10^3/cm^2$, equivalent to 130–150 femptogramm of platelet growth factor. Therefore, tikagrelor is useful for long-termed immobilization of biologically high-grade platelets inside adhesive substrates.

УДК 378.141.4

ПОЛУЧЕНИЕ НАНОЧАСТИЦ, НАГРУЖЕННЫХ ИНСУЛИНОМ, ДЛЯ ПЕРОРАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВ

Журавлева Н.Н., Красноштанова А.А.

Федеральное Государственное Бюджетное Образовательное Учреждение Высшего профессионального образования Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева.

г. Москва, Российская Федерация.

125047, Москва, Миусская пл., д.9, РХТУ имени Д.И. Менделеева, bionatik@gmail.com

Разработана технология изготовления системы пероральной доставки лекарств – наночастиц, нагруженных исулином.

Ключевые слова: инсулин, инсулинозависимый сахарный диабет, система пероральной доставки лекарств.

Инсулин – полипептид, состоящий из двух цепей. Он является главным анаболическим гормоном – участвует в регуляции метаболизма, транспорта глюкозы, аминокислот, ионов, в синтезе белков.

При сахарном диабете Iтипа (инсулинозависимом) в результате аутоиммунной атаки разрушаются β-клетки островков Лангерганса поджелудочной железы, производящие инсулин. Это приводит к абсолютной инсулиновой недостаточности, которая вызывает гипергликемию и другие метаболические нарушения, что в итоге приводит к диабетическому кетоацидозу.

Широкое распространение и тяжелые осложнения сделали сахарный диабет важнейшей медико-социальной проблемой во всем мире. Пациенты с инсулинозависимым диабетом вынуждены делать инъекции инсулина. Такой способ не всегда удобен в повседневной жизни. Альтернативой ему могут быть pH-зависимые пероральные системы доставки лекарств, защищающие гормон от разрушения в желудке. В данной работе на основе альгиновой кислоты и хитозана были изготовлены наночастицы размером 650-800 нм более 1,5 ч, в которые далее были иммобилизованы молекулы инсулина. Хитозан и альгиновая кислота являются природными полиионами, не оказывающих негативного влияния на организм человека. Было установлено, что полученные наночастицы сохраняются при pH 1,2 что соответствует pH желудка и в неразрушенном виде проникают в двенадцатиперстную кишку, pH которой в норме достигает значений 5,6 – 7,9. Именно здесь начинается высвобождение инсулина из наночастиц. Хитозан, раскрывая плотные контакты между клетками эпителия кишечника, повышает биодоступность инсулина, помогая ему проникнуть в кровоток.

UDQ 378.141.4

DEVELOPMENT OF INSULIN CONTAINING NANOPARTICLES FOR NEW ORAL DRUG DELIVERY SYSTEM

Zhuravleva N.N., Krasnoshtanova A.A.
Federal State Educational Institution of Higher Professional Education D.Mendeleev University of Chemical Technology of Russia.
Moscow, Russian Federation.
125047, Moscow, Miusskaya Sq., 9, named after DI Mendeleev University Mendeleev, bionatik@gmail.com

Insulin is a polypeptide consisting of two polypeptide chains. It is a main anabolic hormone, it involved in the regulation of metabolism, transportation of glucose, amino acids and ions, in the involved synthesis of proteins.

Type 1 diabetes, also known as insulin-dependent diabetes, is a chronic condition that results from the autoimmune destruction of the insulin-producing beta cells that are located in the pancreas in clusters known as islets of Langerhans. The subsequent lack of insulin leads to absolute insulin deficiency which causes hyperglycemia and other metabolic disorders that eventually lead to diabetic ketoacidosis.

Widespread and severe complications of diabetes made it a major medical and socially significant disease worldwide. Patients with type 1 diabetes will need to take insulin injections every day for the rest of their life. Daily injections of insulin usually are uncomfortable in daily life. The most convenient alternative may be pH-dependent oral drug delivery systems.

In order to protect insulin from proteolytic enzymes in the gastrointestinal tract insulin was encapsulated in chitosan-alginate nanoparticles within 1.5 hours. The mean diameter of nanoparticles was 650-800 nm. Chitosan and alginic acid both are natural polyions and not have a negative impact to the human body. It was found that nanoparticles do not release insulin at pH 1.2 which corresponds to the pH of the stomach and then intact nanoparticles enter in the duodenum (pH 5.6-7.9).Here, in the duodenum, begins the release of insulin from nanoparticles. Chitosan can transiently and reversibly open the epithelial tight junctions, thus enhancing insulinbioavailability.

УДК 541.6

МОДИФИКАЦИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ НАПОЛНИТЕЛЕЙ В АРМИРОВАННЫХ КОМПОЗИЦИОННЫХ МАТЕРИАЛАХ НА ОСНОВЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМЕРОВ

Зыкова А.К., Пантюхов П.В., Попов А.А.

Российский экономический университет имени Г.В. Плеханова, г. Москва, Россия.
113054, Стремянный пер., д. 36, корпус 6, ауд. 542. E-mail: zykovaak@yandex.ru, pantyukhov@mail.ru, kafedrahim@yandex.ru.

Рассмотрены композиционные полимеры, армированные натуральными растительными волокнами, их свойства, основные модификации волокон и способы улучшения физико-механических свойств композиционных полимеров.

Ключевые слова: полимеры, композиционные материалы, биополимеры, биокомпозиты, натуральные растительные волокна.

Обострение экологической проблемы и сокращающиеся запасы нефти привели к ускоренной разработке и производству композиционных материалов на основе синтетических полимеров и растительных наполнителей.

Синтетические полимеры обычно армируют следующими видами волокон: лубяные волокна (лён, джут, конопля, рами, кенаф), волокна из листьев (абака, сизаль, ананас), волокна из семян (кокосовые волокна, хлопок), волокна из ядра (кенаф, конопля, джут), волокна из травы и тростника (пшеница, кукуруза, рис).

Физические свойства каждого вида волокна (размеры, дефекты, плотность, кристалличность) важны при выборе наполнителей для армирования синтетических полимеров.

Главным ограничением использования натуральных волокон в качестве наполнителя является их низкая совместимость с матрицами синтетических полимеров Повышение адгезии с различными полимерными матрицами – цель модификаций натуральных волокон. Модификации делятся на физические (без изменения состава композиции), химические (с применением сшивающего агента), ферментативные.

Физические модификации волокон включают коронирование, обработку низкотемпературной плазмой.

Химические методы направлены на понижение гидрофильности волокон на основе использования силана, малеинового ангидрида и метода ацетилирования.

Механические свойства композиционных материалов на основе полиолефинов и лигноцеллюлозных волокон повышаются вследствие использования компатибилизаторов. Модифицированные композиции имеют более равномерное распределение волокон в матрице полимера и большую величину межфазной адгезии.

MODIFICATION OF NATURAL FILLERS IN REINFORCED COMPOSITE MATERIALS ON SYNTHETIC POLYMERS BASIS

Zykova A.K., Pantyukhov P.V., Popov A.A.
Plehanov Russian University of Economics, Moscow, Russia.
113054, 542 office, building 6, Stremyanny alley, 36, Moscow, Russia. E-mail: zykovaak@yandex.ru, pantyukhov@mail.ru, kafedrahim@yandex.ru.

Composite polymers, reinforced with natural vegetable fibers, their properties, basic modifications and methods for improving the physical-mechanical properties of composite materials are considered.

Keywords: polymers, composite materials, biopolymers, biocomposites, natural vegetable fibers.

Intensification of the ecological problem and reducing oil reserves led to accelerated development and production of composite materials based on synthetic polymers and natural vegetable fibers.

Synthetic polymers are reinforced by following types of fibers: bast fibers (jute, flax, hemp, ramie and kenaf), leaf fibers (abaca, sisal and pineapple), seed fibers (coir, cotton), core fibers (kenaf, hemp and jute), and grass and reed fibers (wheat, corn and rice).

Physical properties of each type of fibers (dimensions, defects, density, and crystallinity) are essential for choosing fillers as reinforcement in synthetic polymers.

Major problem of limited usage of natural fibers as fillers is their low compatibility with synthetic matrices. The aim of natural fiber modifications is to improve their adhesion with different matrices. Natural fiber modifications are divided into physical (without changes in composition's compounds), chemical (with using of coupling agent), and enzyme modifications.

Physical methods include corona treatment, plasma treatment.

Chemical methods are aimed to reduce the hydrophilicity of the fibers with using of silane and maleic anhydride coupling agents, and acetylation method.

Mechanical properties of composite materials based on polyolefins and lignocellulose fibers increase as a result of using compatibilizers.

Modified compositions have better distribution of fibers in matrices of polymer and improved interfacial adhesion.

СЕКЦИЯ «БИОИНФОРМАТИКА»
SECTION "BIOINFORMATICS"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

УДК 57:51-76

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-КОМПЬЮТЕРНАЯ ИНЖЕНЕРИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПУТЕЙ ПРИ СОЗДАНИИ СУПЕРПРОДУЦЕНТОВ БАКТЕРИЙ И ДРОЖЖЕЙ

Акбердин И.Р.[1], Котенко А.В., Розанов А.С., Колчанов Н.А., Пельтек С.Е.[2]
ФГБУНИнститут цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия
630090, Новосибирск, Россия, пр. ак. Лаврентьева, 10
e-mail: [1]akberdin@bionet.nsc.ru, [2]peltek@bionet.nsc.ru

В работе представлены результаты экспериментально-компьютерных исследований по разработке суперпродуцентов молочной кислоты и биоэтанола для двух модельных систем: термофильных бактерий *Geobacillus*spp. и наиболее используемым организмом для промышленного получения биоэтанола из сахаров *Saccharomycescerevisiae*.

Ключевые слова: математическое моделирование, кинетические данные, молочная кислота, биоэтанол, *Geobacillus*, *Saccharomycescerevisiae*.

В настоящее время все большее внимание исследователей и биотехнологических компаний приобретают возобновляемые источники энергии. Предполагается, что наиболее перспективным источником для получения энергии и материалов в ближайшее время станут сахара из лигноцеллюлозной биомассы растений (Kasi and Ragauskas, 2010). Использование смеси сахаров предполагает наличие возможности их утилизации микроорганизмами-продуцентами. Использование бактерий и дрожжей для наработки белка и метаболитов широко используется в современной биотехнологии. Первоначально для этого применялись природные продуценты. Такой подход требовал широкомасштабных исследований методами скрининга природных популяций бактерий. Применение методов статистического мутагенеза позволило направленно изменять генетический материал микроорганизмов, а вместе с ним и их метаболические свойства и, в результате, достичь значительных успехов по наработке целевых продуктов: как белков, так и метаболитов (Parekh et al., 2000). Стоит отметить, что молекулярно-генетические процессы осуществляются при участии огромного количества взаимосвязанных компонентов этих систем: ферментов, регуляторных элементов, низкомолекулярных соединений и кофакторов. Выявление закономерностей, поиск новых биологических знаний на основе анализа таких объемных разнородных и разномасштабных экспериментальных данных требуют использования современных теоретических подходов, в частности, метода математического моделирования. В рамках доклада будут представлены разработанные и адаптированные к имеющимся экспериментальным данным соответствующие математические модели биосинтеза биоэтанола и молочной кислоты в клетках *Geobacillus*spp. и *S. cerevisiae*. Будет продемонстрировано, что математические модели позволяют осуществлять *insilico* планирование экспериментов методами молекулярно-генетической инженерии, предсказывать динамику изменения концентрации синтезируемых биоэтанола и молочной кислоты в зависимости от молекулярно-генетических манипуляций с активностью ферментов метаболической системы.

Kasi D., Ragauskas A.J.Switchgrass as an energy crop for biofuel production: A review of its ligno-cellulosic chemical properties // Energy & Environmental Science. 2010. Vol. 3. №9.P. 1182–1190.

Parekh S., Vinci V.A., Strobel R.J.Improvement of microbial strains and fermentation processes // *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2000. Vol. 54. №3. P. 287-301.

УДК 57:51-76

EXPERIMENTAL-COMPUTATIONAL APPROACH TO CONSTRUCT BACTERIAL AND YEAST HYPERPRODUCERS

AkberdinI.R.[1], KotenkoA.V., RozanovA.S., KolchanovN.A., PeltekS.E.[2]
Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia
Lavrentyevaave., 10, Novosibirsk, Russia,630090
e-mail: [1]-akberdin@bionet.nsc.ru, [2]-peltek@bionet.nsc.ru

We have presented results of experimental-computational investigations on the development of lactic acid and bioethanol hyper producers for two model systems: thermophilic bacteria *Geobacillus*spp. and such most used organism for industrial bioethanol production from sugar as *Saccharomyces cerevisiae*.

Keywords mathematical modeling, kineticdata, lactic acid, bioethanol, *Geobacillus*, *Saccharomycescerevisiae*.

Currently, more and more attention of researchers and biotech companies acquire renewable energy. It is assumed that the most promising source for energy and materials will soon become sugar from lignocellulosic biomass plants (Kasi and Ragauskas, 2010). Using a mixture of sugars presupposes the possibility of their utilization by microorganisms-producers. The application of bacteria and yeast to production of proteins and metabolites are widely used in the modern biotechnology. Originally, the natural producers were used for that. The approach required comprehensive studies by screening methods of natural bacterial populations. Application of statistical mutagenesis methods allowed to directly modify the genetic material of microorganisms, and with it, their metabolic properties. As a result, the considerable success in operating time of the target products: both proteins and metabolites was achieved (Parekh et al., 2000). It is worth noting, that moleculargenetic processes are result of interactions between a huge number of system's components (enzymes, regulatory entities, substances and cofactors). Identification of patterns and the search for new biological knowledge on basis of the analysis of such heterogeneous and multiscale experimental data require the use of modern theoretical approaches, in particular, the mathematical modeling method. Mathematical models of the ethanol and lactic acid biosynthesis in the cells of *Geobacillus spp*.and *S. cerevisiae* developed and adapted to the available experimental data will be presented. It will be shown that mathematical models allow the in silico design of experiments by methods of molecular genetic engineering to predict the dynamics of changes in the concentration of synthesized ethanol and lactic acid depending on the molecular genetic manipulation with enzymes activity of the metabolic system.

Kasi D., Ragauskas A.J.Switchgrass as an energy crop for biofuel production: A review of its lignocellulosic chemical properties // Energy & Environmental Science. 2010. Vol. 3. №9. P. 1182–1190.

Parekh S., Vinci V.A., Strobel R.J. Improvement of microbial strains and fermentation processes // *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2000. Vol. 54. №3. P. 287-301.

УДК 51-76

СИСТЕМНО-ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ В ПРОЦЕССЕ РАЗРАБОТКИ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ: ПРАКТИЧЕСКИЙ ОПЫТ СОТРУДНИЧЕСТВА С ВЕДУЩИМИ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИМИ КОМПАНИЯМИ

Демин О.В., Соколов В., Воронова В., Смирнов С., Степанов А., Демин О.О., Никитич А.
Институт Системной Биологии, Москва, Россия,
117246, Москва, Научный проезд, д. 20, стр. 2, Технопарк Слава
e-mail: demin@insysbio.ru

Рассматриваются два примера применения системно-фармакологического моделирования в процессе разработки новых лекарственных препаратов.

Ключевые слова: системно-фармакологическое моделирование; разработка лекарств.

Цель. Продемонстрировать, какой вклад может вносить применение системно-фармакологического моделирования в создание новых лекарственных препаратов. Привести примеры применения системно-фармакологического моделирования в реальных проектах разработки новых лекарственных препаратов.

Методы: Системно-Фармакологическое Моделирование (СФМ) представляет собой количественный подход для динамического описания регуляторных механизмов, лежащих в основе возникновения и развития заболеваний, и механизмов действия лекарственных препаратов, применяемых для лечения этих заболеваний [1]. Математические модели, построенные в рамках этого подхода, сочетают болезнь-специфическое описание внутриклеточных путей [2] и путей клеточной динамики [3] с количественным описанием фармакокинетики[4] и фармакодинамики препаратов.

Результаты. Применение СФМ в процессе разработки лекарственных препаратов иллюстрируется на 2-х практических примерах из разных терапевтических областей, взятых из опыта сотрудничества ИСБМ с ведущими мировыми фармацевтическими компаниями: (а) диабет 2 типа, (б) онкология.

1. Agoram BM, Demin O.//Drug Discov Today2011.Vol. 16, P. 1031–6.
2. Demin O., Karelina T., Svetlichniy D., Metelkin E., Speshilov G., Demin O Jr, Fairman D., van der Graaf PH, Agoram B.M.//CPT PharmacometricsSystPharmacol. 2013 Vol. 2, Article e74.
3. Demin OO, Smirnov SV, Sokolov VV, Cucurull-Sanchez L, Pichardo-Almarza C, Flores MV, Benson N, Demin OV.//BMC Syst Biol. 2013 Vol.7, Article 56
4. Demin Jr O., Yakovleva T., Kolobkov D. and Demin O.//Front. Pharmacol. 2014.Vol. 5, Article218

UDC51-76

SYSTEMS PHARMACOLOGY MODELING IN DRUG RESEARCH AND DEVELOPMENT: PRACTICAL EXPERIENCE IN COLLABORATION WITH PHARMACEUTICAL COMPANIES

Demin O.V., Sokolov V., Voronova V., Smirnov S., Stepanov A., Demin O.O., Nikitich A.
Institute for Systems Biology, Moscow, Russia,
117246, Moscow, Nauchniyproezd, 20, bldg. 2, TechnoparkSlava
e-mail: demin@insysbio.ru

Two case studies illustrating application of systems pharmacology modeling in drug research and development are presented.

Keywords: systems pharmacology modeling; drug development.

Purpose. To demonstrate how systems pharmacology modeling can contribute to drug research and development. To illustrate bene fits of application of the technique by several examples.

Methods. Systems Pharmacology (SP) Modeling is a technique for quantitative dynamic description of regulatory mechanisms of disease development/progression and mechanisms of drug action at intracellular/tissue/organism levels [1]. Mathematical models developed in framework of the approach combine disease-specific description of intracellular pathways [2], cell dynamics [3], drug pharmacokinetics [4], tissue cross-talks and allows to express intracellular effects of the drug in terms of clinically measured biomarkers and end-points.

Results. Application of SPM in drug research hand development is illustrated by two case studies. These case studies originate from our experience in collaboration with leading pharmaceutical companies and cover following therapeutic areas: (a)type 2 diabetes, (b) oncology.

1. Agoram BM, Demin O. //Drug Discov Today 2011. Vol. 16, P. 1031–6.
2. Demin O., Karelina T., Svetlichniy D., Metelkin E., Speshilov G., Demin O Jr, Fairman D., van der Graaf PH, Agoram BM.//CPT Pharmacometrics SystPharmacol. 2013 Vol. 2, Article e74.
3. Demin OO, Smirnov SV, Sokolov VV, Cucurull-Sanchez L, Pichardo-Almarza C, Flores MV, Benson N, Demin OV.//BMC Syst Biol. 2013 Vol. 7, Article 56
4. Demin Jr O., Yakovleva T., Kolobkov D. and Demin O.//Front. Pharmacol. 2014. Vol. 5, Article 218

КОМПЛЕКСЫ УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБОК С ПРОТИВООПУХОЛЕВЫМИ ПРЕПАРАТАМИ ДОКСОРУБИЦИНОМ И ПАКЛИТАКСЕЛЕМ

Дьячков Е.П., Дьячков П.Н.
Институт общей и неорганической химии Российской академии наук, Ленинский пр. 31,
119991Moscow, Россия

Углеродные нанотрубки привлекательны для многих биомедицинских применений. Доставка противоопухолевых лекарств важный способом такого применения. Паклитаксель и доксорубицин – средства для химиотерапевтического лечения рака, но они имеют низкую растворимость в водном растворе. Препараты могут быть более эффективно использоваться, если они будут доставлены прямо в пораженные ткани. Это может быть обеспечено с помощью нанотрубок, поскольку они накапливаются в пораженных тканях и образуют комплексы с указанными препаратами. Нанотрубки почти нерастворимы в воде, но их ком-

плексообразование с поли(этиленгликолем) приводит к водорастворимым производным. Цель настоящего исследования оценить зависимости энергии комплексов нанотрубок с лекарствами и поли(этиленгликолем) и дать рекомендации о том, какие нанотрубки образует наиболее устойчивые двойные и тройные комплексы с этими молекулами. Для оценки структуры и стабильности комплексов, использованы методы молекулярного докинга и динамики. Показано, что для нанотрубок малого диаметра d < 14,9 Å паклитаксель располагается на внешней стороне нанотрубки. Для нанотрубок больших диаметров, паклитаксель располагается в полости нанотрубок. Зависимость энергии связи паклитакселя от *d* немонотонна: комплексы паклитакселя с нанотрубками диаметром порядка 15 Å наиболее стабильны, молекула паклитакселя при этом расположена внутри нанотрубки. Для доксорубицина наиболее стабильны комплексы с нанотрубками с *d* ~ 13,5 Å и также внутренним расположением нанотрубки. Внешнее или внутреннее расположение поли(этиленгликоля) также диктуется диаметрим трубки. Однако граница диаметра отличается (*d* ~ 11 Å). Этот делает возможным получение носителей лекарственных средств с поли(этиленгликолем) внутри нанотрубки и молекулами лекарственных веществ на ее поверхности. Такими являются комплексы паклитакселя и доксорубицина с нанотрубками с 11 Å ≤ d ≤ 14,9 Å и 11 Å ≤ d ≤ 12,5 Å, соответственно.

1. E.P. D'yachkov, P.N. D'yachkov Nanosci. and Nanotechnol. Lett. 5, 1–3, 2013
2. N.V. Kiruta, E. P. D'yachkov, P. N. D'yachkov. Computer Modelling and New Technologies, 15, No. 4, 16–22, 201

COMPLEXES OF CARBON NANOTUBES WITH ANTITUMOR DRUGS DOXORUBICIN AND PACLITAXEL

Evgeny P. D'yachkov and Pavel N. D'yachkov
Kurnakov Institute of General and Inorganic Chemistry of the Russian Academy of Science, Leninskii pr. 31, 119991Moscow, Russia

Carbon nanotubes are attractive for many biomedical uses. Antitumor drug delivery is an important way to use nanotubes. Paclitaxel and doxorubicin are the drugs for the chemotherapeutic treatment of cancer, but they have very low solubility in aqueous solution. The drugs can be more widely and efficiently used in practice if they are delivered directly to diseased tissue. This can be provided by using nanotubes since they are accumulated in diseased tissue and form complexes with the drugs. Nanotubes are almost insoluble in water, but their complexation with poly(ethylene glycol) leads to water soluble nanotube derivatives. The present study is aimed at estimating the dependence of the energy of complex formation of nanotubes with the drugs and poly(ethylene glycol) and giving recommendations on what type of nanotubes would form the most stable binary and ternary complexes with these molecules. To assess the structure and stability of the complexes, we used the molecular docking and dynamics techniques. It is shown that for nanotubes of small diameters *d* < 14.9 Å of any chirality, the paclitaxel molecule is located on the outside of nanotube. For nanotubes of larger diameters, paclitaxel is located inside the tubule. The dependence of the paclitaxel bond energy on the tube diameter is nonmonotonic: the paclitaxel complexes with nanotubes ~15 Å in diameter are the most stable, the paclitaxel molecule being located inside the nanotube. For doxorubicin, the complexes with nanotubes having *d* ~ 13.5 Å are the most stable, the drug is also located inside the nanotube. The external or internal location of poly(ethylene glycol) is dictated by the tube diameter too; however, the boundary diameter is different (*d* ~ 11 Å). This fact makes it possible to obtain the excellent drug carriers with the poly(ethylene glycol) mol-

ecule being inside and the drugs molecules outside the nanotube. This pertains to the complexes of the paclitaxel and doxorubicin with nanotubes with 11 Å ≤ d ≤ 14.9 Å and 11 Å ≤ d ≤ 12.5 Å, respectively.

1. E.P. D'yachkov, P.N. D'yachkov Nanosci. and Nanotechnol. Lett. 5, 1–3, 2013
2. N.V. Kiruta, E. P. D'yachkov, P. N. D'yachkov. Computer Modelling and New Technologies, 15, No. 4, 16–22, 2011.

УДК 577.29:543.645.6:543.544.[5:941:182:922]:543.51:621.384.832

ТАГЕТИРОВАННАЯ ПРОТЕОМИКА: ВЫЯВЛЕНИЕ КАНДИДАТНЫХ СИГНАЛОВ ПЕПТИДА НА ГРУППЕ ХРОМАТОГРАММ

Филимонов А.Д.(м.н.с), Лисица А.В.(зам. дир., зав. лаб., член-корр. РАН, д.б.н.),
Лаборатория биоинформационных технологий
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича» (ИБМХ), Москва, Российская Федерация
119121, ул. Погодинская, д. 10, стр.8, эт. 2, комн. 202
e-mail: filimonov.a.d@gmail.com

Найден способ, позволяющий оператору хроматографа, сопряжённого с масс-спектрометром (LC-SRM), выявить кандитатные сигналы пептида либо проверить достоверность найденного сигнала. Для этого проявляется общий хроматографический профиль сигнала тремя неразрывными преобразованиями группы хроматограмм, выполняемыми автоматизировано ПО srm2prot Express.

Ключевые слова: тагетированная протеомика; определение белков; определение пептидов; детекция белков; детекция пептидов; жидкостная хроматография и масс-спектрометрия; сигнал пептида; хроматографический профиль; LC-SRM; обработка SRM данных; srm2prot.

В тагетированной протеомике и LC-SRM для определения интересующих белков биообразцов детекцией задаваемого протеотипического пептида требуется идентифицировать его сигнал на снятой группе хроматограмм. Из-за физических и технических ограничений масс-спектрометров типа тройной квадруполь (QQQ) на группе хроматограмм могут присутствовать сигналы нескольких, зачастую неизвестных, соединений (каждый такой сигнал оказывается кандидатным для заданного пептида). Но это не является неизбежным препятствием ни для обнаружения кандидатных сигналов, ни для определения сигнала заданного пептида среди них. В отличие от решения задачи идентификации пептидов её делегированием таким программным инструментам, как MASCOT, Sequest или X!Tandem, пока задачу детекции пептидов приходится решать, анализируя группы хроматограмм на экране вручную.

Хроматографический профиль потока элюируемого пептида передаётся образуемым из него QQQ потокам родительских и фрагментных ионов, т.о. являясь для них неявной меткой. Это проявляется во время элюирования пептида в приближённом геометрическом подобии его хроматограмм. При обработке SRM-данных ни программы общего назначения, поставляемые вместе с QQQ, ни специализированные программы не учитывают непосредственно феномен наследования хроматографического профиля. Для подтверждения этого феномена были описаны и изучены функции откликов и образуемых ими хроматограмм. В результате был создан способ, позволяющий

- проявить на некотором отрезке элюирования общий хроматографический профиль при помощи трёх неразрывных преобразований группы хроматограмм;

· соответствующими правилами обнаружить кандидатные сигналы пептида;

· сделать детекцию пептидов более формальной процедурой, без сглаживания и предположений о хроматографическом профиле, и существенно снизить влияние человеческого фактора на интерпретацию SRM-данных.

Построение из SRM-данных исходных и преобразованных групп хроматограмм реализовано в специально разработанном ПО srm2prot Express[1].

UDC 577.29:543.645.6:543.544.[5:941:182:922]:543.51:621.384.832

TARGETED PROTEOMICS: IDENTIFYING PEPTIDE CANDIDATE SIGNALS ON A GROUP OF CHROMATOGRAMS

Filimonov A.D.(Jr. Sci.), Lisitsa A.V.(Deputy Director, Head of Lab., Dr. Sci.),
Laboratory of Bioinformational Technologies
Institute of Biomedical Chemistry (IBMC), Moscow, Russian Federation
202 apt., 10 building 8, Pogodinskaya street, 119121
e-mail: filimonov.a.d@gmail.com

The method was found which allows to the operator of LC-SRM system to identify candidate signals of the targeted peptide or to verify the accuracy of the found signal. For this purpose the chromatographic profile is revealed by three continuous transformations of a group of chromatograms. The transformations are executed in automated mode by srm2prot Express software.

Keywords: targeted proteomics; proteins determination; peptides determination; proteins detection; peptides detection; liquid chromatography and mass-spectrometry; peptide signal; chromatographic profile; LC-SRM; SRM data processing; srm2prot.

In targeted proteomics and LC-SRM for the determination of proteins in complex biosamples by detecting the targeted proteotypic peptide there is a need for the identification of peptide's signal on the acquired chromatogram group. Due to the physical and technical limits of triple quadrupole mass spectrometers (QQQ), the signals of several, often unknown, compounds may be located on the chromatogram group (each such a signal turns out as candidate for the targeted peptide). But this is an unavoidable obstacle neither for indentifying candidate signals nor for determining the signal of the targeted peptide among them. Unlike solving the task of identifying peptides by delegating it to such software tools as MASCOT, Sequest, or X!Tandem, the task of detecting peptides is still generally solved by analyzing chromatogram groups on screen manually.

The chromatographic profile of an eluted peptide stream is inherited by parent or product ion currents thereof formed by QQQ, thus being the implicit tag for them. This results in approximate geometrical similarity of peptide's chromatograms during elution. While processing SRM data, general purpose programs supplied with QQQ or special-purpose programs do not take into account directly the phenomenon of chromatographic profile inheritance. To prove the phenomenon the SRM response functions and chromatogram functions formed by them were described and investigated. As a result, the method was developed that allows:

· revealing a common chromatographic profile on a certain elution extent by three continuous transformations of the chromatogram group,

· identifying peptide candidate signals using three generalized related rules,

[1] *http://msr.ibmc.msk.ru/srm2prot_express*

· accomplishing peptides detection as a more formal procedure, eliminating the necessity on smoothing and time wasting assumptions about a chromatographic profile, and also reducing significantly the impact of the human on the interpretation of SRM data.

The building of source and transformed chromatograms from SRM data is implemented in specially developed srm2prot Express software[1].

УДК 577.322

ВЫЧИСЛИТЕЛЬНЫЕ ПОДХОДЫ К ИДЕНТИФИКАЦИИ АГРЕГАЦИОННЫХ САЙТОВ И ВОЗМОЖНЫХ МЕХАНИЗМОВ АМИЛОИДООБРАЗОВАНИЯ БЕЛКОВ

Галзитская О.В., Довидченко Н.В.
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт белка Российской академии наук,
142290, Пущино, Московская обл., ул. Институтская д. 4
e-mail: ogalzit@vega.protres.ru

Проанализированы подходы к изучению образования амилоидов. Рассмотрены подходы для поиска участков, ответственных за образование амилоидов, и методы для выявления возможного механизма амилоидообразования белков и пептидов. Показано, что наилучшие методы по предсказанию амилоидогенных участков дают мета-серверы. Предложенные нами кинетические модели неплохо описывают ключевые характеристики образования и роста амилоидных фибрилл.

Ключевые слова: амилоидогенные участки, амилоиды; олигомеры, ядро протофибриллы, линейная и экспоненциальная кинетики

Несмотря на успехи в развитии и улучшении алгоритмов для предсказания амилоидогенных участков по аминокислотной последовательности в данной области исследований остаётся ещё много невыясненных моментов. Результаты нашего сравнительного анализа показали, что несмотря на текущий успех, индивидуальные алгоритмы имеют ограниченную точность и специфичность. Проблема, скорее всего, состоит в том, что базы данных, на которых отрабатываются методы, включают маленькие белки и их домены, а не короткие пептиды, образующие ядро фибриллы. Однако, более важная проблема состоит в том, что рассматриваемые методы никак не учитывают пространственную структуру изучаемых белков. Данная ситуация аналогична ситуации, связанной с предсказанием эпитопов на основе только первичной структуры белка, свойства эпитопа зависят от пространственной структуры белка и не могут быть аккуратно предсказаны, основываясь только на аминокислотной последовательности. Значительный прогресс был достигнут в понимании связи между нормальным и неправильным сворачиванием белков, и пониманию кинетических характеристик неправильного сворачивания белков и агрегации. Сложные кинетические модели были предложены для правильного описания путей образования амилоидов, которые включают нуклеацию, ветвление, фрагментацию и рост с поверхности. Однако, детальное структурное понимание этих шагов до сих пор остаётся непотным для большинства белков.

Работа поддержана Российским научным фондом, грант №14-14-00536.

[1] *http://msr.ibmc.msk.ru/srm2prot_express*

УДК 577.322

COMPUTATIONAL APPROACHES TO IDENTIFICATION OF AGGREGATION SITES AND THE POSIBLE MECHANISM OF PROTEINAMYLOID FORMATION

GalzitskayaO. V., Dovidchenko N.V.
Institute of Protein Research, Russian Academy of Sciences, 4 Institutskayastr., Pushchino, Moscow Region, 142290, Russia
e-mail: ogalzit@vega.protres.ru

Computational approaches to study amyloid formationare analyzed. Approaches to search for sites responsible for the formation of amyloid, and methods to identify the possible mechanism amyloid formation of proteins and peptides are considered. It is shown that the best methods for the prediction of amyloidogenic regions provide meta-servers. Our proposed kinetic models satisfactorily describe the key characteristics of the formation and growth of amyloid fibrils.

Keywords: amyloidogenicsegments, amyloid; oligomer, nucleusofprotofibril, linear and exponential aggregation kinetics

Despite recent advances in the development and improvement of the sequence-based amyloid prediction algorithms, much remains to be done in this area. The results of our comparative analysis show that, despite current improvements, individual algorithms have limited accuracy and specificity. Apparently, the methods that are entirely sequence-based are approaching their limit. The problem may perhaps be partially overcome by using the training sets containing small proteins and their domains rather than short peptides forming the amyloid core. However, a greater problem is that the existing prediction methods do not incorporate 3D structural information of the target proteins. The situation is somewhat analogous to the prediction of protein epitopes on the basis of the primary structure: in both instances, the properties of interest depend on the 3D protein structure and hence, cannot be accurately predicted based on the amino acid sequence alone. Sophisticated kinetic models have been proposed to accurately describe the complex pathways of protein fibrillation, which include nucleation, branching, fragmentation, and growth from the surface. However, detailed structural understanding of these reaction steps is still lacking for most proteins.

This study was supported by the Russian Science Foundation (grant number 14-14-00536).

ЭВОЛЮЦИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ГЕНОМОВ

Гельфанд М.С.
Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН, Москва, Россия
127994, Москва, Большой Каретный переулок 19
e-mail: gelfand@iitp.ru

Эволюцию бактериальных геномов можно изучать на разном уровне разрешения. Рассматривая геном как набор генов, можно описывать состав и эволюцию пан-геномов (полный набор генов всех штаммов вида или рода) и кор-геномов (гены, присутствующие во всех штаммах). Оказывается, что состав кор-геномов довольно быстро стабилизируется при добавлении новых штаммов, в то время как пан-геномы растут без заметного насыщения. В то же время, смягчая определение (например, включая в пан-геном гены, встретившиеся в 90% рассмотренных штаммов), можно получить быстрое насыщение. Рассматривая геном как последовательность генов, можно изучать эволюцию на уровне геномных перестроек (в частности, инверсий). Одним из наблюдений является то, что частота перестроек повышена в штаммах,

являющихся молодыми патогенами (Shigella spp., *Yersinia pestis*, *Burkholderia mallei*). Наконец, рассматривая геном как последовательность нуклеотидов, можно изучать гомологичную рекомбинацию и оценивать потоки генетической информации между штаммами.

EVOLUTION OF BACTERIAL GENOMES

Gelfand M.S.
A.A. Kharkevich Institute for Information Transmission Problems RAS, Moscow, Russia
127994, Moscow, B.Karetny per. 19
e-mail: gelfand@iitp.ru

Evolution of bacterial genomes may be studied at several levels Considering the genome as a set of genes, one may characterize pan- (genes present in at least one of strains of a species or genus) and core- (universal genes present in all strains) genomes. The core-genome size stabilizes relatively quickly upon addition of new strains, whereas pan-genomes usually do not show signs of saturation. However, relaxing the pan-genome definition, requiring that a gene is present in, say, at least 90% of considered strains, yields fast saturation. If a genome is considered as a sequence of genes, one may reconstruct the history of genome rearrangements (e.g. inversions). It turns out that the inversion rate increases in young pathogens (e.g. Shigella spp., *Yersinia pestis*, *Burkholderia mallei*). Finally, genome considered as a nucleotide sequence may show traces of homological recombination, and hence the recombination rate and the flow of genetic information between strains may be estimated.

УДК 577.218

ШАГАЮЩИЕ ПАССВЕИ, РАК И ЭВОЛЮЦИЯ

Кель А.Э.
Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия;
Институт системной биологии ООО, Новосибирск, Россия; geneXplain GmbH.
Адрес: 630090, Новосибирск, пр. Лаврентьева, д. 8
e-mail: alexander.kel@genexplain.com

Ключевые слова: регуляторные сети, мишени для лекарств, биоинформатика

«Если наши гены очень похожи, что же делает человека отличным от кишечной палочки? Ответ заключается в различии [механизмов] регуляции генов.» (Phillips, 2008). В данном докладе мы обсудим эволюционные преимущества высокой пластичности генных регуляторных сетей, характерной для многоклеточных эукариотических организмов. Эти эволюционные преимущества имеют определенную «цену», а именно наличие тяжелых болезней, таких как рак. Мы показываем что основой для реализации программ развития многоклеточных эукариотических организмов являются необратимые структурные изменения регуляторных сетей происходящие в результате эпигенетической «эволюции» регуляторных участков генома. С другой стороны, подобные эпигенетические изменения могут приводить к трансформации нормального состояния в состояние болезни. Мы называем такие структурные изменения в сигнально-регуляторных сетях, как «шагающие пассвеи». Анализ этого явления помогает нам понять механизмы молекулярных переключателей (например, между программой клеточной гибели (апоптоза) и программой выживания клеток), а также позволяет идентифицировать потенциальные и наиболее перспективные молекулярные мишени при поиске лекарственных средств против рака. Такая структурная пластичность регуляторных сетей, наблюдаемая в геномах выс-

ших эукариот, на наш взгляд, является результатом эволюционного «араморфоза» и появления совершенно нового механизма эволюции многоклеточных организмов на основе комбинаторного регуляторного кода. Работа частично поддержана грантом ФЦП№ 14.604.21.0101.

Phillips, T. Regulation of transcription and gene expression in eukaryotes //Nature Education 2008, Vol. 1, № 1, P. 199-200.

"WALKING PATHWAYS", CANCER AND EVOLUTION

Kel A.
Institute of chemical biology and fundamental medicine SB RAN, Novosibirsk, Russia; Institute of Systems Biology Ltd, Novosibirak, Russia, geneXplain GmbH, Wolfenbuettel, Germany.
Address: 630090, Novosibirsk, pr. Lavrentyeva 8
e-mail: alexander.kel@genexplain.com

Keywords: Regulatory networks, theraputic targets, bioinformatics

"If our genes are so similar, what really makes a human different from *E. coli*? The answer lies in the difference in [mechanisms of] gene regulation used." (Phillips, 2008). In this presentation I will discuss the evolutional advantages of high plasticity of gene regulatory networks that is characteristic of multicellular eukaryotic organisms. At the same time these advantages comes with the price – terrible diseases such as cancer. Non-reversible structural changes of the regulatory networks due to an epigenetic "evolution" of genome regulatory regions provide the basis for realization of normal development programs. On the other side they may cause transformations switching the normal state to a disease state. We call such structural network changes as "walking pathways". The analysis of this phenomenon helps us to understand the mechanisms of molecular switches (e.g. between programs of cell death and programs of cell survival) and to identify prospective drug targets of cancer. Such structural plasticity of regulatory networks observed in genomes of higher eukaryotes, in my view, is the result of an evolutional "aramorphose" towards emergence of completely new mechanism of evolution of multi-cellular organisms on the basis of combinatorial regulatory code. The work is partially supported by Russian Federal Targeted Program, grant№ 14.604.21.0101.

Phillips, T. Regulation of transcription and gene expression in eukaryotes //Nature Education 2008, Vol. 1, № 1, P. 199-200.

УДК 575.852

ШИРОКОМАСШТАБНЫЙ ПОИСК ПОТЕРЬ, ПРИОБРЕТЕНИЙ И НАРУШЕНИЙ СИНТЕНИИ ГЕНОВ У ПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ

Любецкий В.А., Рубанов Л.И., Байрамов А.В., Шандарин И.В., Иванова А.С., Русин Л.Ю., Зверков О.А., Селиверстов А.В., Зарайский А.Г.
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича Российской академии наук, Москва, Россия
127051, Москва, Большой Каретный переулок, дом 19 строение 1, e-mail: lyubetsk@iitp.ru

Поиск генов, отсутствующих у амниот и демонстрирующих в эксперименте возрастающую экспрессию при регенерации у анамний. Поиск исчезнувших и приобретённых генов, нарушений синтении в других группах позвоночных: потери у птиц, млекопитающих, четвероногих, а также приобретение у четвероногих, позвоночных, и т.д.

Ключевые слова: потеря гена, приобретение гена, нарушение синтении, амниоты, регенерация.

Молекулярные механизмы, регулирующие регенерацию конечностей у групп анамний (земноводные и рыбы), хорошо изучены. Причины понижения регенеративных способностей у амниот (птицы, рептилии, млекопитающие) до сих пор не ясны. Можно думать, что пониженная регенеративная способность амниот – результат реорганизации генной регуляторной сети, которая состоит примерно из одних и тех же генов у всех позвоночных. Мы предположили, что имеется ещё одна причина – исчезновение или существенное нарушение синтении генов в ходе эволюции позвоночных. Мы провели широкомасштабный поиск таких генов на основе оригинального алгоритма и его эффективной суперкомпьютерной реализации и идентифицировали небольшую группу генов у современных анамний, которые отсутствуют у амниот. Затем мы экспериментально установили, что экспрессия, по крайней мере, некоторых из этих генов активируется на ранних стадиях регенерации модельного объекта – ампутированного хвоста головастика шпорцевой лягушки. Можно ожидать, что дальнейший анализ этих генов позволит уточнить причины пониженной регенеративной способности амниот и, в том числе, человека. Наш алгоритм предсказал потери или нарушения синтении следующих генов амниот: ENSXETG00000016048 (foxo1), ENSXETG00000031627, ENSXETG00000033120, ENSXETG00000033543 (идентификаторы генов *Xenopus tropicalis* в базе данных Ensembl). Аналогично, ген ENSXETG00000023966 (sfrpx) потерян у птиц и млекопитающих, но сохранился у черепахи *Pelodiscus sinensis*; ген ENSXETG00000025525 (pnhd) потерян у млекопитающих, но сохранился у птиц и рептилий, и т.д.

Работа поддержана РФФИ (грант 13-04-40196-Н).

UDC 575.852

A LARGE-SCALE SEARCH FOR GENE LOSSES, GAINS AND SYNTENIC REARRANGEMENTS IN VERTEBRATE ANIMALS

Lyubetsky V.A., Rubanov L.I., Bairamov A.V., Shandarin I.V., Ivanova A.S., Rusin L.Yu., Zverkov O.A., Seliverstov A.V., Zaraisky A.G.
Institute for Information Transmission Problems of the Russian Academy of Sciences (Kharkevich Institute), Moscow, Russia
Bolshoy Karetny per. 19, build.1, Moscow 127051 Russia, e-mail: lyubetsk@iitp.ru

Searching for genes lacking in amniotes and experimentally shown to be higher expressed during regeneration in amphibians and fishes. searching for gene losses, gains, and syntenic rearrangements in other groups of vertebrates: losses in birds, mammals, tetrapods, as well as gene gains in tetrapods, vertebrates, etc.

Keywords: gene loss, gene gain, syntenic rearrangements, amniotes, regeneration.

While molecular mechanisms that regulate regeneration of the body appendages in anamniote groups (amphibians and fishes) are fairly well understood, the reasons of the reduced regenerative capacities in amniotes (birds, reptiles and mammals) are still not clear. It is believed that this reduced capacity is a result of a restructuring of the regulatory gene network, which is comprised of approximately the same set of genes in all vertebrates. We suggest that one more reason can be the loss or essential reshuffling of key genes involved in regeneration in the course of vertebrate evolution.

We performed a systematic search of such genes by using an original algorithm and its effective supercomputer realization, and identified a moderate set of genes in anamniotes that are missing in extant amniotes. We experimentally demonstrated that at least some of them are expressed at early stages in the model system of the *Xenopus laevis* tadpole tail regeneration. It is expected that further analyses of these genes might shed light on the causes of reduced regenerative abilities in amniotes, including humans. In particular, our algorithm predicted the loss or syntenic rearrangement of the following genes in amniotes: ENSXETG00000016048 (foxo1), ENSXETG00000031627, ENSXETG00000033120, ENSXETG00000033543 (the *Xenopus tropicalis* genes accessions in Ensembl). Analogously, the gene ENSXETG00000023966 (sfrpx) is lost in birds and mammals but is still present in the turtle *Pelodiscus sinensis*; the gene ENSXETG00000025525 (pnhd) is lost in mammals but is retained in birds and reptiles.

Research was funded by the Russian Foundation for Basic Research (grants 13-04-40196-H).

УДК 573.22

ИССЛЕДОВАНИЕ МОДЕЛЕЙ ЭВОЛЮЦИИ ГЕНОМОВ ОДНОКЛЕТОЧНЫХ ОРГАНИЗМОВ ДЛЯ ПРОСТРАНСТВЕННО РАСПРЕДЕЛЁННЫХ ПОПУЛЯЦИЙ

Матушкин Ю.Г., КлименкоА.И., ЛашинС.А.

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия
630090, Новосибирск, пр. Лаврентьева 10
e-mail: mat@bionet.nsc.ru

В проточной среде эволюция трофически связанных популяций одноклеточных приводит к разным результатам в разных разделах среды в зависимости от наличия или отсутствия хемотаксиса. В случае отсутствия хемотаксиса биоразнообразие в системе (количество популяций) резко сокращается.

Ключевые слова: эволюция, коэволюция, компьютерное моделирование, горизонтальный перенос, экологические сообщества, трофические связи

Полные сообщество – совокупность популяций одноклеточных, трофические взаимодействия которых представляют из себя полносвязный граф. Было проведено исследование моделей эволюции такого сообщества в пространственно-распределённой среде с протоком и диффузией. Изначально сообщество представляет собой симбиотическое кольцо из трёх популяций. Во время моделирования с определённой вероятностью происходят процессы горизонтального переноса генов (соответственно – установление новых трофических связей) и потери генетического материала. Появлялись новые клетки с новыми геномами, которые давали начало новым популяциям (или вымирали). Считалось, что одноклеточные живут в «одномерной трубе», т.е.наборе из ячеек, в каждой из которых все содержимое равномерно перемешивается, ячейки упорядочены и от 1-й к 10-й ячейке течет сквозной проток с неспецифическим и специфическими субстратами, которые вырабатывают популяции. Показано, что без хемотаксиса в ресурснобогатых(близких к притоку) ячейках преимущество получают популяции с более полными геномами, а в ресурснобедных–с менее полными. Для сквозного протока с хемотаксисом показано, что во всех многочисленных экспериментах смены доминант не происходит.В зависимости от локализации выживают разные субдоминантные популяции. По сравнению со случаем без хемотаксиса биоразнообразие в системе (количество популяций) резко сокращается.

UDC573.22

MODELS OF UNICELLULAR ORGANISMS' GENOME EVOLUTION IN SPATIALLY DISTRIBUTED POPULATIONS: A SIMULATION STUDY

MatushkinYu.G., KlimenkoA.I., Lashin S.A.
Institute of cytology and genetics SBRAS, Novosibirsk, Russia
630090, Laverntievave. 10, Novosibirsk
e-mail: mat@bionet.nsc.ru

In flow in genvironments, thee volution of trophic ally linked microbialpopulations leads to different cenariosin different environment tallocations depending on presence or absence of chemotaxis. In the latter case, biodiversity of a community (number of different populations) significantly decreases.

Keywords: evolution, coevolution, simulations, modeling, horizontaltransfer, ecological communities, trophic interactions

A"complete"community is a set of populations of unicellular organisms, trophic interactions of which represent a fully connected graph. We have analyzed models of evolution of such a community in spatially distributed environment taking into account flow and diffusion processes. We considered a symbiotic trophic ring of three populations as an initial community. During simulations, horizontal gene transfers (acquisition of novel trophic interactions, correspondingly) and gene loss events occurred. It led to the origin of novel type cells (possessing novel genomes), which could either form novel populations or extinct. Cellsassumedtolivein "one-dimensionaltube" i.e. set of small environmental nodes. In each node, substrates and cells assumed to be uniformly mixed. Non-specific substrate enters the system at 1st node. Both non-specific and specific substrates flow from 1st node to 10th node. It has been shown that if the chemotaxis switched off, metabolically-rich populations got advantage in substrate-rich nodes (i.e. close to the node 1), while metabolically-moderate benefited in substrate-poor nodes. In the case of chemotaxis-on community in flow-through environment, all simulation experiments supported miss of change of dominating populations. Various subdominant populations survive depending on their localization. As compared with the case without chemotaxis, biodiversity of a community (number of different populations) significantly decreases.

РЕШЕНИЕ ЗАДАЧ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ ГЕРОНТОЛОГИИ МЕТОДАМИ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ

Михальский А.И.
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем управления им. В.А. Трапезникова Российской академии наук
117997 Москва, ул. Профсоюзная 65
e-mail: ipuran@yandex.ru

Методы машинного обучения доказали свою эффективность при решении многих практических задач современности. Методы классификации применяются при постановке диагнозов в медицине, методы восстановления зависимостей используются при обработке результатов томографии, при разработке новых лекарственных препаратов, оценке состояния здоровья отдельных людей и целых популяций. Внедрение математических методов в исследование закономерностей старения различных организмов привело к возникновению новой дисциплины «геронтология *in silico*». В докладе рассматриваются проблемы, стоящие перед фундаменталь-

ной геронтологией, которые требуют разработки новых методов анализа данных и привлечения всей мощи методологии машинного обучения. Необходимость разработки таких методов обусловлена как экстенсивным развитием измерительной и экспериментальной базы биологических исследований, так и успехами в информационном обеспечении исследований по старению, в результате чего стало возможно создание объёмных баз данных по состоянию здоровья больших контингентов людей, доживших до преклонного возраста. Сочетание достижений в этих направлениях сделало возможным постановку задач о выявлении биологических, поведенческих и социальных детерминант как долголетия, так и бодрой старости. Решение этих задач ставит перед машинным обучением необходимость разработки методов анализа наборов данных, в которых число наблюдений мало по сравнению с количеством влияющих факторов, методов учёта как наличия ненаблюдаемых мешающих факторов, так и дополнительной информации о старении различных организмов, учёта генетического сходства и различия живых существ. В докладе обсуждаются пути развития таких методов.

SOLUTION OF FUNDAMENTAL GERONTOLOGY PROBLEMS USING MACHINE LEARNING METHODS

A.I. Michalski
V.A. Trapeznikov Institute of Control Sciences of Russian Academy of Sciences
65 Profsoyuznaya street, 117997, Moscow, Russian Federation
e-mail: ipuran@yandex.ru

Machine learning proved its effectiveness in many practical fields of modern life. Classification methods are used to make medical diagnoses, dependencies reconstruction methods are applied in tomography, in new drugs development and in health conditions assessment as at individual, so at population levels. Implementation of mathematical methods for investigation of ageing in different organisms gave rise to new discipline "gerontology *in silico*". The report is devoted to the problems, which fundamental gerontology is faced now, and which need development of new machine learning methods to apply all its power. The need in such methods is due to both factors: extensive development of experimental methodology in biological investigations and new developments in information support of ageing studies. All these resulted in composition of comprehensive data bases with information about health conditions of big groups of people survived till advanced age. Combination of these developments made it possible to formulate new tasks about search of biological, behavioral and social determinants of longevity and active ageing. Solution of such tasks make a demand to machine learning to develop methodology to analyze data sets where number of observations are less then number of affecting factors, methods to cope with unobserved disturbing parameters, methods to use additional information about ageing in different organisms and genetic similarities and differences in living organisms. Directions for development of such methods are discussed in the report.

УДК 577.322.4

ДИЗАЙН РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ. НОВЫЙ ПОДХОД

Некрасов А.Н., Зинченко А.А.
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва Россия
117997 г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10.
e-mail: alexei_nekrasov@mail.ru

Рассматривается новый подход к дизайну рекомбинантных белков, основанный на информационном контенте первичных структур. Приведены примеры использования метода при проектировании новых рекомбинантных белков.

Ключевые слова: элементы информационной структуры, метод АНИС, рекомбинантные белки.

Одной из основных проблем, возникающих при проектировании рекомбинантных белков на основе природных последовательностей, является нарушение механизма фолдинга. Основываясь на представлениях о том, что вся необходимая информация для формирования пространственной структуры белков содержится в их аминокислотных последовательностях, мы предложили математический метод анализа первичных структур белков, позволяющий выявлять особенности их структурной организации – метод анализа информационной структуры (метод АНИС). В основу метода положено новое приближение для описания первичных структур белков, обоснование которого было получено при исследовании информационной энтропии базы данных негомологичных белковых последовательностей. АНИС метод позволил выявить в первичных структурах нативных белков иерархически организованные элементы (ЭЛИС), отражающие особенности распределения структурной информации. Предложенный нами метод проектирования новых рекомбинантных белков основан на манипулировании фрагментами первичных структур нативных белков соответствующих ЭЛИС. Подтверждение эффективности предложенного подхода получено в экспериментальных работах с рядом белков: фактором некроза опухоли *h*TNF, белком теплового шока *h*HSP70, интерлейкином 13, белком gp181 из фага φKZ, 1-CYS пероксиредоксином и сериновой IgA1 протеазой менингококков.

УДК 577.322.4

DESIGN OF RECOMBINANT PROTEINS. A NEW APPROACH

Alexei N. Nekrasov, Alexei A. Zinchenko
Shemykin-Ovchinnikov institute of Bioorganic chemistry RAS
117997 Moscow, ul. Miklukho-Maklaya, 16/10.
e-mail: alexei_nekrasov@mail.ru

Here we review a new approach for design of recombinant proteins. This approach is based on informational content of protein sequences. We demonstrate some examples of this method application for design of novel recombinant proteins.

Keywords: elements of information structure, ANIS method, recombinant proteins.

When one uses natural sequences as a basis for design of recombinant proteins, one of the main problems encountered is a failure of the folding mechanism. All information required for protein

spatial structure formation is coded in their sequences, but current algorithms do not allow to reveal and investigate this structural information. We have proposed a mathematical method for protein sequence analysis. This method allows one to identify some characteristics of organization of structural information, and is named "method for ANalysis of Information Structure" (ANIS method). This method is based on a new approach for protein sequence description and was developed in a course of study of information entropy in a database of non-homologous protein sequences. ANIS method allows one to identify hierarchically organized elements (ELIS) in sequences of native proteins, thus demonstrating features of distribution of structural information in protein sequences. Our method for designing of new recombinant proteins is based on manipulation of fragments that correspond to ELIS. An evidence of the proposed approach effectiveness was obtained in experimental studies carried out for a number of proteins: tumor necrosis factor (*h*TNF), a heat shock protein (*h*HSP70), interleukin 13, a protein gp181 from phage φKZ, 1-CYS peroxiredoxin and meningococcal serine IgA1 protease.

COMPUTATIONAL BIOLOGY OF BLOOD: BASIC AND APPLIED ASPECTS

Panteleev M.A., Sveshnikova A.N., Nechipurenko D.Y., Belyaev A.V., Butylin A.A., Ataullakhanov F.I.
Center for Theoretical Problems of Physico-Chemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences, 4 Kosygina Str Moscow 119991 Russia, mapanteleev@yandex.ru, +7-495-93825333

Complexity of flowing blood has been a challenge for computational biology since its first days. The major problems in this field include: a) general hemodynamics; b) metabolism and rheological properties of red blood cells; c) signal transduction in platelets and formation of platelet thrombi; d) humoral defence systems of blood coagulation and complement. The efforts of the researchers in this field, including our group, are focused on the understanding of the basic aspects of the regulation of this processes, which poses significant complexities of biochemical, mathematical and computational origin. Methods to overcome these are discussed. We also present examples of using these approcaches for applications: design of erythrocyte-based metabolic bioreactors, analysis of the bleeding mechanisms in hemophilia and development of innovative bypasing drugs for pro-coagulant purposes, getting insights into the mechanisms of thrombus formation and ways of its conrol.

УДК 577.29

КЛАСТЕРИЗАЦИЯ ПРОТЕИНКИНАЗ ЧЕЛОВЕКА НА ОСНОВЕ СЕЛЕКТИВНОСТИ СУБМИКРОМОЛЯРНЫХ ИНГИБИТОРОВ

Погодин П.В.[1,2], Лагунин А.А.[1,2], Иванов С.М.[1,2], Вареница А.И.[1], Шатская М.А.[1], Шатинина С.З.[1], Поройков В.В.[1,2]
[1]*ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России; 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1*
[2]*ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича»; 119121, Россия, Москва, ул. Погодинская, д. 10, стр.8*
E-mail: pogodinpv@gmail.com

Проведена кластеризация протеинкиназ человека на основе селективности субмикромолярных ингибиторов. Результаты могут быть применены для рационализации экспериментального

скрининга потенциально селективных ингибиторов, выявления новых мишеней известных лекарств, анализа эволюционной биологии протеинкиназ.

Ключевые слова: кином, протеинкиназы, ингибиторы, селективность, сети.

Разработка лекарств, ингибиторов протеинкиназ, - активно развивающееся направление исследований, как в индустрии, так и в академии. Ингибиторы могут быть использованы для лечения широкого круга заболеваний, в основе патогенеза которых лежат процессы воспаления и нарушения нормальной пролиферации. Однако их применение ограничено, с одной стороны, серьезными побочными эффектами, следствием низкой селективности ингибиторов, а с другой стороны – часто возникающей резистентностью, следствием точечных мутаций протеинкиназ и перестроек сигнальных путей, участниками которых они выступают. Отсюда следует необходимость экспериментальной оценки селективности ингибиторов на самых ранних этапах разработки для выбора соединений, характеризующихся адекватным для коррекции определенного патологического состояния организма балансом между надежностью ингибирования определенного сигнального пути и побочными эффектами. Возможности применения существующей классификации протеинкиназ на основе сходства аминокислотных последовательностей киназных доменов для рационального планирования экспериментального скрининга весьма ограничены [1]. В ходе работы была создана выборка ингибиторов 270 протеинкиназ человека, содержащая соединения, активные в концентрациях до 1 мкМ. На основе выборки построена сеть взаимосвязей между протеинкиназами, выраженных через наличие общих ингибиторов, сеть была кластеризована. Выделенные кластеры, связи внутри них и между ними должны служить своего рода дорожной картой при планировании экспериментального скрининга потенциальных ингибиторов протеинкиназ, не требующей проведения дополнительных расчетов. В докладе обсуждаются причины серьезных расхождений между составом групп протеинкиназ, выделенных при кластеризации на основе селективности ингибиторов и сходства аминокислотных последовательностей киназных доменов, с точки зрения эволюционной биологии.

1. Davis M.I.et al. Comprehensive analysis of kinase inhibitor selectivity //Nature biotechnology. – 2011. – Vol. 29. – №. 11. – P. 1046-1051.

UDC 577.29

CLUSTERIZATION OF HUMAN PROTEIN KINASES BASED ON SELECTIVITY OF SUB-MICROMOLAR INHIBITORS.

Pogodin P.V.[1,2], **Lagunin A.A.**[1,2], **Ivanov S.M.**[1,2], **Varenitsa A.I.**[1], **Shatskaya M.A.**[1], **Shatinina S.Z.**[1], **Poroikov V.V.**[1,2]

[1]*Pirogov Russian National Research Medical University; 117997, Russia, Moscow, Ostrovitianov str. 1*

[2]*Institute of Biomedical Chemistry; 119121, Russia, Moscow, Pogodinskaya str. 10, building 8*

E-mail: pogodinpv@gmail.com

Clusterization of human kinases based on selectivity of sub-micromolar inhibitors has been accomplished. Results may be used to rationalize experimental screenings, to identify new targets for existing drugs, to analyze evolutionary biology of protein kinases.

Keywords: kinome, protein kinases, inhibitors, selectivity, networks.

Development of new kinase inhibitors is an area of interests for many scientists from both industry and academia. Such inhibitors may be applied as agents for treatment of wide range of inflammatory and proliferative diseases. However utilization of kinase inhibitors is limited by severe side effects,

which are the consequences of low selectivity. Also, it is limited by the acquired resistance to therapy, which is the consequence of high rate of single point mutations in protein kinase genes and dynamic nature of human kinome. This implies that experimental assessment of selectivity of kinase inhibitors at the early stages of drug discovery process is necessary. Since the aim is finding inhibitors, which are characterized by acceptable profile of selectivity, to achieve the balance between efficacy and safety. Applicability of existing protein kinases classification based on similarity of amino-acid sequences of kinase domains to optimize the experimental screening is limited [1]. In our study we created a set of sub-micromolar inhibitors of 270 protein kinases. The network of relationships between protein kinases was built using of this set. The network was clusterized. The derived clusters, relationships inside them and between them represent some kind of "Road Map", which may be used to plan rational experimental screenings without any additional computations. We will overview the reasons of serious differences between the results of clusterization based on inhibitors selectivity and similarity of amino acid sequences for human protein kinases from the point of view of evolutionary biology.

1. Davis M.I.et al. Comprehensive analysis of kinase inhibitor selectivity //Nature biotechnology. – 2011. – Vol. 29. – №. 11. – P. 1046-1051.

УДК 557.3

БИОИНФОРМАЦИОННАЯ СИСТЕМА ПОЛИОМИКА

Шлихт А.Г., Краморенко Н.В.
Дальневосточный федеральный университет, Школа биомедицины.
Владивосток, Россия.
г. Владивосток, Океанский пр-т, 19а – 605, e-mail: schliht@mail.ru

Разработана биоинформационная экспертная система Полиомика, объединяющая высокоструктурированные индексированные данные геномики, транскриптомики, экзомики, протеомики, метаболомики, нутригеномики, и обеспечивающая автоматические методы анализа больших данных.

Ключевые слова: геномика, транскриптомика, протеомика, метаболомика человека, нутригеномика, нутригенетика, экспертные системы, анализ больших данных.

Геном-ориентированные исследования приобретают все большую значимость в современной медицине и науках о жизни. Эти исследования в настоящее время дифференцируются на полиомики и требуют соответствующего инструментария для работы с большими данными, оперирующими с миллиардами записей. Необходимо не только хранить, но и иметь оперативный доступ к этим данным, зачастую вплоть до конкретного нуклеотида и аминокислоты в молекулах ДНК, РНК, протеинов. Имеющиеся в настоящее время многочисленные генетические биоинформационные системы представленные в интернете (NCBI, KEGG, SCUC, UniProt и др.), как правило, носят интерактивный характер, и не позволяют производить комплексный автоматический анализ больших массивов данных. Непосредственный доступ к первичным структурам хранимых данных в этих системах отсутствует. Мы видим конкатенированные данные в виде веб-страниц (в форматах HTML, XML, txt), автоматический анализ которых весьма затруднен.

В докладе рассматривается биоинформационная система (БИС) Полиомика, в которой первичная омик-ориентированная информация о ДНК, РНК, координатах генов, экзонов, интронов, соответствующих протеинов, пептидов представлена в высокоструктурированном индексиро-

ванном формате на основе реляционных баз данных, что позволяет производить комплексный автоматический анализ полиомных данных с выходом на диагностику, персонализированную медицину и питание. БИС Полиомика интегрирована с порталами NCBI, KEGG и др.

BIOINFORMATICS SYSTEM POLIOMIKA

Shlikht A.G., Kramorenko N.V.
Far Eastern Federal University, School of biomedicine.
Vladivostok, Russia.
Vladivostok, Ocean Ave, 19a – 605, e-mail: schliht@mail.ru

A Bioinformatics expert system Poliomika which brings together highly structured data indexed in genomics, transcriptomics, exomics, proteomics, metabolomics, nutrigenomics, and provides a way to automatically analyze large data.

Keywords: genomics, proteomics, metabolomics, transcriptomics man, nutrigenomics, nutrigenetics, expert systems, analysis of large data.

The genome-based research are becoming increasingly important in modern medicine and the life sciences. These studies are now differentiated in poliomics and require appropriate tools for dealing with large data, operating with billions of records. It is necessary not only to maintain but also to have access to this data, often down to a specific nucleotide and amino acids in molecules of DNA, RNA, and proteins. Many currently available genetic bioinformatics system presented in the Internet (NCBI, KEGG, SCUC, UniProt etc.) tend to be interactive in nature, and do not permit comprehensive automatic analysis of large data sets. Direct access to the primary structures of the data stored in these systems is not available. We see the concatenated data in the form of Web pages (HTML, XML, txt), automatic analysis which is very difficult.

The report discusses bioinformatics system (BIS) Poliomika, in which the primary omic-oriented information about DNA, RNA, coordinates of genes, exons, introns, the relevant proteins, peptides presented in a highly structured an indexed format, based on a relational database that allows comprehensive automatic analysis of poliomics data with access to diagnostics, personalized medicine and food. BIS Poliomika integrated with NCBI, KEGG portals, etc.

УДК 547.92.057

ИНГИБИТОРЫ ЦИТОХРОМА P450 17A1 И АНДРОГЕНОВОГО РЕЦЕПТОРА

Веселовский А.В.
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича» (ИБМХ)
Москва, Россия
ул. Погодинская, д.10, стр. 8; veselov@ibmh.msk.su

В докладе рассматриваются ингибиторы цитохрома P450 17A1 и антагонисты андрогенного рецептора.

Ключевые слова: цитохром P450, андрогенный рецептор, ингибиторы, антагонисты, ингибиторы двойного действия

1. Рак простаты является наиболее распространенным онкологическим заболеванием мужчин в развитых странах. Рост раковых клеток стимулируется андрогенными гормонами, поэтому одно из основных направлений терапии рака предстательной железы основано на применении соединений, препятствующих взаимодействию рецепторов с андрогенами. Было разработано большое количество антагонистов этого рецептора стероидной и нестероидной природы.

В последние годы повышенный интерес связан с ферментами, участвующими в синтезе андрогенов:17α-гидроксилазы-17,20-лиаза (CYP17A1), 3β-гидроксистероид-дегидрогеназы и стероид-5α-редуктазы.

Эффективными и специфичными ингибиторами CYP17A1 являются производные андрост-16-ена, модифицированные в положении 17 азотсодержащими гетероциклами, один из которых, абиратерон, используется в качестве препарата для лечения рака простаты, а другой, галетерон, проходит фазу 3 клинических исследований. Недавно нами показано, что ряд производных [17(20)E)]-прегна-5,17(20)-диена являются перспективными ингибиторами CYP17A1.

Общий стероидный скелет многих ингибиторов цитохрома P450 17A1 и антагонисто-андрогенного рецептора предполагает возможность создания соединений, одновременно действующих на оба белка. В работе обсуждаются найденные производные [17(20)*E*)]-прегна-5,17(20)-диена в качестве ингибиторов CYP17 и возможность их ингибировать андрогенных рецептор.

INHIBITORS OF CYTOCHROME P450 AND ANDROGEN RECEPTOR

Veselovsky A.V.
Institute of Biomedical Chemistry
Moscow, Russia
Pogodinskayastr., 10, b. 8

Inhibitors of cytochrome P450 17A1 and antagonists of androgen receptor are discussed.
Keywords: cytochrome P450, androgen receptor, inhibitors, antagonists, dual inhibitors

2. Prostate cancer is the most common oncological disease of men in developed countries. Cancer cells are stimulated by androgen hormones, so one of the main therapy for prostate cancer based on the use of compounds preventing the receptor interaction with androgens. Numerous steroid and nonsteroidal antagonists were designed and several of them are used in clinic.

In the last decade, the main attention was paid to develop the inhibitors of enzymes, participated in androgen hormones synthesis: 17a-hydroxylase-17,20-lyase (cytochrome P450 17A117a-гидроксилазы-17,20-лиаза (CYP17A1), 3β-hydroxysteroid-dehydrogenase and steroid-5a-reductase.

Several derivatives of androst-16-en are effective and specific inhibitors of CYP17A1, one of them, abiraterone, is used in clinic since 2011, and other, galeterone, is phase 3 of clinic research. Recently, we showed that several derivatives of 17(20)E-pregna-5,17(20)-diene are also perspective class of CYP17A1 inhibitors.

The common steroid skeleton of many inhibitors of cytochrome P450 17A1 and antagonists of androgen receptor proposed the ability to design the dual action inhibitors simultaneously blocked androgen receptors and CYP17A1. Report discussed recently developed derivatives of 17(20) E-pregna-5,17(20)-diene as inhibitors of CYP17A1 and there possibility to act as dual action inhibitors.

УДК 517: 539.2

НА ПУТИ К МАТЕМАТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ ОНТОГЕНЕЗА

Журавлев Ю.Н., Гузев М.А.Скурихин Е.Е.
Биолого-почвенный институт Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток, Россия
zhuravlev@biosoil.ru

Молекулярные события, сопровождающие экспрессию генетической информации в ходе индивидуального развития биологического объекта, рассмотрены с позиции их пространственного представления. Обсуждается модель онтогенеза биологического объекта в терминах дифференциальной геометрии и топологии

Ключевые слова: онтогенез, генотип-фенотип отображение, расслоение, конверсия, склеивание

Принципиальные события онтогенеза и экспрессии генетической информации представлены в терминах дифференциальной геометрии и теории категорий. Хроматин рассматривается как информационная матрица, работающая в вариантно-инвариантном режиме. В ходе отображения G→Ph, информационная матрица порождает наборы промежуточных баз транскриптов. Эти события классифицируются как расслоение над базой, что соответствует квантованию генетической информации. Каждая промежуточная база первого ранга может быть подвержена дальнейшему расслоению с образованием базовых элементов – гермов, – транскриптов из разных классов эквивалентности. Можно назвать классы mRNA, rRNA, tRNAи многие другие. Полагая гермы элементами биологического объекта как системы, мы проследили их превращения до момента, когда их траектории стали перекрещиваться на рибосоме в процессе трансляции. Трансляция интерпретируется как центральный пункт индивидуального развития, где локальная информация mRNA, глобальная информация генетического кода и глобальная информация химических систем объединяются в создании молекулярных, супрамолекулярных и более сложных биологических «инструментов», с помощью которых биологический объект взаимодействует с окружением. Понятие склеивания используется для формализации пересечения и слияния траекторий первичных фенотипических элементов, гермов, которые в результате склеивания дают пучки гермов и фенотип как целое.

TOWARDS THE MATHEMATICAL MODEL OF ONTOGENY

Yury N. Zhuravlev, Mikhail A. Guzev and Evgeny E. Skurikhin

Institute of Biology and Soil Science, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russian Federation
zhuravlev@biosoil.ru

Molecular events of the genetic information expression are considered from the viewpoint of space specific representation of individual development of biological object. Model of on to geny in terms of differential geometry and topology is discussed.

Keywords: ontogeny, modelling, fiber bundles, conversion, gluing

Principal events in ontogeny and those in genetic information expression were considered in terms of differential geometry and category theory. In genetic definition of biological objects, chromatin is considered as an information matrix that operates in the variant-invariant mode. In the course of successive mapping G→Ph, information matrix generates a number of interim bases (of transcripts). We consider these events the fiber bundles on the chromatin what corresponds to quantization of genome information.

Each interim base of the first range can be further decomposed into germs, which are represented by transcripts of different classes of equivalence, such as mRNAs, rRNAs, tRNAs, and many others. Considering the germs to be elements of biological object as a system, we follow their transmutation trajectories to the moment when they cross each other into the translation process. This crossing is interpreted here as a central point of ontogeny where the local mRNA information, global genetic code information, and global chemical information are combined to facilitate the construction of molecular, supramolecular, and more complex biological tools of biological object for its interactions with surroundings. The notion of gluing is used to describe the processes of crossing and merging the trajectories of the primary phenotypic elements, germs, which construct the bundles of phenotypic elements, bundles of bundles and the phenotype as a whole.

ПОСТЕРЫ
POSTERS

УДК 621.039.75

О ВОЗМОЖНОСТИ СУЩЕСТВОВАНИЯ КОМПЛЕКСА МЕЖДУ БАКТЕРИАЛЬНЫМИ ЛЮЦИФЕРАЗАМИ И ФЛАВИН-ЗАВИСИМЫМИ ОКСИДОРЕДУКТАЗАМИ СВЕТЯЩИХСЯ БАКТЕРИЙ И *E.COLI*

Деева А.А., Темлякова Е.А., Сорокин А.А., Немцева Е.В., Кратасюк В.А.
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии СФУ, Красноярск, Россия
660041, г. Красноярск, пр. Свободный 79
Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия
142290, г. Пущино, ул .Институтская 3
e-mail: ADeeva@sfu-kras.ru

Проведен структурный анализ многообразия флавин-зависимых оксидоредуктаз светящихся бактерий и *E. coli*. Обнаружено подобие в аминокислотном составе полипептидов и сходство в распределении электростатического потенциала на поверхности вблизи активного центра различных оксидоредуктаз. Выявлены возможные участки взаимодействия на поверхности оксидоредуктаз и люцифераз.

Ключевые слова: люцифераза; оксидоредуктаза; флавин-зависимые биферментные системы.

Бактериальные флавин-зависимые биферментные системы, состоящие из оксидоредуктазы и монооксигеназы, представляют собой удобную модель для исследования механизмов, лежащих в основе сопряженной работы ферментов. Биферментная система, состоящая из люциферазы и оксидоредуктазы, наиболее детально исследована. Существует гипотеза о формировании комплекса, способствующего прямому переносу восстановленного флавина между активными центрами данных ферментов. Однако строгого экспериментального доказательства существования такого комплекса пока получено не было.

В данной работе рассмотрены структуры всех расшифрованных аминокислотных последовательностей флавин-зависимых оксидоредуктаз биолюминесцентных бактерий и *E. coli*. Для них были предсказаны сайты посадки FMN, NAD и др.[1]и проведен анализ сходства первичной и третичной структур. Особенности распределения электростатического потенциала на поверхности оксидоредуктаз и люцифераз, по всей видимости, указывают на возможность образования комплекса.

Работа была поддержана грантом РФФИ № 14–34–50215-мол_нр.

1. Marchler-Bauer A. et al. CDD: conserved domains and protein three-dimensional structure // Nucleic acids research. – 2012. – 41(D1). – P. 348-352

УДК 621.039.75

ON EXISTENCE OF COMPLEX BETWEEN BACTERIAL LUCIFERASE AND FLAVIN-DEPENDENT OXIDOREDUCTASES FROM LUMINOUS BACTERIA AND *E.COLI*

DeevaA. A., Temlyakova E.A., SorokinA.A., Nemtseva E.V., Kratasyuk V.A.
Institute of fundamental biology and biotechnologySibFU, Krasnoyarsk, Russia
660041, Krasnoyarsk, Svobodny str. 79
Institute of cell biophysicsRAS, Pushchino, Russia
142290, Pushchino, Institutskaya str. 3
e-mail: ADeeva@sfu-kras.ru

The great variety of luminous bacteria and *E. coli* flavin-dependent oxidoreductases was analyzed. Amino acid composition similarity and common electrostatic potential motifs on the protein surface were revealed for the studied oxidoreductases. Possible regions involved into interaction between oxidoreductase and luciferase were determined and analyzed.

Keywords: luciferase; oxidoreductase; flavin-dependent bienzymatic systems.

Two-component flavin-dependent systems consist of oxidoreductase and monooxygenase. They are widely spread in bacteria and are well-studied. The detailed study of the system is extremely important for understanding of particular mechanisms underlying enzymes coupled work. Bacterial luciferase and oxidoreductase are the most well-studied example of the systems. The proposed mechanism of coupled work of the system requires formation of the transient complex providing a direct flavin transfer channel between active sites. However, there is no direct evidence for the existence of the complex.

We have studied amino acid sequences of flavin-dependent oxidoreductases for luminous bacteria and *E. coli* presented in NCBI. Primary and tertiary structures of the enzymes was analysed and FMN and NAD substrates binding sites were predicted [1]. A few peculiarities of electrostatic potential distribution on the luciferase and oxidoreductase molecular surfaces were revealed and described, pointing out to a great possibility for complex formation.

The work was supported by RFBR grant №14–34–50215-mol_nr.

1. Marchler-Bauer A. et al. CDD: conserved domains and protein three-dimensional structure // Nucleic acids research. – 2012. – 41(D1). – P. 348-352

УДК 577.112.4

ПРОГНОЗ ИНГИБИТОРНОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ ПРОТЕИНКИНАЗ НА ОСНОВЕ АМИНОКИСЛОТНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

Карасев Д.А.[1,2], Соболев Б.Н.[2], Веселовский А.В.[2], Лагунин А.А.[1,2], Филимонов Д.А.[2], Поройков В.В.[1,2]
[1]*Российский Национальный Исследовательский Медицинский Университет им. Н.И. Пирогова, 117997, Россия, Москва, ул. Островитянова, д.1*
[2]*Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича, 119121, Россия, Москва, ул. Погодинская, д. 10*
e-mail: pro_fide@mail.ru

Для прогноза ингибиторов протеинкиназ человека нами применен оригинальный алгоритм, который позволяет выявлять аминокислотные позиции, определяющие специфичность белка к лиганду. Разработанный метод может использоваться для исследования других белковых семейств.

Ключевые слова: протеинкиназы; прогноз ингибиторов; аминокислотные последовательности; паттерны специфичности; дивергировавшие белковые семейства.

Протеинкиназы представляют семейство ферментов, вовлеченных во многие регуляторные процессы в норме и при патологиях. Поиск селективных ингибиторов протеинкиназ человека – одно из перспективных направлений в разработке лекарственных соединений. Задача осложняется существенным пересечением ингибиторной специфичности у белков данного семейства, которые участвуют во многих физиологических и патологических процессах.

Для предсказания ингибиторной специфичности киназ применяются различные методы – молекулярное моделирование, филогенетический анализ, исследование комбинированного пространства белков и лигандов. Мы применили оригинальный алгоритм для расчета оценок специфичности позиций аминокислотной последовательности к конкретным лигандам. Наш подход основан на оценке локального сходства исследуемой последовательности с последовательностями белков обучающей выборки, которые сгруппированы по взаимодействию с ингибиторами.

Проведена валидация результатов прогноза с использованием трехмерных структур киназ с их ингибиторами, которая подтвердила надежность метода. В дальнейшем подход будет применен к белкам других семейств.

PREDICTION OF THE INHIBITOR SPECIFICITY TO PROTEIN KINASES BASED ON THE AMINO ACID SEQUENCES

Karasev D.A.[1,2], **SobolevB.N.**[2], **VeselovskyA.V.**[2], **LaguninA.A.**[1,2], **FilimonovD.A.**[2], **PoroikovV.V.**[1,2]
[1]*Pirogov Russian National Research Medical University, 117997, Russia, Moscow, Ostrovitianovstreet 1*
[2]*Institute of Biomedical Chemistry, 119121, Russia, Moscow, Pogodinskayastreet 10*
e-mail: pro_fide@mail.ru

The original algorithm was applied for the prediction of protein kinase inhibitors, which allows detection the amino acid positions determining the specificity of a protein to a ligand. The developed method can be applied for the study of other protein families.

Keywords: protein kinases; prediction of the inhibitors; amino acid sequences; specificity patterns; diverged protein families.

The protein kinases present the enzyme family involved into the many normal and pathological processes. The search of selective kinase inhibitors is one of promissing direction in the drug design. This task is rather complex due tothe significant intersection of ligand specificity among proteins of the given family.

Different methods are used for prediction of the inhibitor specificity to protein kinases, including 3D modelling, phylogenetic analysis and study of the combinatorial protein-ligand space. We applied the original algorithm for obtaining the scores of specificity of the amino acid positions regarding to the certain ligands. Our approach based on the estimation of local similarity in examined amino acid sequence with the sequences from the training set classified in accordance with the protein inhibitor interactions.

Validation with 3D structures of protein kinase complexes with their inhibitors was performed, it confirms the accuracy of our method. In further work our approach will be applied to some other protein families.

УДК 51-76

ГРАФОВАЯ БАЗА ДАННЫХ ПРОКАРИОТИЧЕСКИХ ОРГАНИЗМОВ

Рясик А.А., Темлякова Е.А., Сорокин А.А.
Институт биофизики клетки РАН
142290, Московская область, Пущино, ул. Институтская, д. 3
e-mail: arc7an@gmail.com

Разработана графовая база данных, содержащая данные о четырех хорошо описанных бактериях: *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Chlamydia trachomatis*, *Corynebacterium glutamicum*.

Ключевые слова: графы, база данных, микробиом человека, прокариоты

В данной работе была создана инфраструктура для хранения данных о прокариотических организмах, которая представляет из себя графовую базу данных. В ней содержится информация о геномах, протеомах, метаболических и регуляторных путях и др. взятая из таких авторитетных источников как GenBank, MetaCyc, ChEBI, Uniprot, PDB и др. Помимо этого в базу данных загружено полное таксономическое дерево бактерий, профили физико-химических свойств протяженных фрагментов ДНК, данные о гомологии белков, ссылки на внешние источники, а также синонимия названий организмов, белков и элементов генома.

Основными преимуществами графового представления данных являются: 1) возможность построения сложных запросов с использованием теории графов; 2) скорость поиска связей между объектами 3) гибкая структура хранилища. Используя разработанную нами инфраструктуру можно с легкостью осуществлять такие запросы, как поиск авторегуляции генов, сравнение метаболических путей организмов, поиск схожих объектов по последовательности и физико-химическим свойствам.

База построена на граф-ориентированной системе хранения данных Neo4j [1]. Обработка данных из сторонних источников, их загрузка в базу, а также поиск в базе осуществляется с помощью разработанного авторами модуля, содержащего необходимые функции и классы, который реализован на Python [2].

1. Сайт Neo Technology, URL: http://neo4j.com/ (дата обращения: 15.01.2015)
2. Репозиторий модуля для работы с базой данных, URL: https://github.com/promodel/BiomeDB_load_GenBank (дата обращения: 15.01.2015)

UDC 51-76

PROKARYOTIC ORGANISMS GRAPH DATA BASE

Ryasik A.A., Temlyakova E.A., Sorokin A.A.
Institute of Cell Biophysics RAS
142290, Moscow region, Pushchino, Institutskaya str. 3
e-mail: arc7an@gmail.com

A graph database was developed, which contains data on four well studied bacteria: *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Chlamydia trachomatis*, *Corynebacterium glutamicum*.

Keywords: graphs, database, human microbiome, prokaryotes

A graph database was developed to store and analyze data about prokaryotic organisms. It contains information about genomes, proteomes, metabolic and regulatory pathways, etc. taken from external authoritative sources: GenBank, MetaCyc, ChEBI, Uniprot, PDB and other. Furthermore the database contains full taxonomy tree of bacteria, profiles of physical and chemical properties of DNA fragments, proteins homology data, references to external sources, objects names and its synonyms.

The main advantages of the graph representation of data are 1) possibility to create complex queries and availability of using graph theory methods; 2) gains in speed during searching through content; 3) the database structure flexibility. The infrastructure could be used to search for genes with autoregulation, to compare metabolic pathways of different organisms, to search for objects with similar sequences or physical and chemical properties.

The infrastructure was constructed using graph-oriented storage system Neo4j [1].

Information processing, uploading and searching in the database is implemented by a Python module [2], which contains all necessary classes and functions to create a database with any subset of bacteria.

1. Official site of Neo Technology, URL: http://neo4j.com/ (date: 15.01.2015)
2. A module repository, URL: https://github.com/promodel/BiomeDB_load_GenBank (date: 15.01.2015)

СЕКЦИЯ «БИОТЕХНОЛОГИЯ И ПРОМЫШЛЕННОСТЬ»
SECTION "BIOTECHNOLOGY AND INDUSTRY"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

УДК 66.011

АТМОСФЕРНАЯ СУБЛИМАЦИОННАЯ СУШКА КАК АЛЬТЕРНАТИВНЫЙ СПОСОБ ВЫСУШИВАНИЯ ТЕРМОЛАБИЛЬНЫХ ПЕРЕПАРАТОВ ДЛЯ МАЛЫХ ОБЪЕМОВ ПРОИЗВОДСТВА

Диденко А.А., Меньшутина Н.В.
ООО «НПО ПетроваксФарм», Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, Москва,
Россия, 125480, Москва, ул. Героев Панфиловцев, д. 20, корп. 1
e-mail: didenkoaa@petrovax.ru

Разработана технология проведения процесса сублимационной сушки при атмосферном давлении в условиях активной гидродинамики с рекуперацией отходящего воздуха, позволяющая получать наноструктурированные микропорошки, характеризующиеся высокой пористостью и сферичностью.

Ключевые слова: Атмосферная сублимационная сушка, рефрижератор, рекуперация, энергосбережение, наноструктурированные микропорошки.

Сублимационная сушка широко применяется в химической, фармацевтической и пищевой промышленности. Сублимационная сушка незаменима при получении антибиотиков, пищевых продуктов, медицинских препаратов (плазма крови, кровезаменители и т.п.). Технология сублимационного обезвоживания, позволяет сохранить ценные компоненты и полезные свойства термочувствительных продуктов.

Технология атмосферной сублимационной сушки (АСС) с использованием распыления и псевдоожижения позволит решить ряд проблем, связанных с формой, размером частиц и структурой получаемого продукта. Отпадет необходимость в использовании дополнительного оборудования для измельчения и гомогенизации.

Была разработана технологическая схема АСС [1]для получения наноструктурированных микропорошков, характеризующихся высокой пористостью и сферичностью. Для апробации сформированной технологической схемы АСС было проведено две серии экспериментов с применением водных растворов декстрана и маннитола. Для выбранных материалов была определена кинетика сушки, а также определены пути интенсификации процесса сублимации.

Для решения задачи энергосбережения быларазработана схема организации АСС с применением рекуперации отработанного холодного воздуха, которая позволяет сократить энергетические затраты на охлаждение ожижающего агента, а также снизить затраты на воздух. Система рекуперации заключается в том, что воздух, прошедший очистку на выходе из сушильной камеры, идет на охлаждение конденсатора холодильной установки, далее воздух через трехходовой клапан попадает снова в осушитель и цикл повторяется. Избыточный воздух выбрасывается на стадии осушения. Данная организация системы позволит экономить на воздушном охлаждении, а также на затратах нагнетающего компрессора. Проведен анализ энергопотребления четырех способов организации сублимационной сушки, что позволило сделать вывод о том, что с энергетической точки зрения процесс атмосферной сублимационной сушки представляется

более выгодным в сравнении с сублимацией в вакууме при соблюдении определенных условий: обеспечении интенсивного тепло- и массообмена и рекуперации отходящего воздуха [2].

1. Патент на полезную модель № 98672 Н.В. Меньшутина, А.И. Зеркаев, М.Г. Гордиенко, А.А. Диденко – дата приоритета 14.10.2008.

2. Диденко А.А. Моделирование и анализ энергопотребления различных способов сублимационной сушки: Автореф. дис. канд. техн. наук. – М, 2011.— 18 с.

UDC 66.011

ATMOSPHERIC FREEZE-DRYING AS AN ALTERNATIVE DRYING METHOD OF THERMOLABILE DRUGS FOR SMALL BATCHES

Didenko A.A., Menshutina N.V.

NPO PetrovaxPharm, LLC, D.I. Mendeleyev University of Chemical Technology of Russia, Moscow, 125480, GeroevPanfilovtev str. 20/1

e-mail: didenkoaa@petrovax.ru

Freeze-drying technology at atmospheric pressure in the active hydrodynamics with of exhaust air heat recovery has been developed, which allows to obtain nanostructured micropowders, characterized by high porosity and sphericity..

Keywords: Atmospheric freeze drying, freezing, heat recovery, energy saving, nanostructured micropowders.

Freeze drying is widely used in chemical, pharmaceutical and food industries. Freeze drying is indispensable for obtaining antibiotics, certain foods, medications (blood plasma, blood substitutes, etc.).The sublimation dehydration technology can save valuable components and useful properties of thermo sensitive products.

The atmospheric freeze-drying technology (AFD) with spray and fluidization will solve several problems associated with the shape, particle size and structure of the resulting product. There is no need to use additional equipment for the grinding and homogenization.

Technological scheme of the AFD [1] has been developed for the formation of nanostructured micro powders characterized by high porosity and sphericity. Two series of experiments has been conducted for the purpose of testing AFD using aqueous solutions of dextran and mannitol. For the selected materials has been determined the kinetics of drying, as well as the ways of intensifying the sublimation process.

For energy saving purposes has been developed the ACC scheme of using exhaust cold air recovery that reduces the energy consumption for cooling the fluidizing agent and also reduce the cost of air. Recovery system consists in the following: the air that is purified at the exit of the drying chamber is used for cooling the condenser of the refrigeration unit, further the air goes again through a three-way valve and return to the drier and the cycle repeats. The excess air is expelled at the stage of drying. This organization system will allow the saving on air cooling, as well as on pumping compressor cost. An analysis of the energy consumption of four ways of organizing freeze-drying has been performed, which led to the conclusion that from an energy point of view the process of atmospheric freeze drying is more favorable compared to vacuum sublimation under certain conditions: provision of intensive heat and mass transfer and heat recovery of exhaust air [2].

1. Utility model patent N 98672 N.V. Menshutina, A.I. Zerkaev, M.G. GordienkoA.A. Didenko – priority date 14.10.2008.

2. Didenko A.A.Modeling and analysis of energy consumption of different ways of freeze-drying: synopsis of the PhD thesis – M, 2011.— 18 p.

УДК 579.222.3

ИЗУЧЕНИЕ АНТИБИОТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ БАКТЕРИЙ – АССОЦИАНТОВ ПЛОДОВЫХ ТЕЛ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ

Ефименко Т.А.

ФГБУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе», Москва, Россия

119021, г. Москва, ул. Б. Пироговская, д. 11, стр. 1

e-mail: efimen@inbox.ru

Из плодовых тел базидиальных грибов выделено 88 штаммов бактерий. Установлено таксономическое положение 18 бактерий-продуцентов. Показано, что 77% выделенных бактерий образуют антибиотики, эффективные в отношении устойчивых форм болезнетворных бактерий, в том числе MRSA.

Ключевые слова: бактерии, *Bacillus subtilis*, базидиомицеты, лекарственная устойчивость болезнетворных бактерий, пептидные антибиотики.

Цель исследования заключается в изыскании новых природных антибиотиков, эффективных в отношении устойчивых форм болезнетворных бактерий, в том числе метициллинрезистентного золотистого стафилококка (MRSA) и бактерий, устойчивых к гликопептидным антибиотикам ванкомициновой группы. Объектами исследования являются бактерии, выделяемые из плодовых тел базидиальных грибов. Выделено 88 бактериальных штаммов, из которых 68 (77%) в условиях глубинного культивирования образуют антибиотики. 31 штамм образует антибиотики, эффективные в отношении тест-штамма MRSA. Анализ ДНК гена 16S рРНК 18 бактериальных штаммов показал, что они относятся к 6 родам бактерий: *Bacillacea, Micrococcaceae, Pseudomonadaceae, Caulobacteraceae, Xanthomonadaceae, Enterobacteriaceae*. Показано, что два штамма *Bacillus subtilis*, выделенные из базидиального гриба чешуйчатки обыкновенной (Pholiota squarrosa), ИНА 01085 и ИНА 01086, образуют полиеновые антибиотики (гексаен и пентаен) и пептидные антибиотики из 10 и 8 аминокислот, соответственно. Пептидные антибиотики являются новыми природными соединениями, эффективными в отношении грамположительных бактерий, в том числе MRSA.

STUDY OF ANTIBIOTIC PROPERTIES OF BACTERIA – ASSIOCIANTS ISOLATED FROM BASIDIOMYCETES FRUITING BODIES

Efimenko T.A.
Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russia
119021, Moscow, st. B. Pirogovskaya, 11.
e-mail: efimen@inbox.ru

From the fruiting bodies of basidiomycetes isolated 88 strains associated bacteria. It is established taxonomic position of 18-producing bacteria. It is shown that 77% isolated bacteria produce antibiotics effective against resistant forms of pathogenic bacteria including MRSA.

Keywords: bacteria, *Bacillus subtilis*, basidiomycetes, drug resistance of pathogenic bacteria, peptide antibiotics.

The purpose of research is to find new antibiotics of natural origin, are effective against resistant forms of bacteria, including methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA), and bacteria resistant to vancomycin group glycopeptide. The objects of study are bacteria isolated from the fruiting bodies of basidiomycetes. 88 bacterial strains were isolated, of which 68 (77%) produce antibiotics in submerged culture. 31 strain produce antibiotics effective against the test strains MRSA. By DNA analysis of the 16S rRNA gene 18 bacterial strains were attributed to 6 bacterial genera: Bacillacea, Micrococcaceae, Pseudomonadaceae, Caulobacteraceae, Xanthomonadaceae, Enterobacteriaceae. It is shown that two strains of Bacillus subtilis, isolated from basidiomycete Pholiota squarrosa, INA 01085 and INA 01086, produce polyene antibiotics (hexane and pentane) and peptide antibiotics from 10 and 8 amino acids, respectively. Peptide antibiotic are new natural compounds effective against gram-positive bacteria including MRSA.

УДК 541.64 : 678.744.72

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ МАКРОПОРИСТЫХ КРИОГЕЛЕЙ ПОЛИВИНИЛОВОГО СПИРТА

Лозинский В.И.
Институт элементоорганических соединений им. А.Н.Несмеянова РАН,
ул. Вавилова 28, 119991 Москва, РФ; e-mail: loz@ineos.ac.ru

Криогели поливинилового спирта, носители иммобилизованных молекул и клеток, иммуносорбенты, безагаровые плотные питательные среды.

Криогели поливинилового спирта (ПВС) образуются в результате криогенной обработки (замораживание – выдерживание в замороженном состоянии – оттаивание) концентрированных растворов данного полимера [1,2]. Свойства и структура криогелей ПВС (КГПВС) определяются характеристиками самого ПВС, его концентрацией в исходном растворе, присутствием растворимых добавок и/или наполнителей, режимами криоструктурирования. Принципиальной особенностью КГПВС является макропористая гетерофазная морфология, которая формируется поликристаллами замороженного растворителя, после плавления которых в массе геля остаются крупные поры, заполняемые оттаявшей жидкостью. Размеры и «архитектура» таких пор имеют существенное значение для интегральных свойств КГПВС.

Криогели ПВС именно благодаря высокой пористости и великолепным механическим свойствам привлекают большое внимание в плане их использования для практических целей, особенно в таких областях, как биотехнология [4–6] и материалы биомедицинского назначения [7].

В лаборатории автора на основе КГПВС разработаны следующие системы биотехнологического предназначения: носители иммобилизованных ферментов, носители иммобилизованных клеток микроорганизмов, макропористые иммуноаффинные сорбенты, гелевые основы плотных питательных сред, «пространственно-защищенные» ионообменные смолы и др.

[1] Лозинский В.И.// Успехи химии. 1998. Т. 67. № 7. С. 641.
[2] Hassan Ch.M., Peppas N.A.// Adv. Polym. Sci. 2000. V. 153. P. 37.
[3] Лозинский В.И., Вакула А.С., Зубов А.Л.// Биотехнология 1992. № 4. С. 5.
[4] Lozinsky V.I., Plieva F.M.// Enzyme Microb. Technol. 1998. V. 23. № 3/4. P. 227.
[5] Лозинский В.И.// Известия РАН, Сер. хим. 2008. № 5. С. 996.
[6] Mattiasson B. // Adv. Polym. Sci. 2014. V. 263. P. 245.
[7] Wan W., Bannerman A.D., Yang L., Mak H. // Adv. Polym. Sci. 2014. V. 263. P. 283.

BIOTECHNOLOGICAL ASPECTS OF THE IMPLEMENTATION OF MACROPOROUS POLY(VINYL ALCOHOL) CRYOGELS

V.I. Lozinsky
A.N. Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds RAS,
Vavilov Street 28, 119991 Moscow, Russian Federation; e-mail: loz@ineos.ac.ru

Poly(vinyl alcohol) cryogels, carriers of immobilized molecules and cells, immunosorbents, agarless solid nutritional media

Poly(vinyl alcohol) cryogels (CGPVA) are formed as a result of cryogenic processing (freezing – storing frozen – thawing) of the concentrated solutions of this polymer [1,2]. Properties and structure of PVA cryogels depend on the characteristics of PVA itself, its concentration in the initial solutions, the presence of soluble additives and/or fillers, cryostructuring conditions. The key feature of CGPVAs is their macroporous heterophase morphology which is formed by the polycrystals of frozen solvent. Their subsequent thawing remains large pores in the gel's bulk, and these pores are filled with thawed liquid. The size and "architecture" of such pores are of significance for the integral properties of CGPVAs.

Quite owing to high porosity, in combination with wonderful mechanical properties, PVA cryogels attract large attention with respect of their implementation for practice, especially in such fields as biotechnology [4–6] and biomedical materials [7].

The following systems for biotechnological purposes have been elaborated in the author's laboratory: carriers of immobilized enzymes and cells, macroporous immuno-sorbents, gel bases of solid nutritional media, "spatially-protected" ion-exchanges resins, and so forth.

[1] Lozinsky V.I.// Russ. Chem Revs.. 1998. V. 67. № 7. C. 573.
[2] Hassan Ch.M., Peppas N.A.// Adv. Polym. Sci. 2000. V. 153. P. 37.
[3] Lozinsky V.I., Vakula A.S., Zubov A.L.// Sov. Biotechnol. 1992. № 4. p. 1.
[4] Lozinsky V.I., Plieva F.M.// Enzyme Microb. Technol. 1998. V. 23. № 3/4. P. 227.
[5] Lozinsky V.I.// Russ. Chem. Bull. 2008. V. 57. № 5. P. 1015.
[6] Mattiasson B. // Adv. Polym. Sci. 2014. V. 263. P. 245.
[7] Wan W., Bannerman A.D., Yang L., Mak H. // Adv. Polym. Sci. 2014. V. 263. P. 283.

УДК 602.6:58

НОВЫЙ ВИРУСНЫЙ ВЕКТОР НА ОСНОВЕ ГЕНОМА ВИРУСА КУСТИСТОЙ КАРЛИКОВОСТИ ТОМАТОВ ДЛЯ ТРАНЗИЕНТНОЙ ЭКСПРЕССИИ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ В РАСТЕНИЯХ

Манабаева Ш.А.[1], Абеуова Л.С.[1], Макенова А.Т.[1], ScholthofH.B.[2], РаманкуловЕ.М.[1]

[1]*РГП «Национальный центр биотехнологии», ул. Ш.Валиханова, 13/1, Астана, 010000, Казахстан*

[2]*Department of Plant Pathology and Microbiology, Texas A&M University, USA*

E-mail: manabayeva@biocenter.kz

Целью работы является разработка технологии получения рекомбинантных белков в растениях с помощью вирусного вектора созданного на основе генома вируса кустистой карликовости томатов (ВККТ).

Ключевые слова: транзиентная экспрессия, вирусный вектор, Вирус кустистой карликовости томатов, рекомбинантный белок

Повышение экономической эффективности использования растений в качестве «биофабрик» – продуцентов белков – послужило началом разработки новых технологий продукции в нетрансгенных растениях на высоком уровне целевых белков. Одной из них является применение систем транзиентной экспрессии целевых генов с помощью самореплицирующихся рекомбинантных вирусных векторов [1, 2]. В то же время, до сих пор отсутствуют четкие критерии выбора оптимальной векторной системы для экспрессии того или иного целевого белка. В этой связи, интересным является применение генома вируса кустистой карликовости томатов (ВККТ) в качестве автономно реплицирующегося вектора для создания генно-инженерных конструкций, обеспечивающих транзиентную экспрессию рекомбинантных белков в растениях. Наличие в геноме ВККТ гена белка p19, ингибирующего посттранскрипционное умолкание генов и повышающего уровень экспрессии целевых белков in planta, является существенным преимуществом данной векторной системы.

В результате проделанной работы получен вирусный вектор, содержащий полный геном ВККТ с целевым геном, помещенный под контролем сильного конститутивного промотора 35S вируса мозаики цветной капусты (CaMV) обеспечивающий экспрессию целевого гена в растениях. В этом векторе транслируемая последовательность капсидного белка p41 ВККТ заменена целевыми генами, которые синтезировались с помощью ПЦР. Вирусный вектор был доставлен в 4–5-недельные растения N.benthamiana методом агроинфильтрации. Разработанная технология позволяет получить рекомбинантный белок высокой чистоты, что подтверждает наличие широких перспектив использования вирусной системы, основанной на геноме ВККТ для экспрессии генов различных белков в растениях.

1. Scholthof H.B., Scholthof K-B.G. Plant virus gene vectors for transient expression of foreign proteins in plants // Annual Review of Phytopathology. – 1996. – Vol. 34. – P. 299–323.

2. Gleba Y., Klimyuk V., Marillonnet S. Viral vectors for the expression of proteins in plants // Current Opinion in Biotechnology. – 2007. – Vol. 18. – P. 134-141.

UDK 602.6:58

NOVEL VIRAL VECTOR BASED ON THE GENOME OF TOMATO BUSHY STUNT VIRUS FOR TRANSIENT EXPRESSION OF RECOMBINANT PROTEINS IN PLANTS

Manabayeva S.A.[1], Abeuova L.S.[1], Makenova A.T.[1], Scholthof H.B.[2], Ramakulov E.M.[1]
[1]*National Center for Biotechnology of Republic of Kazakhstan, 43 Valikhanov Str., 010000 Astana, Kazakhstan, phone: +7(7172)200815, fax: +7(7172)214633*
[2]*Department of Plant Pathology and Microbiology, Texas A&M University, USA*
E-mail: manabayeva@biocenter.kz

The objective of this work was the development of technology for transient production of recombinant proteins in plants by Tomato bushy stunt virus (TBSV) – based protein production system.

Keywords: *transient expression, viral vector, Tomato bushy stunt virus, recombinant protein*

The increasing of economic efficiency of use of plants as "biofactories" – producers of proteins – served as the beginning of development of new technologies for the production of target proteins in non-transgenic plants at the high level. One of them is use of transient expression systems of target genes by self-replicating recombinant virus vectors [1, 2]. At the same time, still there are no accurate criteria of a choice of optimum vector system for an expression of target proteins. In this regard, application of *Tomato bushy stunt virus* (TBSV) genome for creation of the genetically engineered designs providing a transient expression of recombinant proteins in plants is interesting. The fact that the TBSV genome encodes the p19 protein, capable of inhibition of posttranscriptional silencing and enhancing expression levels for each gene in the viral RNA (including heterologous ones), is a significant advantage of the TBSV vector system.

We developed a TBSV derived viral vector driven by the CaMV 35S promoter that can be delivered as DNA. In this vector the CP gene was replaced by the target gene that was synthesized by a PCR-based gene synthesis method. The viral vector was delivered into 4–5 week old *N. benthamiana* plants by agroinfiltration. The developed technology allows the production of high purity recombinant protein that confirms existence of wide prospects of use of the viral system based on TBSV genome for transient expression of genes encoding various proteins in plants.

1. Scholthof H.B., Scholthof K-B.G. Plant virus gene vectors for transient expression of foreign proteins in plants // Annual Review of Phytopathology. – 1996. – Vol. 34. – P. 299–323.
2. Gleba Y., Klimyuk V., Marillonnet S. Viral vectors for the expression of proteins in plants // Current Opinion in Biotechnology. – 2007. – Vol. 18. – P. 134-141.

УДК579.61

ИНОЗИТОЛ УСИЛИВАЕТ ПЕРЕХОД РЯДА ВИДОВ БАКТЕРИЙ В СОСТОЯНИЕ БИОПЛЕНКИ

Маркова Ю.А., Турская А.Л., Ульданова А.А., Степанов А.В., Верхотуров В.В.
Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия
664033, Иркутск, ул. Лермонтова, д. 132
e-mail: juliam06@mail.ru

Культивирование бактерий в виде биопленок может представлять практический интерес из-за, возможно, более высокого количества биологически активных соединений в составе матрикса. Поэтому необходим поиск условий культивирования, способствующих их переходу в это состояние и стимулирующее синтез компонентов матрикса. При изучении разных источников углерода было установлено, что многоатомный спирт инозитол стимулирует образование био-

пленок рядом бактериальных видов, что перспективно для его использования в качестве компонента питательных сред в промышленном получении бактериальных биопленок.

Ключевые слова: биопленки, внеклеточный матрикс, инозитол

Основной формой существования микроорганизмов в природе является состояние биопленки. Внеклеточный матрикс биопленки может представлять интерес для целей промышленной биотехнологии по причине содержания более высоких концентраций биологически-активных соединений (ферментов, витаминов, антибиотиков), чем в среде культивирования, а также новых соединений перспективных для использования. Поэтому, поиск специальных сред и условий культивирования, способствующих переходу бактерий в состояние биопленки, на сегодняшний день крайне актуальная задача. В наших экспериментах использовали микроорганизмы видов – *Pectobacterium carotovorum*, *Escherichia coli*, *Bacillus* sp. Бактерии культивировались в забуференном физиологическом растворе (pH 7). В качестве единственного источника углерода вносили различные сахара и многоатомные спирты. Способность формировать биопленки определяли с помощью спектрофотометрического и микроскопического методов анализа. Оказалось, что инозитол в 5-10 раз усиливал процесс биопленкообразования по сравнению с другими источниками углерода. Таким образом, это соединение перспективно для использования в качестве компонента сред при выращивании бактерий в виде биопленок для биотехнологических целей.

INOSITOL AMPLIFYING TRANSITION OF SEVERAL BACTERIAL SPECIES IN A STATE OF THE BIOFILM

Markova Ju. A., Turskaya A.L., Uldanova A.A., Stepanov A.V., Verkhoturov V.V.
Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, Irkutsk, Russia
664033, Irkutsk, Lermontov str., 132
e-mail: juliam06@mail.ru

Cultivation of bacteria in a state of the biofilm may be of practical interest because of possibly higher number of bioactive compounds in the matrix. Therefore, a search for culture conditions that facilitate their transition to this state, and stimulates the synthesis of matrix components. When studying different carbon sources was found that polyatomic alcohol inositol stimulates the biofilm formation with a range of bacterial species that it is promising for use as a component of culture media in the industrial production of bacterial biofilms.

Keywords: biofilms, extracellular matrix, inositol.

The main form of existence of microorganisms in nature is a state of the biofilm. The extracellular matrix of the biofilm may be of interest for industrial biotechnology because of the content of higher concentrations of biologically-active compounds (enzymes, vitamins, antibiotics) than in the culture medium, as well as new promising compounds for use. Therefore, the search for special media and cultivation conditions that contribute to the transition of bacteria in a state of the biofilm, today is extremely urgent problem. In our experiments we used species of microorganisms – *Pectobacterium carotovorum*, *Escherichia coli*, *Bacillus* sp. Bacteria were cultured in buffered saline (pH 7). As a sole carbon source were added various sugars and polyatomic alcohols. The ability to form biofilms was determined by spectrophotometric analysis and microscopic techniques. It turned out that inositol 5-10 times enhanced the process of biofilm formation compared with other carbon sources. Thus, the compound is promising for use as a component of media for growing bacterial biofilms for biotechnological purposes.

ГИБКАЯ СХЕМА ТЕХНОЛОГИИ ВЫДЕЛЕНИЯ И ОЧИСТКИ ПРОТЕИНАЗ ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО И ЖИВОТНОГО СЫРЬЯ

Омельянова А.П., Глазова Н.В.
Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия, г. Санкт-Петербург, Россия.
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14
e-mail: alexandra.omelyanova@pharminnotech.com

Разработан сорбционно-хроматографический метод выделения и очистки протеиназы из растительного сырья с последующим концентрированием элюата. Проведена сравнительная оценка специфичности протеиназ из растительного и животного сырья.

Ключевые слова: экстракция, протеиназы, хроматография, сорбция, концентрирование, специфичность.

Производство ферментных препаратов – перспективное направление в биотехнологии. По данным статистики соотношение импортных и отечественных ферментных препаратов на российском рынке составляет 80:20. Производство растительных ферментов в России не налажено. На ООО «Самсон-Мед» в Санкт-Петербурге для получения ферментов из животного сырья используется сорбционно-хроматографическая схема выделения. Актуальным является применение данной схемы для производства растительных ферментов.

Объектами исследования в данной работе являются: протеиназа, выделенная из травы подмаренника настоящего (лат. Galiumverum) и трипсин, полученный из животного сырья, производства ООО «Самсон-Мед».

Выделение протеиназы из подмаренника настоящего проводилось методом твердофазной экстракции с последующей очисткой и концентрированием экстракта с помощью эффективных сорбционно-хроматографических и мембранных методов, используемых на ООО «Самсон-Мед».

Сравнительный анализ растворов растительной и животной протеиназы полученных по схеме ООО «Самсон-Мед», показал, что растительная протеиназа обладает большей стабильностью при хранении в различных температурных режимах, большей устойчивостью к влиянию pH, более специфична к субстрату в сравнении с раствором трипсина.

FLEXIBLE SCHEME OF TECHNOLOGY OF ISOLATION AND PURIFICATION OF PROTEINASES FROM VEGETABLE AND ANIMAL MATERIALS

Omelyanova A.P., Glazova N.V.
St. Petersburg State Chemical-Pharmaceutical Academy, St. Petersburg, Russia.
197376, St. Petersburg, ul. prof. Popova, d. 14
e-mail: alexandra.omelyanova@pharminnotech.com

Sorption-chromatographic method of isolation and purification of proteinase from vegetable raw materials was developed, followed by concentration of the eluate. A comparative evaluation of the specificity of proteases from plant and animal materials was carried out.

Keywords: extraction, protease, chromatography, adsorption, concentration, specificity.

Production of enzyme preparations is a promising direction in biotechnology. According to statistics, the ratio of imported and domestic enzyme preparations in the Russian market is 80:20.

Manufacture of vegetable enzymes in Russia is not established. Sorption-chromatographic separation scheme for isolation enzymes from animal raw materials is used at LLC “Samson-Med” in St. Petersburg. Relevant is the application of this scheme for the production of plant enzymes.

The objects of research in this paper are: proteinase isolated from grass of bedstraw (lat. Galiumverum) and tryp sin derived from animal raw materials, production of “Samson-Med”.

Isolation of proteinase from Galiumverum was performed by solid-phase extraction followed by purification and concentration of the extract by effective esorption-chromatographic and membrane methods use dat LLC”Samson-Med”.

Comparative analysis of solutions of plant and animal derived proteases according to the scheme of LLC”Samson-Med” showed that the plant protease is more stable when stored at different temperatures, more resistant to the effects of pH and more specific to the substrate as compared with a solution of trypsin.

УДК 541.124:542.952.6:547.313

ПОЛИМЕРНЫЕ СОРБЕНТЫ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ВЫСОКООЧИЩЕННЫХ ЛЕКАРСТВЕНЫХ СУБСТАНЦИЙ

Писарев О.А.[1,2]

[1]*Институт высокомолекулярных соединений Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия, 199004, Санкт-Петербург, В.О. Большой пр., 31*

[2]*Санкт-Петербургский государственный политехнический университет, Санкт-Петербург, Россия, 195251, Санкт-Петербург, Политехническая ул., 29*

pol_irina_val@list.ru

В докладе рассмотрены структура и свойства селективных полимерных сорбентов, синтезированных в Институте высокомолекулярных соединений РАН посредством осадительной радикальной сополимеризации карбоновых кислот и различных поливинильных сшивающих агентов, а также использование этих сорбентов для осуществления эффективных «down-stream» процессов получения высокоочищенных субстанций лекарственных веществ.

Ключевые слова: «down-stream» процессы, селективные полимерные сорбенты, высокоочищенные субстанции лекарственных веществ.

Разработан двухстадийный хроматографический метод осуществления препаративных процессов, который позволяют резко повысить степень содержания основного вещества в конечных препаратах. Этим методом в высокоочищенном состоянии получены противоопухолевые антибиотики рубомицин, доксорубицин, карминомицин. При использовании кинетического эффекта селективности сорбции разработаны способы получения компонентов пчелиного яда – мелиттина, фосфолипазы А2, гидролитических ферментов дезоксирибонуклеазы, рибонуклеазы, трипсина и химотрипсина. Показано, что эффект кинетической селективности сорбции позволяет существенно повысить (по сравнению с традиционными методами препаративной хроматографии) как скорость, так и фактор разделения веществ. Метод открывает дополнительные возможности, прежде всего, для выделения и очистки лабильных биологически активных веществ с близкими значениями коэффициентов равновесного распределения между мобильной и стационарной фазами и низкими скоростями диффузии.

УДК 541.124:542.952.6:547.313

POLYMER SORBENTS FOR PRODUCTION FOR HIGLY PURIFIED DRUG SUBSTANCES

Pisarev O.A.[1,2]

[1]*Institute of macromolecular compounds of Russian Academy of Science, Saint-Petersburg, Russia, 199004, Saint-Petersburg, V.O. Bolshoi pr., 31*

[2]*Saint-Petersburg State Polytechnic University, Saint-Petersburg, Russia, 195251, Saint-Petersburg, Polytechnicheskaya str., 29*

The report discusses the structure and properties of polymeric selective sorbents synthesized by radical precipitation copolymerization of carboxylic acids and various polyvinyl crosslinking agents in the Institute of macromolecular compounds of the RAS, and the use of these sorbents for effective «down-stream» processes for obtaining highly purified drug substances.

Keywords: «down-stream» processes, selective polymer sorbents, highly purified drug substances.

A two-step chromatographic method was developed for the implementation of the preparative processes that allow significantly increasing the content of the basic substance in finite preparations. The antitumor antibiotics of the rubomycin, the doxorubicin, the carminomycin were obtained in a highly purified state by this method. Methods for producing components of the melittin bee venom, the phospholipase A, the hydrolytic enzymes DNase, RNase, the trypsin and the chemotropism were developed using the kinetic effects of selective sorption. It is shown that the effect of the kinetic sorption selectivity can significantly increase (comparatively with traditional methods of preparative chromatography) both the rate, and the substances separation factor.

The method provides additional opportunities, especially for the isolation and purification of labile bioactive substances, which have similar coefficients of the equilibrium distribution between the mobile and stationary phases, and low diffusion rates.

УНИВЕРСАЛЬНЫЕ ГАЗО-ВИХРЕВЫЕ БИОРЕАКТОРЫ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ-ОДИН ИЗ ЭФФЕКТИВНЫХ ИНСТРУМЕНТОВ УСКОРЕННОГО РАЗВИТИЯ ПРОМЫШЛЕННОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ

Рамазанов Ю.А.

ООО Центр Вихревых Технологий НСО Наукоград Кольцово, Технопарковая д1 y.ramazanov@rambler.ru www.vortexreactor.com

Промышленная биотехнология является фундаментом т.н. биоэкономики – пути развития, базирующегося на использовании возобновляемых источников сырья и минимальном отрицательном воздействии на окружающую среду при росте промышленного и сельскохозяйственного производства.

В промышленном биотехнологическом производстве одним из основных звеньев является биореактор, в котором происходит микробиологический синтез, ферментационные процессы или выращиваются культуры клеток или микроорганизмов. Технические характеристики используемых аппаратов во многом определяют себестоимость получаемого продукта и масштаб отрицательного воздействия процесса на окружающую среду.

Специалистами ООО Центр Вихревых Технологий (резидента Технопарка Сколково) созданы универсальные газо-вихревые биореакторы нового поколения, которые по эффективности значительно превосходят существующие типы аппаратов.

Газо-вихревой биореактор – это уникальный аппарат, в котором перемешивание жидкости осуществляется структурированным воздушным вихрем, без мешалки, погруженной в жидкость. Этим обеспечивается деликатное, но эффективное 3D перемешивание жидкостей, в том числе вязких, без пенообразования, при снижении в разы энергопотребления.

В настоящее время газо-вихревые биореакторы используются при производстве вакцин, лекарственных препаратов (ФГУП «Армавирская биофабрика», УП «Витебская биофабрика»…), производстве кровезаменителей ООО «Геленпол», производстве микробиологической продукции для сельского хозяйства (ООО Бисолби Интер», ООО «Биотроф»…), ферментативном гидролизе зернового сырья (ЗАО «Племсовхоз Ирмень», ЗАО «Бирюли»…) и т.д.

Газо-вихревые биореакторы нового поколения позволяют заменить не технологичные малопроизводительные роллерные, «яичные», «матрасные» технологии производства вакцин и других лекарственных препаратов, значительно снизив их себестоимость и обеспечивая соответствие требованиям GMP.

В газо-вихревом биореакторе модификации «личный доктор» успешно культивировались стволовые и другие аутологичные клетки человека, что дает возможность создания аппарата для персонализированной медицины.

Технические характеристики и свернизкое энергопотребление определяют эффективность применения газо-вихревых биореакторов в крупнотоннажных процессах, где в себестоимости продукта основную стоимость занимает стоимость затраченной электроэнергии.

Использование производственными предприятиями и исследовательскими институтами газо-вихревых биореакторов позволяет расширить спектр решаемых задач, ускорить внедрение новых разработок в промышленность, повысить технологичность, безопасность производства продукции, снизить ее себестоимость и экологическую нагрузку на окружающую среду, обеспечивая тем самым ускоренное развитие производственной составляющей российских биотехнологических кластеров.

“ UNIVERSAL GAS-VORTEX BIOREACTOR NEW GENERATION IS ONE OF THE EFFECTIVE TOOLS FOR RAPID DEVELOPMENT OF INDUSTRIAL BIOTECHNOLOGY”

Ramazanov Y.A.
Vortex technologies Ltd” 1 Tekhnoparkovaya Str.,
Koltsovo, 630559
Novosibirsk region
y.ramazanov@rambler.ru www.vortexreactor.com

Industrial biotechnology is the basement of the so-called bioeconomy, the development path based on renewable raw materials and a minimal adverse impact on the environment during the growth of industrial and agricultural production.

One of the main elements of industrial biotechnology is the bioreactor in which the microbiological synthesis and fermentation processes take place or cell cultures or microorganisms are grown. Technical characteristics of the used devices largely determine the cost of the product and the scope of the process negative impact on the environment.

Specialists of the “Vortex technologies Ltd” (resident of the Skolkovo Technopark) created a new generation of universal gas-vortex bioreactors, which far surpass the existing types of devices in their universal character, energy consumption that performance far superior comparing to existing types of vehicles.

The gas-vortex bioreactor is a unique device in which liquid is mixed by a structured air vortex, *without a stirrer immersed in liquid*. This provides gentle but effective 3D mixing of liquids including viscous ones without foaming at a power consumption decreased by dozens of times.

Gas-vortex bioreactors are currently used for production of vaccines, drugs (FSUE "Armavir Biofactory" UE ""Vitebsk Biofactory"…), blood substitutes at JSC "Gelenpol" and microbiological products for agriculture (JSC "Bisolbi Inter", JSC "Biotroph"...) as well as in enzymatic hydrolysis of raw grain (CJSC "Irmen stock-farm", CJSC "Biryuli" ...), etc.

Vortex bioreactors of the new generation can replace inefficient low-tech roller, "egg" and "mattress" technologies in the production of vaccines and other drugs significantly reducing their costs and ensuring compliance with GMP.

Stem cells and other autologous human cells are successfully cultivated in the gas-vortex bioreactor of the "personal doctor" type, which allows for their preparative production for personalized medicine, that enables the creation of apparatus for personalized medicine.

Specifications and extremely low energy consumption determin the effectiveness of gas-vortex bioreactor in large processes, where the prime cost of the product mainly includes the cost of the electricity consumed.

The use of gas-vortex bioreactors by industrial enterprises and research institutes will expand the range of tasks solved, accelerate the adoption introduction of new developments by industry, improve manufacturability and production safety, will reduce production costs and environmental pressure thus providing rapid development of the industrial component of the Russian biotechnological clusters.

УДК 62.33.31

СЕМЕЙСТВО СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫХ ПЛАЗМИДНЫХ ВЕКТОРОВ ДЛЯ ЭКСПРЕССИИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ БЕЛКОВ В КЛЕТКАХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Воробьев И.И., Орлова Н.А., Ковнир С.В., Ходак Ю.А., Габибов А.Г., Скрябин К.Г.
Учреждение Российской академии наук Центр „Биоинженерия" РАН, Москва, Россия
117312 Россия, Москва, пр-т 60-летия Октября д.7, корп.1
e-mail: ptichman@gmail.com

Разработано семейство экспрессионных векторов, обеспечивающих высокую частоту инсерции целевых генов в геном клеток линии CHO и быструю амплификацию интегрированных генетических кассет. Получаемые с его помощью клональные продуценты терапевтических белков обладают высокой удельной продуктивностью и достаточной стабильностью для промышленного использования.

Ключевые слова: линии-продуценты; CHO; EEF1a.

Высокая и постоянная удельная продуктивность является основным требованием к промышленным линиям-продуцентам терапевтических белков. Существующие плазмидные векторы не всегда позволяют получить линии клеток млекопитающих с требуемыми свойствами. Нами разработан вектор p1.1, содержащий нетранслируемые участки гена фактора элонгации трансляции 1a китайского хомячка, фрагмент конкатемера концевого повтора вируса Эпштейна-Барр и селекционный маркер – дигидрофолатредуктазу. С помощью p1.1 получен продуцент фактора свертываемости крови VIII с удельной продуктивностью более 10 мкМЕ/клетка/день и постоянным уровнем секреции в течение 120 дней. Для ко-трансфекции нескольких генов созданы производные вектора p1.1 с различными селекционными маркерами. Они использованы для создания линии-продуцента фактора свертывания крови IX с удельной продуктивностью 2.1

мкМЕ/клетка/день и долей неактивной формы фактора IX менее 3%. Для создания продуцентов гетеродимерных белков применен трицистронный вектор, в котором открытые рамки считывания целевых генов объединены интактным внутренним сайтом связывания рибосом вируса энцефаломиокардита. Получена клональная линия-продуцент фолликулостимулирующего гормона человека с удельной продуктивностью 12 пг/клетка/день, секретировующая преимущественно корректную гетеродимерную форму гормона. Плазмидный вектор p1.1 и его производные пригодны для быстрого получения высокопродуктивных линий клеток млекопитающих, секретирующих белки различных типов.

Orlova N.A.et al. Improved elongation factor-1alpha-based vectors for stable high-level expression of heterologous proteins in Chinese hamster ovary cells//BMC Biotechnol. 2014. Vol. 14. № 56.

УДК 62.33.31

SPECIALIZED PLASMID VECTORS FOR EXPRESSION OF THERAPEUTIC PROTEINS IN MAMMALIAN CELL LINES

Vorobiev I.I., Orlova N.A., Kovnir S.V., Khodak Y.A., Gabibov A.G., Skryabin K.G.
Centre „Bioengineering“ Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia
117312, Moscow, 7 bld.1, 60-letija Oktyabria av.
e-mail: ptichman@gmail.com

We have developed the family of expression vectors, allowing high genome integration frequency in the CHO cells and rapid genome amplification of inserted genetic cassettes. Resulting clonal cell lines, secreting threpeutic proteins possesses high specific productivity and sufficient long-term stability for industrial use.

Keywords: producer cell lines; CHO; EEF1a.

High and stable specific productivity is the key feature of industrially employed cell lines, secreting pharmaceutical proteins. In some cases existing plasmid vectors don’t allow to obtain cell lines with the properties needed. We have developed plasmid vector p1.1, containing non-translating areas of the translation elongation 1-a gene from Chinese hamster, fragment of the concatemer of the terminal repeat from Epstein-Barr virus and selection marker dihydrofolate reductase. Utilizing this vector we obtained the cell line, secreting blood clotting factor VIII with the specific productivity over 10 µIU/cell/day and unchanged secretion rate for 120 days of periodic culturing. Derivatives of the p1.1 vector with various selection markers were created and employed for development of the cell line, secreting clotting factor IX with the specific productivity 2.1 µIU/cell/day and less than 3% of inactive form of factor IX.

We employed a tricistronic vector, containing the intact internal ribosome entry site from encephalomyocarditis virus between open reading frames of target genes for creation of cell lines, secreting heterodimeric proteins. Clonal cell line, secreting human follicle stimulating hormone (FSH) with the specific productivity 12 pg/cell/day mostly in the correct heterodimeric form, was developed. Plasmid p1.1 and derivative plasmids are suitable for rapid development of highly productive cell lines, secreting various recombinant proteins.

Orlova N.A.et al. Improved elongation factor-1alpha-based vectors for stable high-level expression of heterologous proteins in Chinese hamster ovary cells//BMC Biotechnol. 2014. Vol. 14. № 56.

УДК 544.726.3

ФРАКЦИОНИРОВАНИЕ ПРОДУКТОВ ГИДРОЛИЗА БЕТАЛАКТАМНЫХ АНТИБИОТИКОВ СОРБЦИОННЫМИ МЕТОДАМИ

Воронина Н.В., Котова Н.В., Глазова Н.В.

ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская химико-фармацевтическая академия» министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия
197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, 14
e-mail: nefimenko88@mail.ru

Проведено исследование процессов сорбции бензилпенициллина, 6-аминопенициллановой кислоты (6-АПК) и фенилуксусной кислоты (ФУК) на различных сорбентах с целью разделения компонентов данной смеси.

Ключевые слова: сорбция, фенилуксусная кислота, бензилпенициллин, модельный раствор.

Ферментативный гидролиз бензилпенициллина используется при производстве 6-АПК. По технологии производства, существующей в настоящее время, общий выход целевого продукта составляет около 60%, остальные 40% являются отходами, в которых содержатся бензилпенициллин, 6-АПК и ФУК.

В качестве сорбента для исследования был выбран молекулярный носитель Полисорб (ПС), на основе которого были получены модифицированные носители анионного и катионного типов. На модельных растворах подобраны оптимальные условия проведения процесса сорбции исследуемых веществ. Показана возможность выделения из смеси ФУК, которая может использоваться как ценный реактив. Максимальная емкость сорбции ФУК достигается на модифицированной форме ПС – сульфокатионите. Наибольший коэффициент распределения для бензилпенициллина получен на сорбенте анионного типа. Показано, что сорбция 6-АПК на данных носителях происходит неэффективно и для ее выделения из смеси предлагается использовать метод осаждения. Разработана схема разделения продуктов реакции энзиматического гидролиза бензилпенициллина с использованием модифицированных форм молекулярного сорбента Полисорб.

UDC 544.726.3

FRACTIONATION OF THE PRODUCTS OF HYDROLYSIS OF BETA-LACTAM ANTIBIOTICS WITH USING SORPTION METHODS

Voronina N.V., Kotova N.V., Glasova N.V.
Saint-Petersburg State Chemical-Pharmaceutical Academy, 197376, Russia, St. Petersburg, prof. Popov street, 14.
e-mail: nefimenko88@mail.ru

The study processes of sorption benzylpenicillin, 6-aminopenicillanic acid (6-APA) and phenylacetic acid (FAA) on various sorbents with the purpose to separate components of this mixture was conducted.

Keywords: sorption, phenylacetic acid, benzyl penicillin, model solution.

Enzymatic hydrolysis of penicillin is used in the production of 6-APA. According to the technology existing in the present time, the overall product yield is approximately 60%, the remaining 40% are wastes that contain benzylpenicillin, 6-APA and FAA.

As a sorbent for study was selected molecular sorbent Polysorb (PS) on the basis of which were obtained modified carriers the anionic and cationic types. Optimal conditions of the sorption of studied substances were selected on the model solutions. Was shown the possibility of separation FAA from the mixture, which can be used as a valuable reagent. The maximum capacity of the sorption FAA is achieved on the modified form of PS – sulphocationite. The highest distribution ratio for penicillin was obtained on the sorbent of anionic type. It is shown that the sorption of 6-APA on these carriers are ineffective and for its separation from the mixture suggested to use the method of precipitation. The scheme for separation of products of enzymatic hydrolysis of penicillin was developed with using modified forms of the molecular sorbent Polysorb.

ПОСТЕРЫ
POSTERS

УДК 62.41.31

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА СУБСТАНЦИЙ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ РЕЛИЗ-АКТИВНЫХ АНТИТЕЛ МЕТОДОМ ИФА

Борщева А.А., Дон Е.С., Моногаров Г.В., Тарасов А.В., Никифорова М.В., Тарасов С.А.
ООО «НПФ «Материа Медика Холдинг», Москва, Россия.
127473, Москва, 3-й Самотечный пер, д 9. e-mail: borshchevaaa@materiamedica.ru

Разработана методика ИФА для оценки активности антител к интерферону гамма человека в рамках контроля качества субстанции. Методика позволяет определить пригодность субстанции для производства препаратов на основе релиз-активных антител.

Ключевые слова: иммуноферментный анализ, контроль качества, интерферон гамма, антитела.

ООО «НПФ «МАТЕРИА МЕДИКА ХОЛДИНГ» представляет препараты для лечения различных заболеваний, где в качестве действующего вещества используются поликлональные антитела в релиз-активной форме (РА-антитела)[1].

При контроле качества субстанций для антительных препаратов необходимо оценить активность, опосредующую фармакологические эффекты. Механизм действия РА-антител заключается в способности оказывать прямое модифицирующее действие на целевой антиген [1], в связи с этим для контроля качества антительной субстанции используется метод иммуноферментного анализа, доказывающий способность антител специфически связываться с антигеном.

Нами была разработана и валидирована методика ИФА для определения активности антител к интерферону гамма человека (ИФНγ). Была выбрана конкурентная схема, где за связывание с антигеном конкурируют стандартные биотин-меченые и исследуемые поликлональные антитела. Титр антител в образце выражают в нг IC50. Валидационные параметры были выбраны на основании рекомендаций ICH Q2 и успешно подтверждены.

Разработанная методика позволяет оценить активность антител к ИФНγ – параметр, определяющий эффективность препаратов на основе РА-антител.

1. Эпштейн ОИ. Феномен релиз-активности и гипотеза «пространственного» гомеостаза// Усп Физиол наук, 2013, том44, №3, с. 54–76.

UDC 62.41.31

ELISA FOR QUALITY CONTROL OF DRUG SUBSTANCES OF RELEASE-ACTIVE ANTIBODY PREPARATIONS

A.A. Borshcheva, E.S. Don, H.V. Monogarov, A.V. Tarasov, M.V. Nikiforova, S.A. Tarasov
OOO "NPF "Materia Medica Holding", Moscow, Russia.
3d Samotechny per., buil. 9, Moscow,127473. e-mail: borshchevaaa@materiamedica.ru

An ELISA procedure has been developed intended for activity evaluation of antibodies to human interferon gamma as part of QC assessment of the drug substance. The assay allows determining applicability of the substance for the manufacture of drug products based on release-active antibodies.

Keywords: ELISA, quality control, interferon gamma, antibodies.

"OOO"NPF"MATERIA MEDICA HOLDINGS" has designed a range of drug products for the treatment of various diseases, with the active substance represented by polyclonal antibodies in release-active form (RA-antibodies) [1].

For quality control of drug substances to be used for the preparation of antibody drugs, studies should be performed to evaluate the activity underlying pharmacological effects. The mechanism of action of RA-antibodies is based on their ability to directly modify the target antigen [1]. Therefore quality control of antibody substances has to be performed by using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to demonstrate the antibodies' specific antigen binding.

We have developed and validated ELISA procedure for activity determination of antibodies to human interferon gamma (IFNγ). For the assay a competitive protocol was chosen where reference biotin-labeled and test polyclonal antibodies compete for antigen binding. Antibody titers of assayed samples were expressed as ng IC50. The validation parameters were defined based on the guideline ICH Q2 and successfully confirmed.

The developed procedure enables evaluation of anti-IFNγ antibody's activity – key parameter in efficacy assessment of RA–antibodies-based drugs.

1. O.I. Epstein (2013) Release-activity phenomenon and "spatial" homeostasis hypothesis // Usp. Fiziol. Nauk (Advan. Physiol. Sci.), 44(3): 54–76.

УДК 579.083.13: 579.25

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЛАКТОБАЦИЛЛ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Чижаева А.В., Дудикова Г.Н., Амангельды А.А., Велямов М.Т.
Казахский научно-исследовательский институт перерабатывающей и пищевой промышленности, Алматы, Казахстан
050060, Алматы, пр. Гагарина,238 «Г»
E-mail: anna_chizhaeva@mail.ru

Штаммы лактобацилл в составе консорциума для препарата-пробиотика идентифицированы методом определения прямой нуклеотидной последовательности фрагмента 16s rRNA гена, а также с применением видоспецифических праймеров. Определен уникальный набор фрагментов ДНК, характерных только для данных штаммов (ПЦР-фингерпринт).

Ключевые слова: ПЦР, гены, видоспецифические праймеры, фингерпринт.

Молекулярно-генетическая оценка лактобацилл необходима для проведения родовой и видовой идентификации культур на этапе подбора штаммов-продуцентов в состав пробиотиков, для контроля стабильности штаммового состава на всех этапах производства препаратов. Нами был создан пробиотический препарат на основе лактобацилл и послеспиртовой барды. Для уточнения видовой принадлежности культур в составе препарата нами была проведена генетическая идентификация штаммов 67, 22 и 104 методом определения прямой нуклеотидной последовательности фрагмента *16s rRNA* гена. Два штамма был идентифицированы как *Lactobacillus pontis 67* и *Lb. casei 22*. Однако, учитывая высокую консервативность нуклеотидной последовательности *16s rRNA* гена, филогенетический анализ не позволил провести четкую видовую дифференциацию штамма 104 на *Lb. paracasei* или *Lactobacillus rhamnosus*. ПЦР-идентификация с применением видоспецифических праймеров: LU-5, RhaII, Lpar-4, Lac-2. позволила отнести исследуемый штамм 104 к виду *Lactobacillus paracasei*. Далее с использованием праймеров M13 и 1254 нами был проведен ПЦР-фингерпринт всех трех штаммов,

определивший уникальный набор фрагментов ДНК, характерных только для данных штаммов. Полученные данные о молекулярно-генетической структуре исследованных штаммов внесены в генетические паспорта штаммов.

UTC 579.083.13: 579.25

MOLECULAR AND GENETIC ASSESSMENT OF LACTOBACILLI BY PRODUCTION OF PROBIOTIC PREPARATIONS

Chizhayeva A.V., Dudikova G.N., Amangeldi A.A., Velyamov M.T.
Kazakh research institute of the processing and food industry, Almaty, Kazakhstan
050060, Almaty, Gagarin av., 238 «G»
E-mail: anna_chizhaeva@mail.ru

Strains of lactobacilli in consortium for a preparation probiotics are identified by method of definition of direct nucleotide sequence of a fragment 16s rRNA gene, and also with application of species-specific primers. The unique set of fragments of DNA, characteristic only for these strains (PCR-fingerprint) is defined.

Keywords: PCR, genes, species-specific primers, fingerprint.

The molecular and genetic assessment of lactobacilli is necessary for carrying out genus- and species-identification of cultures at a stage of selection of strains-producers in structure of probiotics, for control of stability of strains structure at all stages of preparation productions. We created the probiotic preparation on the basis of lactobacilli and post alcohol bards. For specification of species accessory of cultures as a part of the preparation we carried out genetic identification of strains 67, 22 and 104 by method of definition of direct nucleotide sequence of the fragment *16s rRNA* gene. Two strains are identified as *Lactobacillus pontis 67* and *Lb. casei 22*. However, considering high conservatism of nucleotide sequence *16s rRNA* gene, the phylogenetic analysis didn't allow to carry out accurate species differentiation of the strain 104 on *Lb. paracasei* or *Lactobacillus rhamnosus*. PCR-identification with application of species-specific primers: LU-5, RhaII, Lpar-4, Lac-2 allowed carrying the studied strain 104 to the species of *Lactobacillus paracasei*. Further with use of primers of M13 and 1254 we carried out PCR-fingerprint all three strains, the defined unique set of fragments of DNA characteristic only for these strains. The obtained data on molecular and genetic structure of the studied strains are brought in genetic passports of strains.

УДК 577.11.083

КОБАЛЬТ-ЗАВИСИМАЯ ЭКСПРЕССИЯ – НОВЫЙ ТИП РЕГУЛЯЦИИ КАТАБОЛИТНЫХ ГЕНОВ В БАКТЕРИЯХ *RHODOCOCCUS*

Гречишникова Е.Г., Шемякина А.О., Лавров К.В., Герасимова Т.В., Яненко А.С.
Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов,
113545, Москва, 1-ый Дорожный пр., 1, т. (495) 315-01-83, e-mail yanenko@genetika.ru

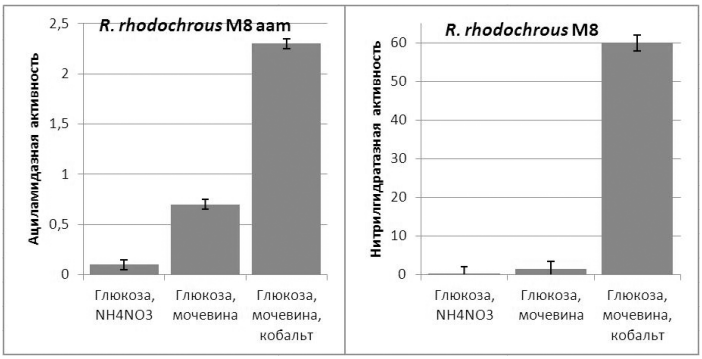
На модели штамма *R. rhodochrous* M8 aam, содержащего ген ациламидазы под контролем регуляторной области генов нитрилгидратазы, продемонстрирована кобальт-зависимая экспрессия гена.

Ключевые слова: Rhodococcus, амидаза, нитрилгидратаза, кобальт, промотор, экспрессия генов.

Введение. Утилизация органоцианидов (нитрилов) штаммом Rhodococcus rhodochrous M8 с участием ферментов нитилгидратазы и амидазы подвержена сложной регуляции, которая включает системы индукции и репрессии. В штамме *R. rhodochrous* M8, активность нитрилгидратазы – ключевого фермента утилизации нитрилов – индуцируется мочевиной и зависит от присутствия в среде ионов кобальта, которые входят в состав активного центра фермента. Изучение влияния кобальта на образование нитрилгидратазы в клетках *R. rhodochrous* M8 затруднено тем, что в отсутствие кобальта не наблюдается синтез активного фермента.

Результаты. Для изучения особенностей функционирования кобальт-зависимой регуляции в клетках родококккков были сконструирован штамм (*R. rhodochrous* M8 aam), у которого регуляторная область нитрилгидратазы слита с репортерным геном (ациламидазы) и исследована активность репортерного гена при разных условиях роста. Штамм был получен путем замещения генов нитрилгидратазы с использования нереплицирующихся в родококках гибридных плазмид. Активность ациламидазы в отличие от нитрилгидратазы не зависит от ионов кобальта, что позволяет использовать ген ациламидазы в качестве репортерного для изучения кобальт-зависимой экспрессии.

Штаммы *R. rhodochrous* M8 и *R. rhodochrous* M8 aam выращивали на минимальной синтетической среде с глюкозой, и индукторами (мочевиной, кобальтом), и определяли активности ферментов в клетках, а также содержания белка нитрилгидратазы и ациламидазы.



Оказалось, что в отличие от нитрилгидратазы, синтез ациламидазы наблюдается также и в отсутствие кобальта в среде. Однако при добавлении кобальта ациламидазная активность клеток вырастает в три раза и при этом резко увеличивается содержание белка ациламидазы в клетках (по результатам SDS-ПААГ электрофореза). Таким образом, уровень экспрессии репортёрного гена ациламидазы под контролем промоторной области нитрилгидратазы регулируется ионами кобальта. Кобальт–зависимая регуляция экспрессии гена является первым примером металлозависимой регуляции катаболитных генов в клетках бактерий Rhodococcus.

COBALT DEPENDENT EXPRESSION – NOVEL TYPE OF GENE EXPRESSION REGULATION FOR CATABOLIC GENES IN *RHODOCOCCUS* BACTERIA

Grechishnikova E.G., Shemyakina A.O., Lavrov K.V., Gerasimova T.V., Yanenko A.S..
State Research Institute for Genetics and Selection of Industrial Microorganisms,
113545, 1-st Dorojny pr., 1, Moscow, Russia, fax +7 495 315 05 01
e-mail yanenko@genetika.ru

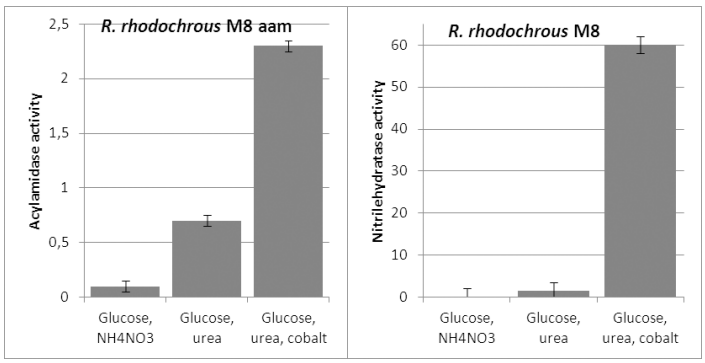
Cobalt influence on nitrilehydratase promoter activity of the model strain *R. rhodochrous* M8 aam was demonstrated. This strain has a substitution of the nitrilehydratase genes with an acylamidase gene aam, which fused with nitrilehydratase promoter.

Keywords: *Rhodococcus*, amidase, nitrilehydratase, cobalt, promoter, gene expression.

Introduction. Organocyanide (nitrile) utilization by *Rhodococcus rhodochrous* M8 strain is carried out with nitrilehydratase and amidase enzymes. This utilization is being under the complicated regulation, which involves induction and repression of gene expression. An expression of the nitrilehydratase – a key enzyme of nitrile utilization – is induced by urea. Also there is some data about cobalt influence on gene expression. However, detailed study of cobalt influence on gene expression on the *Rhodococcus rhodochrous* M8 strain was restricted, because normal folding and enzyme activity of the nitrilehydratase is impossible without cobalt.

Results. To more detailed studying of cobalt dependent regulation in rhodococcal cells, the *R. rhodochrous* M8 aam strain with a substitution of the nitrilehydratase genes with an acylamidase gene aam was constructed. Gene substitution was created via homologous recombination and plasmids, nonreplicable in Rhodococcus. Acylamidase activity is not metal-dependent, and can be used as a reporter to estimate the influence of cobalt on nitrilehydratase promoter activity.

*R. rhodochrou*s M8 и *R. rhodochrous* M8 aam strains was cultivated on minimal synthetic media with glucose and putative promoter inductors – urea, cobalt. Then enzyme activities and specific protein amount was estimated in grown up cells.



It turned out, that, in contrast to nitrilehydratase, acylamidase syntheses observed in the absence of cobalt in media. However addition of cobalt raised up the acylamidase activity of cells 3 fold, and also specific protein amount (estimated by SDS-PAGE). So that, level of acylamidase reporter gene under the control of nitrilehydratase promoter region is regulated by cobalt. Cobalt dependent regulation of gene expression is the first example of metal-dependent regulation for catabolic genes in Rhodococcus bacteria.

УДК 577.154.2 + 542.952+ 579.22; 577.152.1

РЕКОМБИНАНТНАЯ ТЕРМОСТАБИЛЬНАЯ ЛИПАЗА ИЗ THERMOMYCES LANUGINOSUS: ПОЛУЧЕНИЕ И БИОКАТАЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Беклемишев А.Б.[1], Коваленко Г.А.[2,3], Перминова Л.В.[2], Мамаев А.Л.[1], Пыхтина М.Б.[1]
[1]*ФГБУ «НИИ биохимии» СО РАМН, Новосибирск, Россия*
630117, Новосибирск, ул. Тимакова, 2
[2]*Институт катализа СО РАН им. Г.К. Борескова, Новосибирск, Россия*
[3]*Новосибирский государственный Университет, Новосибирск, Россия*
e-mail: beklem@niibch.ru

Получен штамм *E. coli* (r*E.coli*/lip) – продуцент термостабильной липазы из *Thermomyces lanuginosus*. Исследована внутриклеточная локализация липазы, её активность и термостабильность. На основе лизатов клеток r*E.coli*/lip приготовлены гетерогенные биокатализаторы для переэтерификации триглицеридов растительных масел.

Ключевые слова: клонирование, ген, *E. coli*, рекомбинантная термостабильная липаза, штамм-продуцент, биокатализатор, переэтерификация

Создание рекомбинантных микроорганизмов, продуцирующих, например, термостабильные липазы, является актуальной задачей биотехнологии, поскольку данные ферменты осуществляют конверсию триглицеридов в ценные продукты.

Штамм *E. coli*, продуцирующий липазу из *Thermomyces lanuginosus*, получен путем клонирования синтетического гена липазы, оптимизированного для экспрессии в клетках *E. coli* BL21(DE3). Рекомбинантный штамм r*E.coli*/lip обеспечивает эффективную экспрессию синтетического гена, при этом количество фермента достигает 30–40% от общего клеточного белка. Около 70% рекомбинантной липазы локализовано в растворимой форме в цитоплазме, 20% найдено в телах включения и 10% – в клеточном дебрисе в связанной с мембранами форме. Липаза обладает высокой термостабильностью; при нагревании в оливковом масле (100°C) константа инактивации и время полу-жизни составляли $6 \cdot 10^{-3}$ мин$^{-1}$ и ~2 ч, соответственно.

С использованием целых клеток r*E.coli*/lip и их клеточных лизатов приготовлены гетерогенные биокатализаторы для непрерывного процесса переэтерификации масложировых смесей. Данные биокатализаторы сохранили ~80 % стационарной активности через 100 ч работы при 70°C.

УДК 577.154.2 + 542.952+ 579.22; 577.152.1

RECOMBINANT THERMOSTABLE LIPASE FROM THERMOMYCES LANUGINOSUS: PRODUCTION AND BIOCATALYTIC PROPERTIES

Beklemishev A.B., Kovalenko G.A., Perminova L.V., Mamaev A.L., Pykhtina M.B.
Institute of Biochemistry, 630117 Novosibirsk, Russia
Institute of Catalysis, 630090 Novosibirsk, Russia

The recombinant *E. coli* strain (*rE. coli*/lip) producing a thermostable lipase from Thermomyces lanuginosus is constructed. The intracellular localization of lipase in *rE. coli*/lip, its activity and thermal stability are studied. Heterogeneous biocatalysts are prepared by entrapment of the rE.soli/lip cell' lysates inside nanocarbon-in-silica xerogel composites and studied in the triglycerides' interesterification.

Keywords: cloning, gene, *E. coli*, recombinant lipase, producing strain, biocatalysts, interesterification

Microbial lipases are powerful tools for catalyzing not only hydrolytic breakdown of fats and oils, but the various reverse reactions of synthesis, in particular esterification, interesterification, and acidolysis, alcoholysis, aminolysis with the high regio- and enantio-selectivity. Because of this, considerable attention has been given to the investigation of lipase-active heterogeneous biocatalysts.

The recombinant *E. coli* BL21(DE3) strain producing thermostable lipase from *Thermomyces lanuginosus* is constructed by cloning the synthetic gene in expressive vector. Synthetic gene is optimized for expression in *E. coli* cells. Recombinant strain r*E.coli*/lip is ensured efficient expression of the synthetic gene. Quantity of synthesized recombinant enzyme reaches 30–40% of the total cell protein. It is found that recombinant lipase is localized in the cytoplasm predominantly in soluble form (about 70% of total recombinant enzyme), 20% of lipase is in the inclusion bodies and 10% in cell debris as insoluble form associated with the membranes. The thermal stability of recombinant lipase is found to be sufficiently high; and when heating r*E.coli*/lip in olive oil (100°C), the inactivation constant and the half-life time are $6 \cdot 10^{-3}$ $min^{-1}$and ~2 h, respectively.

The biocatalysts are prepared by entrapment of the whole cell r*E.coli*/lip or the cells' lysates inside nanocarbon-in-silica composites. The continuous process of interesterification of the oil-fat blends is carried out in the packed-bed reactor at 70°C. For 100 h operation, the prepared biocatalysts retaine above 80% of stationary activity.

УДК 602.4:547.455.623:007.573.6

БИОСЕНСОР НА ОСНОВЕ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ПЕЧАТНЫХ ЭЛЕКТРОДОВ ДЛЯ МНОГОКОМПОНЕНТНОГО АНАЛИЗА ПОЛУПРОДУКТОВ БРОЖЕНИЯ

Каманин С.С., Арляпов В.А., Решетилов А.Н.
ФГБОУ ВПО Тульский государственный университет
г. Тула, Россия
s.s.kamanin@gmail.com

Анонс: Разработан массив модифицированных печатных электродов, селективных по отношению к глюкозе, этанолу, лактату и крахмалу, для использования в составе биосенсора для мониторинга процесса брожения в реальном времени.

Ключевые слова: биосенсор, печатный электрод, бродильное производство.

В настоящее время каждый инструментальный метод анализа занимает свою нишу на рынке лабораторного оборудования, которая ограничивает целесообразность его применения для определения содержания различных веществ. Однако биосенсоры на основе модифицированных печатных электродов (МПЭ) могут служить базой для разработки унифицированного метода определения содержания различных веществ. В результате работы были получены МПЭ на основе берлинской лазури и ферментов: глюкозооксидазы, алкогольоксидазы, лактатоксидазы, и смеси γ-амилазы и глюкозооксидазы, иммобилизованных в гель поперечно-сшитого бычьего сывороточного альбумина. Диапазон определяемых содержаний для биосенсоров на основе полученных МПЭ составил соответственно 0,05–1,09 мМ глюкозы, 0,09–0,87 мМ этанола,

1–53 мМ лактата и 0,03–0,59 г/л крахмала. Коэффициент чувствительности для биосенсора на глюкозу составил 322 мкА·$М^{-1}$, на этанол – 476 мкА·$М^{-1}$, на лактат – 9,1 мкА·$М^{-1}$, на крах-

мал – 670±20 нА·л/г. МПЭ, описанные в данной работе, были апробированы на образцах полупродуктов брожения.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук, договор № 14. Z56.14.330-МК и ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы», соглашение № 14.574.21.0062.

BIOSENSOR BASED ON MODIFIED SCREEN-PRINTED ELECTRODES FOR MULTICOMPONENT ANALYSIS OF SEMI-FERMENTED MASS

Kamanin S.S., Arlyapov V.A., Reshetilov A.N.
Tula State University
Tula, Russia
s.s.kamanin@gmail.com

Announcement: Screen-printed electrodes array sensitive to the presence of glucose, ethanol, lactate and starch is developed for application in biosensor for on-line monitoring of fermentation process.

Keywords: biosensor, screen-printed electrode, fermentation production.

Nowadays every instrumental analytical method has its own niche in the market of laboratory equipment, which limits expediency of its application for the determination of various substances. However, biosensors based on modified screen-printed electrodes (MSPE) can serve as a basis for the development of a unified method for the determination of various substances. As result of the work MSPE, based on Prussian Blue and enzymes: glucose oxidase, alcohol oxidase, lactate oxidase and mixture of γ-amylase and glucose oxidase, immobilized in the gel of crosslinked bovine serum albumin, were obtained. The range detection range for biosensors based on developed MSPE amounted to 0.05–1.09 mM of glucose, 0.09–0.87 mM of ethanol, 1–53 mM of lactate and 0.03–0.59 g/l of starch. The sensitivity coefficient for glucose biosensor was 322 $\mu A \cdot M^{-1}$, ethanol biosensor – 476 $\mu A \cdot M^{-1}$, lactate biosensor – 9.1 $\mu A\ M^{-1}$, starch biosensor – 670±20 nA·l/g. MSPE described in this paper were tested on samples of semi-fermented mass. Statistical methods established that glucose, ethanol, lactate and starch content, defined using MBE and the resulting reference methods (HPLC, gas chromatography, capillary electrophoresis, polarimetry respectively), differs insignificantly.

The work was supported by a grant of President of Russian Federation for state support of young Russian scientists – Ph.D., contract № 14.Z56.14.330-MC and the Federal Target Program “Research and development on priority directions of scientific-technological complex of Russia for 2014–2020”, the agreement № 14.574.21.0062.

УДК 636.084.414

ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ ГИДРОЛИЗ УГЛЕВОДОВ В СОСТАВЕ СОЕВОЙ МУКИ

Хабибулина Н.В., Красноштанова А.А., Полтева Е.Д.
Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия
125480, Москва, ул. Героев Панфиловцев, д. 20, корп. 1
e-mail: ernestine2007@ya.ru

Проведен выбор ферментных препаратов и условий обработки, позволяющих провести наиболее глубокий гидролиз некрахмалистых полисахаридов в составе соевой муки. Показано, что при использовании сочетания целлюлазы и амилазы возможно получение фракций гидролизованных растворимых олигосахаров и обогащенного сырым протеином осадка.

Ключевые слова: соевая мука; некрахмалистые полисахариды; ферментативный гидролиз.

Настоящая работа подготовлена по результатам исследований, проведенных в рамках гранта Президента РФ для поддержки молодых российских ученых МК-4800.2014.4.

Высокое содержание некрахмалистых полисахаридов (18–23%) в соевой муке сдерживает её применение в кормопроизводстве, так как их наличие вызывает повышение вязкости содержимого кишечника сельскохозяйственных животных, что препятствует перевариванию корма. Для повышения питательной ценности кормов соевую муку обрабатывают ферментными препаратами [1].

В настоящей работе использовали экструдированную соевую муку и ферментные препараты, обладающие амилазной, ксиланазной, гемицеллюлазной и целлюлазной активностями. Показано, что при норме внесения 0,2–2% от массы субстрата в течение двух часов гидролиза наблюдается переход в жидкую фазу 20–70% углеводов. Наилучшие результаты были получены при использовании препарата Целловиридин Г20Х в сочетании с Верон БА, содержащем бактериальную амилазу. После отделения жидкой углеводной фазы осадок представляет собой фракцию соевого белка с содержанием сырого протеина 78–80%.

Список литературы:

1. Бутейкис Г., Блажинскас Д. Ферменты – гарантия ощутимой выгоды сегодня и в будущем // Комбикорма. – 2012. – №. 3. – С. 105-106.

УДК 636.084.414

ENZYMATIC HYDROLYSIS OF CARBOHYDRATES IN SOY FLOUR

Khabiboulina N.V., Krasnoshtanova A.A., Polteva E.D.
Mendeleyev University of Chemical Technology of Russia, Moscow, Russia
125480, Moscow, Geroev Panfilovcev str., 20, building 1
e-mail: ernestine2007@ya.ru

An enzyme preparations and processing conditions selection for a full hydrolysis of non-starch polysaccharides containing in the soy flour was made. It is shown that it is possible to receive soluble oligosaccharides and protein-rich residue using a combination of cellulase and amylase.

Keywords: soy flour; non-starch polysaccharides; enzymatic hydrolysis.

This paper was prepared on the results of research carried out under a grant from the President of the Russian Federation for support of young Russian scientists MK–4800.2014.4.

Soy flour are widely used in feed, however, high levels of non-starch polysaccharides (18–23%) containing in soy flour promotes intestinal contents of farm animals viscosity increasing, which pre-

vents the digestion of food. To improve the nutritional value of forage soybean meal treated with enzymes [1].

In this paper an extruded soybean meal and enzyme preparations with activities of amylase, xylanase, cellulase and hemicellulase were used. It is shown that during first two hours a transition into the liquid phase 20–70% of carbohydrates can be observed, the dosage of enzyme preparations reached 0.2–2% by weight of the substrate. Best results were obtained using the preparation Celloviridin G20X combined with Veron BA comprising bacterial amylase. After separation of the liquid carbohydrate fraction from unhydrolyzed part the residue has a crude protein content of 78–80%.

List of references:

1. Buteikis G., Blajinskas D. Enzymes – a guarantee tangible benefits now and in the future // Kombikorma – 2012. – № 3. – PP. 105-106.

УДК 602.6

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГИДРОЛИЗАТОВ МУКИ ЗЕРНОВЫХ И ЗЕРНОБОБОВЫХ КУЛЬТУР ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЛАКТОБАКТЕРИЙ

Хромова Н.Ю., Кареткин Б.А., Грошева В.Д., Шакир И.В., Панфилов В.И.
Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева,
125047, г. Москва, Миусская площадь, д. 9, кафедра биотехнологии.
E-mail: khromova-natalya@bk.ru

Ключевые слова: пробиотики, растительное сырье, питательные среды, лактобациллы

В настоящее время в мире наблюдается повышение интереса и спроса на пробиотические продукты функционального назначения. Питательные среды для культивирования пробиотических микроорганизмов должны быть сбалансированы по химическому составу, в частности по источникам азота, витаминов, микро- и макроэлементов. Исключение из состава питательной среды дорогостоящих компонентов позволяет снизить затраты на культивирование. Наиболее доступным и приемлемым по химическому составу для этих целей является возобновляемое растительное сырье. В настоящей работе исследована возможность применения муки зерновых и зернобобовых культур в качестве основного компонента питательных сред для культивирования лактобацилл.

Культивирование проводили глубинным способом в микроаэрофильных условиях при температуре 37°С. На первом этапе в качестве питательной среды использовали термически предобработанную муку. После 48 ч роста наибольший титр клеток ($3\cdot10^9$ КОЕ/мл) и повышение кислотности среды достигались на ржаной муке. Рост на других субстратах был значительно ниже. На втором этапе для повышения доступности протеина субстрат подвергали обработке протеолитическим ферментным препаратом Protex 40E. При культивировании в средах, подвергнутых ферментативному гидролизу, титр клеток повышался на 2 порядка для питательных сред на основе гречишной, пшеничной и гороховой муки до $2\cdot10^8$, $3\cdot10^9$ и $2\cdot10^9$ КОЕ/мл, соответственно. При культивировании в среде с ржаной мукой по сравнению с первым опытом существенных изменений не наблюдали.

Таким образом, наиболее подходящим субстратом для культивирования лактобацилл является ржаная мука, как обработанная, так и необработанная ферментом, либо подвергнутая протеолизу пшеничная и гороховая мука. Интерес для дальнейших исследований представляет оптимизация ферментативной обработки субстрата и культивирование на гидролизатах с поддержанием pH.

UDC 602.6

HYDROLYSATES OF CEREAL AND PEA FLOUR FOR CULTIVATION OF LACTOBACILLI

Khromova N.Yu., Karetkin B.A., Grosheva V.D., Shakir I.V., Panfilov V.I.
D. Mendeleyev University of Chemical Technology of Russian,
125047, Moscow, Miusskaya Square, 9, Department of Biotechnology
E-mail: khromova-natalya@bk.ru

Keywords: probiotics, plant material, culture media, lactobacilli

At present, the world has witnessed increased interest in and demand for functional probiotic products. Hence, the nutrient medium for probiotic microbes fermentation is to have balanced chemical composition, in particular nitrogen sources, vitamins, micro and macro elements. Exclusion of expensive components from the culture medium reduces the cost of fermentation. The renewable plant material is the most affordable and acceptable chemical composition for the purpose discussed. The possibility of flour of grains and legumes use as a major component of culture media for the fermentation of lactobacilli was investigated.

The cultivation was performed in a deep way in microaerophilic conditions at 37°C. At the first stage a thermally preprocessed flour was used as the nutrient medium. The highest value of the medium acidity has been achieved by the 48 hour on rye flour, and the number of viable bacteria cells was $3 \cdot 10^9$ CFU/ml. Other substrates showed significantly lower growth. Proteolytic enzyme Protex 40E treatment was used to improve the availability of the protein substrate during the second stage. When cultured in the medium exposed to enzymatic hydrolysis, the number of cells increases 2 orders of magnitude for culture media based on buckwheat, wheat and pea flour, $2 \cdot 10^8$, $3 \cdot 10^9$ and $2 \cdot 10^9$ CFU/ml, respectively. No significant changes were observed for the medium with rye flour compared to the first embodiment.

Thus, rye flour, both treated by the enzyme and not or proteolysed wheat and pea flour are suitable substrate for the cultivation of lactobacilli. Optimization of substrate enzymatic treatment and cultivation on hydrolysates obtained is of interest for further investigations.

УДК 579.61

ПРОДУКЦИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИНА ЧЕЛОВЕКА (рчАФП) В МЕТИЛОТРОФНЫХ ДРОЖЖАХ *PICHIA PASTORIS*

Морозкина Е.В.[1], **Вавилова Е.А.**[1], **Зацепин С.С.**[1], **Дудич И.В.**[2], **Семенкова Л.Н.**[2], **Беневоленский С.В.**[1]
[1]*Институт биохимии им. А.Н.Баха РАН, Москва, Россия, 119071 Москва, Ленинский просп., 33, стр. 2*
[2]*ОАО "Институт Инженерной Иммунологии" Чеховский р-н, 142380, пос. Любучаны, Московская обл.*
e-mail: chicelena@yandex.ru

Сконструирован штамм метилотрофных дрожжей *Pichia pastoris* – продуцент рекомбинантного негликозилированного альфа-фетопротеина (рчАФП$_0$) человека. Синтезируемый белок обладает противоопухолевой активностью, аналогичной природному эмбриональному альфа-фетопротеину (эАФП) человека.

Ключевые слова: рекомбинантный альфа-фетопротеин человека, *Pichia pastoris*, противоопухолевая терапия.

Альфа-фетопротеин (АФП) обладает огромным терапевтическим потенциалом при лечении рака и аутоиммунных заболеваний и может быть использован для регенерации тканей. Применение эмбрионального АФП (эАФП) лимитировано отсутствием доступного источника сырья. Получение рекомбинантного негликозилированного АФП (рчАФП$_0$) явилось необходимым условием для изучения структурно-функциональных свойств белка и его дальнейшего применения в медицине. В ходе работы синтезирован ген рчАФП$_0$ и создан штамм-продуцент рчАФП$_0$ в метилотрофных дрожжах *Pichia pastoris*, секретирующий целевой белок в культуральную жидкость. Оптимизация и масштабирование ферментационного процесса позволили увеличить выход рчАФП$_0$ до уровня 20 мг/л. Разработан протокол выделения и очистки биологически активного рчAFP$_0$. Изучение функциональной активности рчAFP$_0$, проведенное *in vitro* на двух модельных системах – подавление роста раковых клеток посредством индукции апоптоза и ингибирование пролиферации митоген-активированных лимфоцитов, показало, что данный белок проявляет противоопухолевую активность аналогичную природному эАФП.

ENGINEERING OF THE METHYLOTROPHIC YEAST *PICHIA PASTORIS* PRODUCING RECOMBINANT HUMAN ALPHA-FETOPROTEIN

Morozkina E.V.[1], **Vavilova E.A.**[1], **Zasepin S.S.**[1], **Semenkova L.N.**[2], **Dudich I.V.**[2], **Benevolensky S.V.**[1]
[1]*A.N.Bach Institute of Biochemistry RAS, Moscow, Russia, 119071, Moscow, Leninsky prosp., 33, building 2*
[2]*Institute of Immunological Engineering, Lyubuchany, Moscow Region, Chekhov district, 142380, Russia*
e-mail: chicelena@yandex.ru

Pichia pastoris yeast strain producing recombinant human alpha-fetoprotein was constructed. Functional tests demonstrated similar type of tumor suppressive and immunosuppressive activity for recombinant AFP as compared to natural embryonic one.

Keywords: Recombinant human alpha-fetoprotein; *Pichia pastoris*; tumor suppression

Alpha-fetoprotein (AFP) is a candidate of biological drug with high potential for treatment of autoimmune diseases, cancer, and in regenerative medicine. It is known that the source of natural serum human AFP is limited thus large scale production of recombinant human alpha-fetoprotein (rhAFP) is desirable for structural and functional studies and applied research.

In this study we cloned and expressed in the secreted form non-glycosylated human rhAFP$_0$ in the methylotrophic yeast *Pichia pastoris*. For increasing rhAFP$_0$ production, the conditions for yeast fermentation have been optimized. As a result the total yield of rhAFP$_0$ production in culture liquid increased up to 20 mg/L. RhAFP$_0$ were successfully produced and purified from the cultural liquid as active naturally folded protein.

Functional activity of rhAFP0 was studied *in vitro* in two model protocols – growth suppression of tumor cells by induction of apoptosis and inhibition of proliferation of mitogen-activated lymphocytes. It was confirmed that rhAFP0 anti-tumor activity is equal to this parameter for embryonic AFP.

УДК 543.068.8

МОДИФИКАЦИЯ ВНУТРЕННЕЙ ПОВЕРХНОСТИ ФОТОННО-КРИСТАЛЛИЧЕСКИХ ВОЛНОВОДОВ В РАЗРАБОТКЕ БИОСЕНСОРОВ

Пиденко С.А., Пиденко П.С., Бурмистрова Н.А., Горячева И.Ю.
Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия
410012, Саратов, ул. Астраханская, 83
e-mail: naburmistrova@mail.ru

Дли использования в качестве основы для биосенсоров при проведении клинических анализов получены образцы фотонно-кристаллических волноводов (ФКВ), модифицированных сернокислым раствором пероксида водорода и алкиламиносиланами. Исследовано влияние концентрации реагентов и времени обработки внутренней поверхности на спектральные характеристики ФКВ.

Ключевые слова: фотонно-кристаллические волноводы, биосенсор, модификация поверхности.

Уникальные оптические свойства фотонно-кристаллических волноводов (ФКВ) позволяют рассматривать их как перспективную основу для разработки биосенсоров, которые могут быть применены в различных областях медицины и биотехнологии. Особый интерес представляют ФКВ с модифицированной внутренней поверхностью, которая позволяет осуществлять ковалентное и не ковалентное связывание низко- и высокомолекулярных веществ.

В работе использованы ФКВ с большим периодом решетки структурной оболочки. Особенности спектральных характеристик данных ФКВ позволяет получать отклик на незначительные изменения показателя преломления среды, заполняющей каналы в структуре волноводов. Измерения спектральных характеристик ФКВ проводили на анализаторе Ocean Optics HR4000, изучение поперечных сечений – на микроскопе Carl Zeiss Axiostar Plus. Установлено, что обработка внутренней поверхности ФКВ раствором смеси концентрированных H_2SO_4 и H_2O_2 наблюдается смещение полос в спектре пропускания ФКВ. При этом величина сдвига зависит от концентрации H_2O_2 и времени обработки. Исследование образцов методом сканирующей электронной микроскопии показало отсутствие нарушений и изменений морфологической структуры ФКВ. Установленные закономерности позволяют управлять плотностью формирования поверхностного слоя активных ОН-групп и были успешно использованы для оптимизации дальнейшей модификации ФКВ алкиламиносиланами.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, проект 14-13-00229.

УДК 543.068.8

VARIATIONS IN INNER SURFACE OF A PHOTONIC-CRYSTAL FIBERS DEVELOP BIOSENSORS

Pidenko S.A., Pidenko P.S., BurmistrovaN.A., Goryacheva I.Y.
SaratovStateUniversity, Saratov, Russia
83 Astrakhanskaya Street, Saratov, 410012
e-mail: naburmistrova@mail.ru

The samples of photonic crystal fibers (PCF) modified by sulfuric acid solution of hydrogen peroxide and alkyl aminosilanes for use as a basis for biosensors for clinical analyzes were obtained. The

influence of the concentration of the reactants and the processing time on the spectral characteristics of the PCF were investigated.

Keywords: photonic crystal fibers, biosensor surface, modification.

Unique optical properties of photonic crystal fibers (PCF) can be considered as promising tools for the development of a biosensor matrix, which can be applied in various fields of medicine and biotechnology. The objects of particular interest are the PCF with the modified internal surface, which permits covalent and non-covalent binding of the low- and high-molecular substances.

PCF with large lattice shell structure were used in the work. There spectral characteristics allows to receive a response of a very small fluctuations of the refractive index of the medium filling the channels in the waveguide structure. The spectral characteristics of PCF were performed on the analyzer Ocean Optics HR4000, cross-sectional study – on the microscope Carl Zeiss Axiostar Plus.

The treatment of the inner surface of the PCF with a solution of concentrated H2SO4: H2O2 leads to displacement of the fringes in the transmission spectrum of the PCF. The magnitude of the shift depends on the concentration of H2O2 and processing time. Examination of the samples by scanning electron microscopy showed no irregularities and changes in the morphological structure of the PCF. Established laws allow you to control the density of the formation of the surface layer of active OH groups and have been successfully used to optimize further modification PCF by alkyl aminosilanes.

The work was supported by the Russian Scientific foundation (project 14-13-00229).

НОВЫЕ МАКРОПОРИСТЫЕ БИОСОРБЕНТЫ НА ОСНОВЕ КРИОГЕЛЕЙ, СФОРМИРОВАННЫХ ИЗ СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА

Родионов И.А.[1], **Лозинский В.И.**[1], **Александрова А.Е.**[2], **Бакеева И.В.**[2]
[1]*Институт элементоорганических соединений им. А.Н.Несмеянова РАН, ул. Вавилова 28, 119991 Москва, РФ; e-mail: ilyarodionov2@gmail.com*
[2]*ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет тонких химических технологий им. М.В.Ломоносова»*

Криогели – особый класс макропористых полимерных гелей, формируемых в неглубоко замороженной среде. В зависимости от природы предшественников, а также режимов замораживания-оттаивания, могут быть получены криоструктураты, отличающиеся по своим физико-химическим свойствам и морфологии. Большой интерес с точки зрения практики представляют криогели на основе белков. Такие гелевые материалы биосовместимы и могут применяться в качестве биосорбентов. Исследование зависимости основных характеристик макропористых белковых криогелей от параметров процесса криоструктурирования дает информацию для направленного дизайна структуры и эксплуатационных качеств данных материалов.

В качестве белка-предшественника нами был использован бычий сывороточный альбумин (БСА). В результате денатурации нативной глобулы БСА под действием хаотропных агентов пространственно закрытые -S-S связи в присутствии низкомолекулярных SH-агентов могут вступать в реакции тиол-дисульфидного обмена, что обуславливает возможность формирования трехмерной сетки. Согласно второму использованному в работе подходу гелевая сетка образуется также при взаимодействии сшивающего агента с функциональными группами белка.

Исследовано влияние исходных концентраций белка и сшивателей, а также режимов процесса криоструктурирования на свойства получаемых криогелей. Показано, что полученные

БСА-криогели могут использоваться в качестве биосорбентов. Оценка их сорбционных свойств проведена с помощью модельного вещества – L-триптофана. Найдено, что сорбционная емкость криогелей зависит от способа их получения, соотношения белок : реагент, а также от температуры криотропного гелеобразования.

NOVEL MACROPOROUS BIO-ABSORBENTS ON THE BASIS OF CRYOGELS PREPARED FROM SERUM ALBUMIN

I.A.Rodionov[1], **V.I.Lozinsky**[1], **A.E.Alexandrova**[2], **I.V.Bakeeva**[2]
[1]*A.N. Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds, RAS,*
Vavilov str. 28, 119991, Moscow, Russian Federation,
e-mail: ilyarodionov2@gmail.com
[2]*M.V.Lomonosov Moscow State University for Fine Chemical Technology*

Cryogels represent a unique family of polymeric gels formed in moderately frozen medium. The cryostructurates thus obtained may differ by their physical chemical features and morphology depending on the nature of precursors used, as well as on the freezing-storing-defrosting mode. Protein based cryogels are of great interest in regard to their possible application. Such gel-like materials are biocompatible and can be utilized as bio-absorbents. Study of the relationship between the properties of macroporous protein-based cryogels and parameters of their fabrication process allows obtaining the information for further targeted design of structure and performance of these materials.

In this study we have utilized bovine serum albumin (BSA) as a protein precursor. Denaturation of the BSA native globule conformation exposed to the chaotropic agents results in previously space-hidden -S-S-bonds reacting via thiol-disulfide exchange in the presence of low-molecular-weight SH-containing agents, thus giving rise to the formation of 3D-network. According to the second approach utilized in this work the gel network was formed under the reaction of the cross-linking agent with functional groups of the protein.

Impact of the initial concentration of peptide and cross-linking agents, as well as the freezing-storing-defrosting mode on the characteristics of the BSA-cryogels formed was studied. It has been demonstrated that the resultant cryogels can be employed in the capacity of bio-absorbents. Evaluation of their absorptive properties was carried out using L-tryptophan acting as a model compound. It was found that value for the absorption capacity depends on the route of the gel-formation, as well as on the protein-to-reagent ratio, and furthermore on the temperature of cryotropic gel-formation.

УДК 663.15

ПОЛУЧЕНИЕ ВЫСОКОАКТИВНОЙ ФОРМЫ РЕКОМБИНАНТНОЙ ТИРЕОПЕРОКСИДАЗЫ ЧЕЛОВЕКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БАКУЛОВИРУСНОЙ СИСТЕМЫ ЭКСПРЕССИИ

Шеметова Е.Б., Сорокин М.А., Иванов К.А., Плетнёв Д.Н., Некрасова Н.А., Бабкина И.Н., Данилюк Н.К., Рукавишников М.Ю.

ЗАО "Вектор-Бест", Новосибирск, Россия

630117, Новосибирск, ул Арбузова 1/1

danilyuk@vector-best.ru

С использованием бакуловирусной системы экспрессии получена рекомбинантная тиреопероксидаза человека, высокоактивная в ИФА со специфической панелью сывороток.

Ключевые слова: тиреопероксидаза, бакуловирусная система экспрессии, Sf9.

Аутоиммунный тиреоидит Хашимото, послеродовой тиреоидит и диффузный токсический зоб сопровождаются появлением в крови больного аутоантител к тиреопероксидазе (ТПО) – ключевому ферменту биосинтеза тиреоидных гормонов. Общее количество больных с аутоиммунным повреждением щитовидной железы достигает в европейских странах нескольких процентов населения.

Целью работы было создание на основе рекомбинантного белка непрямой ИФА тест-системы для количественного определения антител к ТПО в сыворотке крови больных. Поскольку ТПО является гликопротеином со сложными структурными эпитопами, его продукцию осуществляли с использованием бакуловирусной системы экспрессии.

На основе системы Bac-to-Bac была собрана векторная конструкция, в составе которой под контроль конститутивного промотора гена полиэдрина была помещена кодирующая область гена ТПО человека за исключением 3'-концевой последовательности, кодирующей трансмембранный домен. В той же рамке считывания были помещены последовательности, кодирующие сигнальный полипептид белка мелиттина, а также 6-his- и strep- таги.

Экспрессию рекомбинантного белка проводили в суспензионной культуре клеток Sf9 в среде TNM-FH, 10% FBS. Нарабатываемый белок был растворим и эффективно секретировался в среду до концентрации нескольких миллиграммов на литр. Показано влияние на эффективность наработки таких параметров как плотность клеточной культуры, время наработки, а также содержание в среде некоторых добавок (гематин и др.). Очистку рекомбинантного ТПО осуществляли из культуральной среды при помощи аффинной хроматографии на смоле Ni-NTA, либо Strep-Tactin®. Трудности очистки рекомбинантного белка из культуральной среды удалось минимизировать переходом к средам с пониженным содержанием сыворотки. Очищенный рекомбинантный ТПО человека проявлял высокую специфическую активность в ИФА.

HIGHLY ACTIVE RECOMBINANT HUMAN THYROID PEROXIDASE PRODUCED WITH BACULOVIRUS EXPRESSION VECTOR SYSTEM

Shemetova E.B., Sorokin M.A., Ivanov K.A., Pletnev D.N., Nekrasova N.A., Babkina I.N., Danilyuk N.K., Rukavishnikov M.Ju.
ZAO "Vector-Best", Novosibirsk, Russia
630117, Novosibirsk, Arbuzova str., 1/1
danilyuk@vector-best.ru

Recombinant human thyroid peroxidase has been produced with baculovirus expression vector system. It is highly active in ELISA with set of specific human serum samples.

Keywords: thyroid peroxidase, baculoviral expression vector system, Sf9.

Autoimmune Hashimoto's thyroiditis, postpartum thyroiditis and Graves' disease are accompanied by the appearance in the blood of a patient of autoantibodies to thyroid peroxidase (TPO) – a key enzyme of the biosynthesis pathway of thyroid hormones. Total number of patients with autoimmune thyroid damage in European countries reaches several percent of the population.

The goal of the study was to create an indirect ELISA test systems for the quantitative calculation of TPO-directed antibodies in serum samples of patients. Since TPO is a glycoprotein that has complex structural epitopes, its production was carried out using a baculovirus expression vector system.

Based on Bac-to-Bac system an expression vector has been assembled, where the coding region of human TPO except for its 3'-terminal sequence encoding the transmembrane domain has been placed under the control of the constitutive polyhedrin gene promoter. At the same reading frame sequences encoding the signal polypeptide of melittin and 6-his- and strep- tags has been placed.

Expression of recombinant protein has been performed in Sf9 cells suspension culture in the TNM-FH medium supplemented with 10% FBS. The resulted protein is fully soluble and efficiently secreted into the medium with a final concentration up to a few milligrams per liter. Several parameters have been shown to be crucial for the overall success of the protein production such as the density of the cell culture, harvest time, as well as certain additives to the media (hematin etc.). Purification of recombinant TPO has been performed from the culture medium using metal chelate (Ni-NTA) or affinity (Strep-Tactin®) chromatography. Difficulties of recombinant protein purification from the culture medium have been minimized by reducing the concentration of serum in the media. Purified recombinant human TPO shows high specific activity in ELISA.

УДК 678

ТЕРМИЧЕСКАЯ И ФОТОДЕСТРУКЦИЯ ЭКОЛОГИЧЕСКИ БЕЗОПАСНЫХ ПЛЕНОК НА ОСНОВЕ ПОЛИЭТИЛЕНА И ПОЛИЛАКТИДА

Жаркова Е.А.[1], **Щербакова Е.М.**[1], **Тертышная Ю.В.**[2], **Шадрова О.И.**[1]

[1]*Государственное бюджетное образовательное учреждение Гимназия № 1583, г. Москва*
[2]*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия.*

Работа посвящена изучению свойств смесей полиэтилен – полилактид с окисленным полиэтиленом. Это смеси биоразлагаемого и синтетического полимера. Методом ДСК определены теплофизические параметры. Изучен процесс термо – и фотодеструкции.

Ключевые слова: полилактид, термодеструкция, УФ-излучение, окисленный полиэтилен, полимерные смеси.

В настоящее время очень важно создавать и использовать материалы, которые бы являлись экологически безопасными и решали бы проблему полимерных отходов. В данной работе один из компонентов смеси – это полилактид (ПЛА), «зеленый» полимер, синтезируемый из продуктов брожения кукурузного сусла, а второй – полиэтилен (ПЭ) и окисленный ПЭ, используемый как модель вторсырья, т.е. полимерных отходов. Из подобных смесей следует производить материалы для недолгосрочного использования: пленочная упаковка, пакеты, подложки. После использования такой материал должен легко деструктировать, не причиняя большого вреда окружающей среде.

Для исследований были получены смеси, содержащие 30% ПЛА и 70% ПЭ, в составе которых было 10, 20, 30% окисленной фракции. В ходе эксперимента были определены теплофизические параметры. Определено, что с ростом содержания окисленной составляющей ПЭ температура деструкции снижается почти на 10 оС. После воздействия УФ-излучения Т плавления как ПЭ, так и ПЛА снижается (особенно у ПЛА). Т деструкции после 50 часов воздействия ультрафиолета снижается на 15–20°С для всех смесей.

UDC 678

THERMAL AND PHOTODEGRADATION OF ENVIRONMENTALLY FRIENDLY FILMS BASED ON POLYETHYLENE AND POLYLACTIDE

Zharkova E.A.[1], **Shcherbakova, E. M.**[1], **Tertyshnaya Yu. V.**[2], **Shadrova O.I.**[1]

[1]*Gymnasium № 1583, Moscow, Russia*

[2]*Emanuel Institute of biochemical physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, moraxella@bk.ru*

The work is devoted to the study of the properties of blends of polyethylene – polylactid with oxidized polyethylene. The thermophysical parameters were determined by DSC method . The process of thermal and photodegradation was studied

Keywords: polylactide, degradation, UV radiation, oxidized polyethylene, polymer blends.

Currently, it is very important to create and use materials that would be environmentally friendly and would address the issue of polymer waste. In this work, one of the components of the mixture are polylactide (PLA), “green” polymer synthesized from the products of fermentation of corn mash, and the second polyethylene (PE) and oxidized PE, used as model materials to be recycled, i.e., polymer waste. Such blends should produce materials for short-term use: film packaging, packages, substrates. This material should be able to decompose without causing great harm to the environment after using.

For research was obtained a mixture containing 30% PLA and 70% of PE, which was 10, 20, 30% oxidized fraction. In the course of the experiment were determined thermophysical parameters. It was obtained that the temperature of degradation is reduced by approximately 10°C with increasing of the oxidized component of the PE content. After exposure to UV radiation T melting as PE and PLA decreases (especially in PLA). T degradation after 50 hours of exposure to ultraviolet radiation is reduced by 15–20°C for all blends.

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

УДК 57.023

ПРОДУКЦИЯ РАСИТЕЛЬНЫХ ПЕРОКСИДАЗ III КЛАССА В ТРАНСГЕННЫХ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУРАХ RUBIA CORDIFOLIA, ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ ГЕНОМ *rolB* ИЗ AGROBACTERIUM RHIZOGENES

Авраменко Т.В., Веремейчик Г.Н., Шкрыль Ю.Н., Булгаков В.П.
Биолого-почвенный институт ДВО РАН, Владивосток, Россия
690022, Владивосток, ул. пр-кт 100-летия Владивостоку, 159
e-mail: avrtanya@yandex.ru

Производство растительных пероксидаз III класса культурами клеток растений представляет большой интерес в связи с их потенциалом для использования в промышленных целях. Трансгенные культуры растительных клеток марены сердцелистной (*Rubia cordifolia*), экспрессирующих ген *rolB* из *Agrobacterium rhizogenes*, характеризуются увеличенным содержанием пероксидаз. Ген *rolB* обеспечивает стабильную и постоянную активацию ферментативной активности пероксидаз.

Ключевые слова: пероксидазы; *rolB*; клеточная культура; *Agrobacterium rhizogenes*.

Материалы и методы.

Контрольная (R) и трансгенные клеточные культуры *Rubia cordifolia* L. (*Rubiaceae*) были получены в результате трансформации *Agrobacterium tumefaciens* штамм GV3101, несущий pPCV002–35S-*rolB* конструкцию (Bulgakov et al., 2002). Селекцию трансгенных каллусов с низким, средним и высоким уровнем экспрессии гена *rolB* (RBL, RBM и RBH, соответственно) проводили по описанной ранее методике (Shkryl et al., 2008). Выделение тотальной РНК и синтез кДНК проводили по описанной ранее методике (Shkryl et al., 2008, 2010). Гены растительных пероксидаз III класса *R. cordifolia RcPrx01–RcPrx07* были выделены и описаны ранее (Veremeichik et al., 2012). В качестве референсного использовали ген актина *R. cordifolia*. Экстракция белка, определение пероксидазной активности и анализ изоферментов проводили по методике описанной ранее (Veremeichik et al., 2012). Активность фермента выражали в нкат, коэффициент экстинкции $\varepsilon_{593} = 2.1 \times 10^4$ нкат M^{-1} cm^{-1}.

Результаты.

Экспрессия семи генов пероксидаз *R. cordifolia* (*RcPrx01–RcPrx07*) была получена в результате ПЦР в реальном времени с использованием кДНК не трансформированного (R) и *rolB*-трансгенных каллусов с низким, средним и высоким уровнем экспрессии трансгена (RBL, RBM и RBH, соответственно) (Рис. 1).

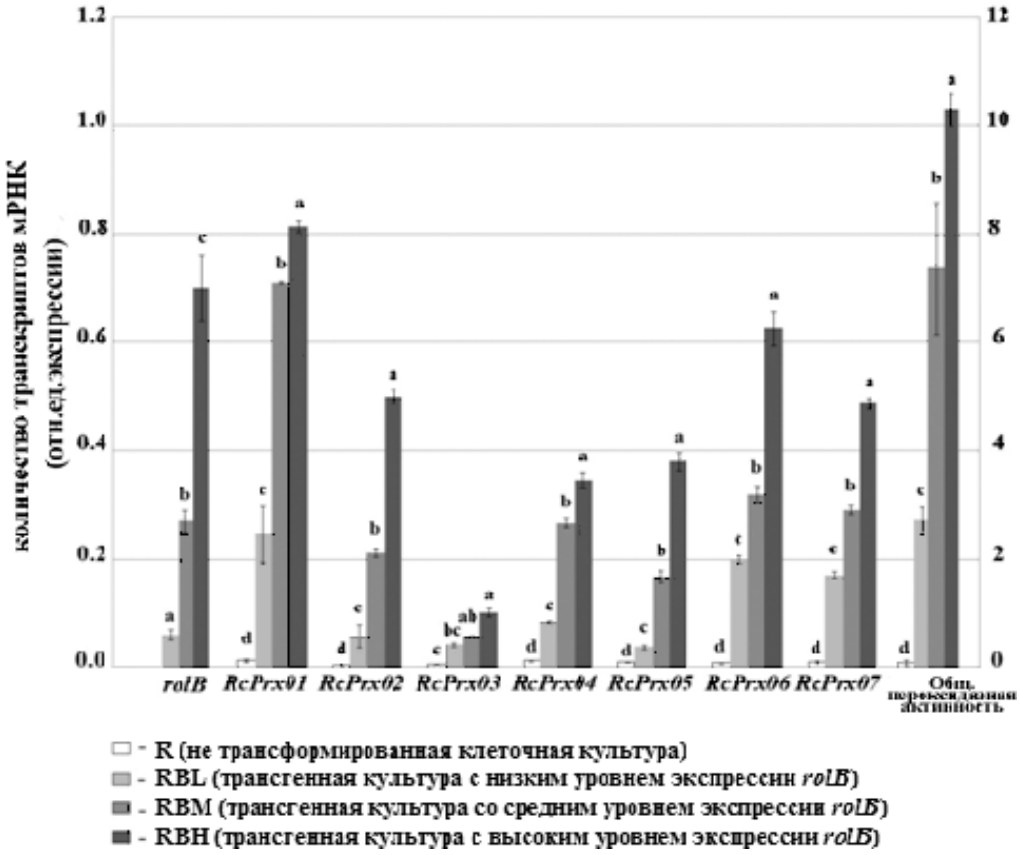


Рис. 1. Экспрессия генов *rolB* и *RcPrx* и общая активность пероксидаз в контрольной и *rolB*-трансгенной культурах *R. cordifolia*. Буквами обозначены достоверно различные значения ($p < 0.05$) для каждого гена *RcPrx*.

Экспрессия семи генов пероксидаз в контрольной культуре *R. cordifolia* была низкой, тогда как в RBL, RBM и RBH культурах количество транскриптов *RcPrx* было больше в 3–31, 10–59, и 17–125 раз, соотв. Анализ Пирсона показал положительную корреляцию между уровнем экспрессии *rolB* и генов пероксидаз ($r = 0.961$, $p = 0.039$). Аналогично, общая активность пероксидаз была в 23, 61 и 86 раз выше в трансгенных каллусах RBL, RBM и RBH, соответственно, чем в контроле (R).

Общая продукция пероксидаз была рассчитана на основе ростовых характеристик и уровня активности пероксизаз в клеточных культурах. Общая продукция пероксидаз в *rolB*-трансгенных культурах была выше, чем в контроле (880–2020 нкат/л vs. 62 нкат/л). Каллусы со средним уровнем экспрессии продемонстрировали самый высокий уровень продукции пероксидаз (Таб.1).

Таблица 1 – Аккумуляция биомассы и продукция пероксидаз в контрольной и *rolB*-трансгенных каллусных культурах *R. cordifolia*

	Свежая биомасса, г/л	Общая активность пероксидаз, нкат/г СБ	Общая продукция пероксидаз, нкат/л среды
R	297±12	0.21±0.03	62±5
RBL	246±17	3.5±0.60	880±83
RBM	171±16	11.8±0.70	2020±75
RBH	103±13	15.1±0.60	1560±105

Изоферментный анализ пероксидаз был осуществлен с помощью изоэлектрического фокусирования в градиенте pH 3–10 pH gradients (Рис. 2). Одна основная изоформа пероксидазы была обнаружена в контрольной культуре, тогда как в RBL линии были идентифицированы 3 основных изофермента. В культурах с высоким уровнем экспрессии *rolB* (RBM и RBH) наблюдалось значительная активация обнаруженных изоформ и появление новых. Эти данные коррелируют с результатами, полученными в ходе измерения экспрессии *RcPrx* генов и общей пероксидазной активности.

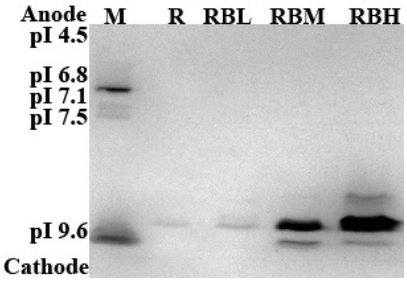


Рис. 2. Изоферментный паттерн пероксидаз контрольной (R) и *rolB*-трансгенных культур *R. cordifolia*. RBL, RBM и RBH – *rolB*-трансгенные культуры с низким, средним и высоким уровнем экспрессии трансгена, соответственно.

THE PRODUCTION OF CLASS III PLANT PEROXIDASES IN TRANSGENIC RUBIA CORDIFOLIA CALLUS CULTURES TRANSFORMED WITH THE *ROLB* GENE OF AGROBACTERIUM RHIZOGENES

Avramenko T.V., Veremeichik G.N., Shkryl Yu.N., Bulgakov V.P.
Institute of Biology and Soil Science of the Far East Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia
690022, Vladivostok, Pr-kt 100-letiya Vladivostoku st, 159
e-mail: avrtanya@yandex.ru

The production of plant peroxidases by plant cell cultures is of great interest because of the potential for industrial applications. We used plant cell cultures overexpressing the *rolB* gene to produce increased amounts of plant class III peroxidases. The *rolB* gene ensured the stable and permanent activation of peroxidase activity in the transformed callus cultures of *Rubia cordifolia*.

Keywords: peroxidase; *rolB*; callus culture; *Agrobacterium rhizogenes*.

Materials and methods.

The untransformed control callus culture (R) and the transgenic callus cultures of *Rubia cordifolia* L. (*Rubiaceae*) used in this study were obtained by transformation with the *Agrobacterium tumefaciens* strain GV3101 harboring the pPCV002–35S-*rolB* construct (Bulgakov et al., 2002). Transgenic calli with low, moderate and highlevels of *rolB* gene expression (RBL, RBM and RBH, respectively) were selected as described previously (Shkryl et al., 2008).

The isolation of total RNA and first-strand cDNA synthesis were carried out as described previously (Shkryl et al., 2008, 2010). *R. cordifolia* class III peroxidase genes *RcPrx01–RcPrx07* were isolated and described by Veremeichik et al. (2012). The actin gene of *R. cordifolia* was used for normalization of the qPCR data.

Protein extraction, analysis of the peroxidase isoenzymes by isoelectric focusing (IEF) and determination of peroxidase-specific activities were performed as described previously (Veremeichik et al., 2012). For equal protein loading in all IEF experimental series, the protein concentration was determined using an RC DC Protein Assay Kit (Bio-Rad Laboratories), and the most concentrated samples were diluted. The enzyme activity was expressed in nkat using an $\varepsilon_{593} = 2.1 \times 10^4$ nkat M^{-1} cm^{-1} for the dye product.

Results.

The expression of seven *R. cordifolia* peroxidase genes (*RcPrx01–RcPrx07*) was analyzed by qPCR using cDNA samples isolated from an untransformed callus line (R) and transgenic calli with low, moderate and high levels of *rolB* gene expression (denoted as RBL, RBM and RBH, respectively) (Fig. 1).

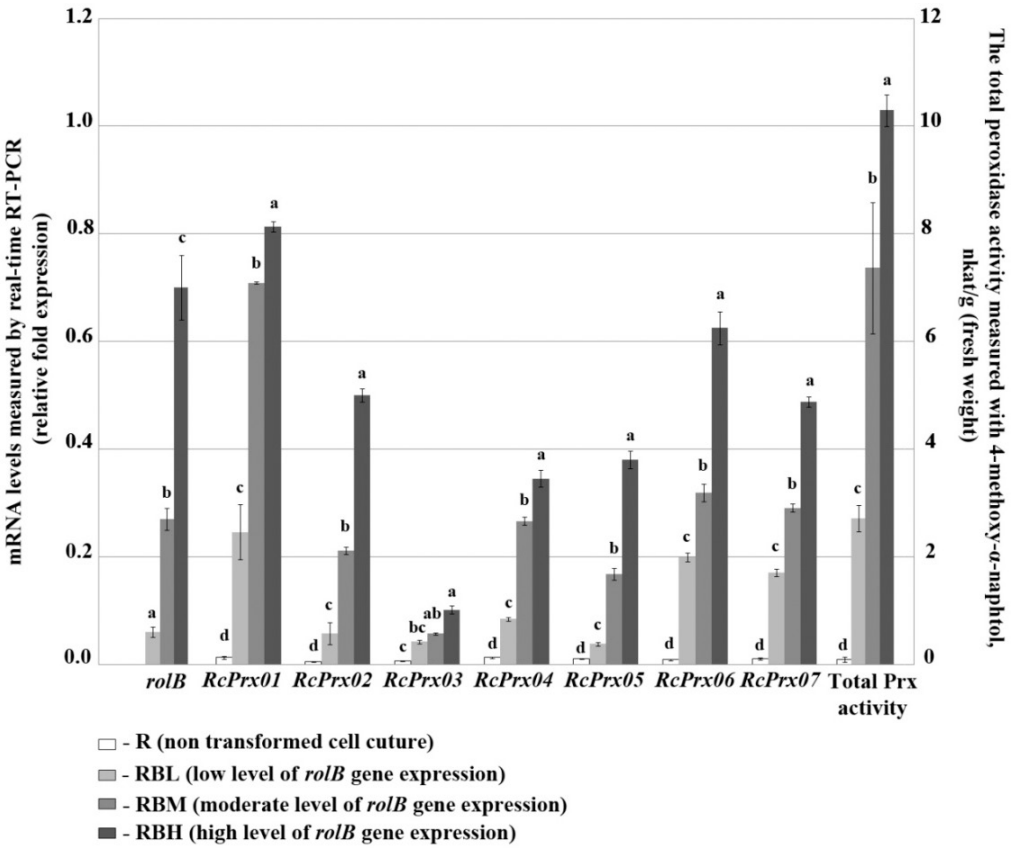


Fig. 1. The expression of the *rolB* and *RcPrx* genes and total peroxidase activity in control and *rolB*-transformed callus cultures of *R. cordifolia*. Different letters above the bars indicate significantly different means ($p < 0.05$) for each of the *RcPrx* genes (Fisher's LSD).

It was found that *RcPrx* expression was weak in untransformed *R. cordifolia* callus cultures. The abundance of the *RcPrx* transcripts in the RBL, RBM and RBH cultures was 3–31-, 10–59-, and 17–125-fold higher, respectively, than that in the R culture. Pearson correlation analysis revealed a significant positive correlation dependence between the level of *rolB* expression and expression of the peroxidase genes ($r = 0.961$, $p = 0.039$).

The total peroxidase activity in untransformed and transgenic calli of *R. cordifolia* is presented in Fig. 1. Consistent with the expression levels of the *RcPrx* genes, the peroxidase activities in RBL, RBM and RBH calli were 23-, 61- and 86-fold higher, respectively, compared with the activities observed in the control R cells.

The total peroxidase production was calculated using the growth characteristics and the peroxidase activity levels of the culture. As shown in Table 1, the total peroxidase production in *rolB*-transformed calli was higher than that in R calli (880–2020 nkat/l vs. 62 nkat/l). Calli with moderate expression levels of *rolB* demonstrated the highest production characteristics.

Table 1 – Dynamics of biomass accumulation and peroxidase production in control and *rolB*-transformed callus cultures of *R. cordifolia*

	Fresh biomass, g/l	Total peroxidase activity, nkat/g FW	Total peroxidase production, nkat/l of medium
R	297±12	0.21±0.03	62±5
RBL	246±17	3.5±0.60	880±83
RBM	171±16	11.8±0.70	2020±75
RBH	103±13	15.1±0.60	1560±105

Isoenzyme analysis of peroxidase activity was performed by protein isoelectric focusing in 3–10 pH gradients (Fig. 2). Only one basic peroxidase isoenzyme was observed in the R callus line. In the RBL callus line, up to three peroxidase isoenzymes were identified. The higher levels of *rolB* gene expression (in the RBM and RBH callus lines) caused strong activation of existing peroxidase isoenzymes and the appearance of other isoperoxidase bands. These results were well correlated with the data on the expression of *RcPrx* genes and the measurements of total peroxidase activity.

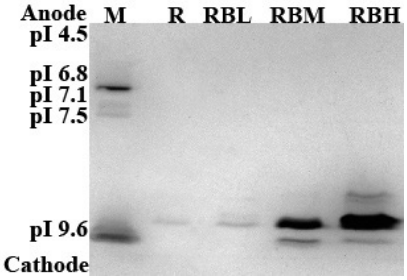


Fig. 2 Peroxidase isoenzyme patterns in the callus cultures of *R. cordifolia*. The peroxidases were extracted from a 30-day-old untransformed callus line (R) and transgenic callus lines with low, medium and high levels of *rolB* expression (RBL, RBM and RBH, respectively), separated by IEF and stained with 4-methoxy-α-naphthol in the presence of H_2O_2. M, IEF standard.

References:

Bulgakov, V.P., Tchernoded, G.K., Mischenko, N.P., Khodakovskaya, M.V., Glazunov, V.P., Radchenko, S.V., Zvereva, E.V., Fedoreyev, S.A., Zhuravlev, Y.N., 2002. Effect of salicylic acid, methyl jasmonate, ethephon and cantharidin on anthraquinone production by *Rubia cordifolia* callus cultures transformed with the *rolB* and rolC genes. J. Biotechnol. 97, 213–221.

Bulgakov, V.P., Shkryl, Y.N., Veremeichik, G.N., 2010. Engineering high yields of secondary metabolites in *Rubia* cell cultures through transformation with rol genes. Methods Mol. Biol. 643, 229–242.

Bulgakov, V.P., Gorpenchenko, T.Y., Veremeichik, G.N., Shkryl, Y.N., Tchernoded, G.K., Bulgakov, D.V., Aminin, D.L., Zhuravlev, Y.N., 2012. The *rolB* gene suppresses reactive oxygen species in transformed plant cells through the sustained activation of antioxidant defense. Plant Physiol. 158, 1371–1381.

Shkryl, Y.N., Veremeichik, G.N., Bulgakov, V.P., Tchernoded, G.K., Mischenko, N.P., Fedoreyev, S.A., Zhuravlev, Y.N., 2008. Individual and combined effects of the rolA, B, and C genes on anthraquinone production in Rubia cordifolia transformed calli. Biotechnol. Bioeng. 100, 118–125.

Shkryl, Y.N., Veremeichik, G.N., Bulgakov, V.P., Gorpenchenko, T.Y., Aminin, D.L., Zhuravlev, Y.N., 2010. Decreased ROS level and activation of antioxidant gene expression in *Agrobacterium rhizogenes* pRiA4-transformed calli of *Rubia cordifolia*. Planta 232, 1023–1032.

Veremeichik, G.N., Shkryl, Y.N., Bulgakov, V.P., Avramenko, T.V., Zhuravlev, Y.N., 2012. Molecular cloning and characterization of seven class III peroxidases induced by overexpression of the agrobacterial *rolB* gene in *Rubia cordifolia* transgenic callus cultures. Plant Cell Rep. 31, 1009-1119.

УДК579.66

СТИМУЛИРОВАНИЕ БИОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ КАРОТИН СИНТЕЗИРУЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ В УСЛОВИЯХ КОНТРОЛИРУЕМОГО СТРЕССА

Червякова О.П., Шакир И.В., Суясов Н.А., Панфилов В.И.

Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия
125047, Москва, Миусская площадь, д. 9
e-mail: chervyakova85@mail.ru

Для совершенствования ферментационных процессов применяют подходы управляемого культивирования микроорганизмов, среди которых выделяют «контролируемый стресс». Показано, что адаптация дрожжей рода Rhodotorula к действию пероксида водорода позволяет в значительной степени увеличить количество синтезируемых каротиноидов.

Ключевые слова: каротиноиды, стресс, культивирование, пероксид водорода.

В основе явления «контролируемого стресса» лежит комбинированное воздействие на биологический объект стрессорных и антистрессовых факторов, которое вызывает мобилизацию адаптивных ресурсов микроорганизмов в диапазоне стимуляции их метаболизма. Данный подход может быть применен для интенсификации синтеза каротиноидных пигментов каротин синтезирующими микроорганизмами пероксидом водорода, биосинтетическая активность которых резко снижается при культивировании их на комплексных растительных субстратах. В результате адаптации микроорганизмы приобретают более мощную окислительную систему, которая позволяет им потреблять тяжело усваиваемые комплексные субстраты. При этом увеличивается количество синтезируемых каротиноидов.

Подобное направление исследований актуально в связи с интенсивными методами хозяйствования, получением препаратов длительного хранения путем их глубокой переработки, все это приводит к истощению содержания в них биологически активных веществ, в частности, каротиноидов. Учитывая неоцененную роль каротиноидов для протекания нормальных физиологических процессов, актуальной задачей современной биотехнологии является создание новых форм каротиноидных препаратов и их применение в качестве биологически активных веществ.

UDC 579.66

PROMOTING BIOSYNTHETIC PROCESSES ARE CAROTENE SYNTHESIZED MICROORGANISMS UNDER CONTROLLED STRESS

Chervyakova O.P., Shakir I.V., Suyasov N.A., Panfilov V.I.
D. Mendeleev University of Chemical Technology of Russia, Moscow, Russia
Miusskaya sq. 9, Russia, 125047
e-mail: chervyakova85@mail.ru

To improve fermentation processes is used approaches operated cultivation of microorganisms, among which are "controlled stress". The adaptation of the yeast of genus Rhodotorula to the action of hydrogen peroxide would greatly increase the number of carotenoids synthesized is shown.

Keywords: carotenoids, stress, cultivation, hydrogen peroxide.

At the heart of the phenomenon of "controlled stress" is the combined effect of stress and anti-stress factors on biological object, which causes the mobilization of adaptive resources of microorganisms in the range of stimulating their metabolism. This approach can be used to intensify the synthesis of carotenoid pigments of carotene synthesizing microorganisms by hydrogen peroxide, biosynthetic the activity of which sharply reduced when they are cultured on substrates of complex plant substrates. As a result of adaptation of microorganisms acquire the more powerful oxidant system that allows them to consume hard assimilable complex substrates is increased. Thus, the amount of carotenoids synthesized is increased.

A similar line of research is relevant in connection with intensive farming methods, obtaining drugs long-term storage by their deep processing, all this leads to the depletion of their content of biologically active substances, such as carotenoids. Considering the invaluable role of carotenoids for the occurrence of normal physiological processes, creation of new forms of carotenoid preparations and their use as physiologically active substances is the actual task of modern biotechnology.

УДК 663.12

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ КОНВЕРСИИ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ С ПОЛУЧЕНИЕМ БИОПРОДУКТОВ

Гаврилов С.В., Хусаинов И.А., Ле Ань Туан, Банницына Т.Е., Буркова Е.А., Канарская З.А., Канарский А.В.
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Казанский национальный исследовательский технологический университет» (ФГБОУ ВПО «КНИТУ»)
Казань, Россия, 420015, ул. Л. Толстого, д.8/31, e-mail: ser-gavr@mail.ru

Показана целесообразность применения биотехнологических методов для конверсии растительного сырья с получением пищевого и кормового белка, ветеринарных препаратов, адсорбентов микотоксинов, аминокислот.

Ключевые слова: растительное сырье, биоконверсия, кормовые, ветеринарные препараты, адсорбенты.

Показана целесообразность микробиологического синтеза декстрана на питательной среде из сорго, кукурузы, с последующей утилизацией оставшихся моносахаров дрожжами. Исследована возможность получения декстрана ферментативным способом.

Разработаны биотехнологические способы получения питательной среды из торфа для культивирования мицелиальных грибов и получение на их основе адсорбентов микотоксинов. Показана целесообразность предварительного получения из торфа электрохимическим методом гумата железа для ветеринарных целей.

Показана возможность использования базидиомицетных и аскомицетных дрожжей для утилизации остаточных редуцирующих веществ в микробиотехнологических производствах. Установлена возможность биоконверсии дрожжами углеводов вторичных ресурсов переработки древесины и однолетних растений (сульфатных щелоков, предгидролизатов).

Показано что для получения биологически активных веществ целесообразно культивировать ряску в искусственных условиях, с последующим ферментативным выделением белков с высоким содержанием незаменимых аминокислот.

УДК 663.12

BIOTECHNOLOGICAL ASPECTS CONVERSION PLANT RAW MATERIAL INTO BIOPRODUCTS

Gavrilov S.V., Husainov I.A., Le Anh Tuan, Bannitsyna T.E., Burkova E.A., Kanarskaya Z.A., Kanarsky A.V.

Federal State Educational Institution of Higher Professional Education "Kazan State Technological University" (VPO "KNRTU")

Kazan, Russia, 420015, st. Tolstoy, 8/31, e-mail: ser-gavr@mail.ru

The expediency of using biotechnological methods for the conversion of vegetable raw materials to obtain food and feed protein, veterinary drugs, adsorbents mycotoxins amino acids.

Keywords: plant material, bioconversion, feed, veterinary drugs, adsorbents.

Shows the expediency of microbiological synthesis of dextran in the culture medium of sorghum, maize, and subsequent disposal of the remaining monosaccharides yeast. The possibility of obtaining dextran enzymatic method.

Developed biotechnological methods for preparing a nutrient medium for the cultivation of peat filamentous fungi and their conversion mycotoxin adsorbents. The expediency prior peat humate iron electrochemical method for veterinary purposes.

Shows the possibility of using bazidiomitsetnyh and askomitsetnyh yeast for disposal of residual reducing substances in mikrobiotehnologicheskih industries. The possibility of yeast bioconversion of carbohydrates secondary resources processing of wood and annual plants (sulfate liquors prehydrolysate).

It is shown that the production of biologically active substances expedient duckweed cultured *in vitro*, followed by enzymatic release proteins high in essential amino acids.

УДК 577.122

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ КЕРАТИНАЗЫ CLADOSPORIUM SPHAEROSPERMUM – ПЕРСПЕКТИВНОЙ СУБСТАНЦИИ ДЛЯ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ И КОСМЕТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ

Гордонова И.К., Никитина З.К., Быков В.А.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений, Москва, Россия

117216, Москва, ул. Грина, 7

nikitinaz@yandex.ru

Полученные результаты позволяют сократить время культивирования Cladosporium sphaerospermum с 14 до 7 суток, увеличить выход кератиназы в 43,7 раза и таким образом усовершенствовать технологию получения фермента для создания новых лекарственных средств.

Ключевые слова: дейтеромицеты, кератиназа, кератинолитическая активность

Целью работы являлась оптимизация способа получения кератиназы Cl. sphaerospermum путем направленной адаптации культуры и экзогенной регуляции биосинтеза фермента. Для увеличения биосинтетической активности штамма Cl. sphaerospermum была проведена его направленная адаптация путем трехкратного пересева на агаризованной среде Чапека с заменой сахарозы на кератин волос (2%). В результате удалось сократить время культивирования микромицета с 14 до 7 суток и увеличить суммарную кератинолитическую активность в культуральной жидкости в 1,9 раза. Проведенные исследования показали, что важным фактором экзогенной регуляции является концентрация кератина волос в питательной среде. Повышение концентрации белка с 1,5 до 10% позволило увеличить ферментативную активность культуральной жидкости адаптированной культуры на 130%. Время, необходимое для культивирования, при этом не менялось. Разработанный метод дает возможность получать препарат кератиназы, с продуктивностью 20 мг/л культуральной жидкости, активностью 750 мкМ/мгхч, выходом 70% и степенью очистки 65,8 раза.

CLADOSPORIUM SPHAEROSPERMUM KERATINASE, A PERSPECTIVE SUBSTANCE FOR NEW DRUGS AND COSMETICS, OBTAINING TECHNOLOGY IMPROVEMENT

Gordonova I.K., Nikitina Z.K., Bykov V.A.

Federal state scientific institution all-Russian research Institute of medicinal and aromatic plants, Moscow, Russia

117216, Moscow, Green, 7 street

nikitinaz@yandex.ru

Obtained results allow decrease the cultivation time of Cladosporium sphaerospermum from 14 to 7 days, increase ferment yield in 43,7 times and thus improve ferment obtaining technology for creation new drugs.

Keywords: deuteromyces, keratinase, keratinolytic activity

The aim of this investigation was the keratinase of Cl. sphaerospermum obtaining method improvement. Cl. sphaerospermum strain directional adaptation by 3 times cultivation in Czapek-agar media, containing hair keratin (2%) instead of saccharose, for its biosynthetic activity increase was conducted. In result, micromycet cultivation time was reduced from 14 to 7 days and its total kerati-

nilytic activity was increased in 1,9 times. Later investigations showed that hair keratin concentration in culture medium was the important factor of exogenic regulation. Increase of protein concentration from1,5 to 10% allowed increase adapted culture broth filtrate enzyme activity on 130%. Cultivation time didn't change in this case. The developed method permits to get pure keratinase with 20 mg/l culture liquid productivity, 750 μM/mgxh enzyme activity, 70% yield and 65,8 times degree of purification.

УДК 579.66

АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ ПЕПТИДЫ – НОВЫЙ МЕТОД БОРЬБЫ С БАКТЕРИАЛЬНЫМ ЗАРАЖЕНИЕМ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ ЭТАНОЛА

Клячко Е.В., Морозкина Е.В., Беневоленский С.В.
Институт биохимии им. А.Н.Баха Российской Академии Наук, Москва, Россия
119071 Москва, Ленинский проспект д. 33. Стр. 2
e-mail: eklyachko@yandex.ru

Сконструированы штаммы спиртовых дрожжей, секретирующие антибактериальные пептиды педиоцин и плантарицин. Показано, что такие дрожжи подавляют рост молочнокислых бактерий и обеспечивают повышенный выход этанола.

Ключевые слова: антибактериальные пептиды, спиртовые дрожжи, производство этанола

Общепринятым способом борьбы с бактериальным заражением при производстве этанола является использование антибиотиков, что сопровождается появлением антибиотико-резистентных форм. Мы предлагаем новый способ борьбы с заражением молочнокислыми бактериями – использование штаммов спиртовых дрожжей, продуцирующих антибактериальные пептиды. Для работы выбраны педиоцин и плантарицин, относящиеся к классу IIa антибактериальных пептидов и характеризующиеся высокой удельной активностью. Синтезированы гены этих пептидов с предпочтительными для *S. cerevisiae* кодонами и создана система их секреторной экспрессии. Показано, что штаммы *S. cerevisiae*, синтезирующие и секретирующие в среду эти пептиды подавляют рост *Lactobacillus sakei*, *Pediacoccus pentasaceus*, *Pediacoccus acidilactici* и др.

Для проверки влияния антибактериальных пептидов на выход спирта процесс брожения проводили в присутствии *Pediacoccus pentasaceus*. В лабораторных условиях использование новых штаммов спиртовых дрожжей приводило к увеличению выхода этанола на 5-7% по сравнению с контрольными штаммами . Таким образом, использование штаммов спиртовых дрожжей, синтезирующих антибактериальные пептиды, является перспективным методом борьбы с заражением молочнокислыми бактериями при производстве этанола..

ANTIBACTERIAL PEPTIDES – THE NEW METHOD TO PREVENT BACTERIAL CONTAMINATION DURING ETHANOL PRODUCTION

Klyachko E.V., Morozkina E.V., Benevolensky S.V.
A.N.Bach Institute of Biochemistry Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia
119071 Moscow, Leninsky prospect 33, building 2
e-mail: eklyachko@yandex.ru

The ethanol producing strains of yeast secreting antibacterial peptides pediocin and plantaricin were constructed. These strains inhibit growth of lactic acid bacteria and ensure the enhanced ethanol yield.

Keywords: antibacterial peptides, ethanol producing yeast, ethanol production

While the most common available products used to control bacterial contamination in ethanol facilities are based on the antibiotics, the emergency of drug-resistant strains may limit the effectiveness of these agents. We have developed the new method to treat lactic acid bacteria contamination by using the recombinant *S. cerevisiae* strains producing antibacterial peptides. Two peptides pediocine and plantaricin were chosen to design recombinant yeast strains. These peptides belong to class IIa of antibacterial peptides and are characterized by high specific activity. Genes coding these peptides with preferable S. cerevisiae codons were synthesized and the secretory system for their expression was constructed. The recombinant *S. cerevisiae* strains producing antibacterial peptides effectively inhibit growth of *Lactobacillus sakei*, *Pediacoccus pentasaceus*, *Pediacoccus acidilactici* etc.

The influence of antibacterial peptides on ethanol production was studied in the presence of *Pediacoccus pentasaceus*. Ethanol yields were 5-7% enhanced in the case of yeast strains synthesizing antibacterial peptides. Thus the recombinant yeast strains synthesizing antibacterial peptides are effective in preventing lactic acid bacteria contamination during ethanol production.

УДК 576.35/.36:575.117.2:616.153.96:579.842.11:663.12

КЛОНИРОВАНИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ ГЕНОВ АПОЛИПОПРОТЕИНА А-I ЧЕЛОВЕКА В КЛЕТКАХ *ESCHERICHIA COLI* И *PICHIA PASTORIS* И АНАЛИЗ ПРОДУКТОВ ИХ ЭКСПРЕССИИ

Мамаев А.Л., Пыхтина М.Б., Беклемишев А.Б.
ФГБУ «НИИ биохимии» СО РАМН
630117, г. Новосибирск, ул. Академика Тимакова, 2
e-mail: alexeymamaev@inbox.ru

Синтетические гены аполипопротеина А-I (апоА-I) человека клонированы в клетках *E. coli* и Pichiapastoris. Изучена экспрессия клонированных генов в этих микроорганизмах. Получены различные формы рекомбинантного апоА-I, включая химерный белок SUMO:апоА-I, определена их локализация, количественный выход и исследованы физико-химические и антигенные свойства этих белков.

Ключевые слова: Клонирование, экспрессия генов, Pichiapastoris, *E. coli*, рекомбинантный аполипопротеин А-I, аффинная очистка, иммуноблотинг.

Получен клон *P. pastoris*, обеспечивающий индуцируемую метанолом экспрессию синтетического гена зрелого апоА-I человека, клонированного в составе вектора pPICZ-alpha. После индукции наблюдается лизис клеток и в культуральной среде наряду с белками дрожжей обнаруживаются зрелая (~28кДа) и непроцессированная (~40 кДа) формы рекомбинантного апоА-I.

Обе формы апоА-I реагируют с антителами к нативному апоА-I человека. Чтобы получить стабильную секрецию клетками Pichiapastorisзрелого апоА-I, был получен штамм, эффективно продуцирующий зрелый апоА-I в виде химера с N-концевым сигнальным белком SUMO. Химер ожидаемого размера секретировался в культуральную среду. Обработка химера протеазой SENP2 позволит получить правильно процессированный рекомбинантный зрелый апоА-I человека.

Сконструированы также два штамма *E. coli*, экспрессирующие два варианта синтетических генов зрелого апоА-I человека. Продукты экспрессии как по антигенным свойствам, так и по молекулярной массе, соответствовали зрелой форме апоА-I.

Рекомбинантные штаммы *E. coli*и *P. pastoris* могут быть использованы для производства зрелого апоА-I человека, который может найти применение для лечения атеросклероза и в качестве транспортёра лекарств.

CLONING OF HUMAN APOLIPOPROTEIN A-I SYNTHETIC GENES IN *ESCHERICHIA COLI* AND *PICHIA PASTORIS* CELLS AND ANALYSIS OF EXPRESSION PRODUCTS

Mamaev A.L., Pykhtina M.B., Beklemishev A.B.
Institute of Biochemistry of SB RAMS
630117, Novosibirsk, Timakov str., 2
e-mail: alexeymamaev@inbox.ru

Synthetic genes of human apolipoprotein A-I (apoA-I) cloned in *E. coli* and *Pichia pastoris* cells. Expression of the cloned genes in these microorganisms studied. Various forms of recombinant apoA-I obtained, including chimeric protein SUMO: apoA-I, their location and yield determined. Physicochemical and antigenic properties of these proteins studied.

Keywords: Cloning, gene expression, *Pichia pastoris*, *E. coli*, recombinant apolipoprotein A-I, affinity purification, immunoblotting.

P. pastoris clone, inducible with methanol and providing expression of synthetic geneof human mature apoA-I cloned into pPICZ-alphavector obtained. Cell lysis is observedafter induction, mature (~ 28kDa) and unprocessed (~ 40 kDa), recombinant forms of apoA-I, together with the native yeast proteins, are detectedin the culture medium. Both forms of apoA-I react with antibodies to the native human apoA-I. To provide stable secretion of a mature form of apoA-I by *Pichia pastoris* cells, strain, efficiently producing a mature apoA-I as a fusion protein with the N-terminal SUMO signal protein, was obtained. Treatment of the fusion protein with SENP2protease will provide the correctly processed mature recombinant human apoA-I.

Two *E. coli* strains expressing two variants of the synthetic gene of mature human apoA-Ialso constructed. Expression products are consistent with the mature form of apoA-I by their antigenic properties and molecular weight.

The recombinant strains of *E. coli* and *P. pastoris* could be used for the production of a mature human apoA-I, which can be used for treating atherosclerosis and as a drugs transporter.

УДК 62.99.33

ОЦЕНКА ПРИГОДНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РАЗЛИЧНЫХ АФФИННЫХ СМОЛ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ВЫСОКОСПЕЦИФИЧНЫХ ПОЛИКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ

Моногаров Г.В., Греченко В.В., Борщева А.А., Дон Е.С., Тарасов А.В., Барыкина Д.В., Никифорова М.В., Тарасов С.А.

ООО «НПФ «Материя Медика Холдинг»

29272, Москва, ул. Трифоновская, д. 47, стр. 1

e-mail: monogarovgv@materiamedica.ru

Произведено сравнение трёх смол, содержащих различные активные группы, при получении сорбента для аффинной хроматографической очистки высокоспецифичных антител к синтетическому фрагменту каннабиноидного рецептора 1 типа человека. Получен сорбент, позволяющий эффективно выделять высокоспецифичные антитела из сыворотки.

Ключевые слова: антитела; аффинный сорбент; очистка белков; сефароза, каннабиноидный рецептор

Важнейшими качествами поликлональных антител, применяемых в лабораторных исследованиях, а также диагностике и терапии заболеваний, являются их специфичность и чистота. Для получения высокоспецифичных антител (ВСА) применяется хроматографическая очистка сыворотки на аффинном сорбенте с антигеном в качестве лиганда. Критически важным этапом данного процесса является получение сорбента.

Было проведено исследование трёх коммерчески доступных сефарозных смол (NHS-, EAH- и тиопропил-сефарозы 6B) при их использовании в качестве матрицы для посадки синтетического фрагмента каннабиноидного рецептора 1 типа человека (M=5,1кДа) и получения сорбента для очистки соответствующих ВСА. Оценивалась эффективность посадки антигена (ЭПА), ёмкость сорбента и чистота ВСА, получаемых с помощью 1 мл хроматографической колонки с данным сорбентом.

На основании данных ДСН-электрофореза в ПААГ было установлено, что Тиопропил-сефароза 6B имеет низкую ЭПА: ≤50%. Для EAH-сефарозы ЭПА составила >95%, однако, с помощью электрофореза было выявлено присутствие в элюате большого количества посторонних белков, обусловленное неспецифическим связыванием.

Наилучшую ЭПА (более 97%) продемонстрировала NHS-сефароза. Методом вестерн-блот было показано отсутствие ВСА в смыве с колонки до достижения сорбентом насыщения (2,5 $мг_{ВСА}/мл_{сорбента}$). Чистота ВСА оценивалась с помощью электрофореза и эксклюзионной хроматографии и составила >96%.

Результаты исследования позволяют рекомендовать использование NHS-сефарозы при получении сорбента для выделения ВСА к вышеуказанному фрагменту и другим сходным синтетическим пептидам в целях медицинского и лабораторного применения.

UDC 62.99.33

ASSESSMENT OF SUITABILITY OF ACTIVATED RESINS FOR PREPARATION OF SORBENT FOR ISOLATION OF HIGHLY SPECIFIC POLYCLONAL ANTIBODIES

Monogarov G.V., Grechenko V.V., Borscheva A.A., Don E.S., Tarasov A.V., Barykina D.V., Nikiforova M.V., Tarasov S.A.
OOO «NPF «MATERIA MEDICA HOLDING»
129272, Trifonovskaya st., 47, bld. 1, Moscow, Russia
e-mail: monogarovgv@materiamedica.ru

Three resins with different active groups were compared as matrixes for preparation of the sorbent for affinity chromatography purification of highly specific antibodies to the synthetic fragment of Human Cannabinoid Receptor Type 1. The sorbent which enables to isolate highly specific antibodies was obtained.

Keywords: antibodies, affinity sorbent, protein purification, sepharose, cannabinoid receptor

Polyclonal antibodies are widely applied in laboratory assays and therapy of diseases. Purity and antigenic specificity are the main qualities of these antibodies. Chromatography purification of serum on an affinity sorbent with an appropriate antigen as a ligand is the commonly used method for obtaining of highly specific antibodies (HSA). Selection and preparation of the sorbent is the crucial stage of the process.

Investigation of three commercially available activated resins was performed. NHS- and EAH-activated sepharoses and Thiopropyl-sepharose 6B were used as matrix for preparation of affinity sorbent for purification of HSA to the synthetic fragment of Human Cannabinoid Receptor Type 1 (M=5.1kDa). The following parameters were determined for each sorbent in the scope of the experiments: coupling efficiency, sorbent capacity and purity of HSA obtained with 1ml chromatography column.

As demonstrated with SDS-PAGE electrophoresis of supernatant after incubation Thiopropyl-sepharose 6B has a low coupling efficiency (≤50%). Coupling efficiency of EAH-activated sepharose was shown to be >96%, however high content of foreign proteins in eluate was demonstrated by SDS-PAGE.

The highest coupling efficiency (>97%) was shown for NHS-sepharose. Western-blot determined absence of antibodies in the flow-through fraction until the sorbent reaches its saturation point at 2.5 $mg_{(HSA)}/ml_{sorbent}$. Purity of the eluate estimated with SDS-PAGE and size-exclusion HPLC was >96%.

The results make it possible to recommend application of NHS-sepharose in preparation of the sorbents for isolation of highly specific antibodies to the mentioned peptide and other similar ones. The obtained antibodies are highly purified and could be applied for medical and analytical proposes.

УДК 631.815

ЭКОНОМИЧЕСКИЕ РАСЧЕТЫ ПОЛУЧЕНИЯ РУТИНА ИЗ ГРЕЧИХИ

Павловская Н.Е., Гнеушева И.А., Горькова И.В., Зомитева Л.В., Бородин Д.Б.
ФГБОУ ВПО «Орловский государственный аграрный университет», Орел, Россия
302019, Орел, ул. Генерала Родина, д. 69
E-mail: ninel.pavlovsckaya@yandex.ru

Было проведено экономическое обоснование производства рутина в Орловской области.

Ключевые слова: рутин, гречиха, флавоноиды.

Производство лекарственных препаратов развивается вместе с совершенствованием методов и технологий фармацевтической промышленности.

В медицине успешно применяются лекарственные растения, содержащие флавоноиды. Представителем из них является рутин, обладающий полифункциональным действием, но не имеющий промышленного производства в России. Основным источником получения рутина в фармацевтической промышленности являются бутоны софоры японской, однако промышленная сырьевая база указанного растения в РФ отсутствует.

Перспективным отечественным источником рутина и других флавоноидов может являться гречиха, широко культивируемая как пищевая культура в РФ, в том числе и в Орловской области. В цветущих побегах культуры в качестве основного компонента содержится до 3–5% рутина, а также сопутствующих ему другихфлавоноидов, в частности, кверцетина. Однако, гречиха не используется как источник лекарственного сырья.

Создание собственного производства рутина затруднительно в связи с отсутствием масштабирования и переноса лабораторных методик получения в промышленное производство. Поэтому, важным этапом становления отечественного производства субстанции рутина является создание и оптимизирование технологического процесса.

Нашими исследованиями установлено, что из вегетативной массы гречихи посевной оригинальным способом можно получить рутина 22,45 кг/га. Рентабельность производства в пересчете на масштабированное производство составляет 35%.

Отход водно-спиртовой экстракции рутина является ценным лигноцеллюлозным материалом для дальнейшей биотехнологической переработки в кормовые продукты для животноводства.

UDC 631.815

ECONOMIC CALCULATION OBTAIN RUTIN BUCKWHEAT

Pavlovskaya N.E., Gneusheva I.A., Gorkova I.V., Zomiteva L.V., Borodin D.B.
FGBOU VPO "The Orel state agricultural university", Orel, Russia
302019, Orel, st. GeneralaRodina, 69.
E-mail: ninel.pavlovsckaya@yandex.ru

Feasibility study was carried out in the routine production of Orel.

Keywords: rutin, buckwheat, flavonoids.

Production of medicines developed together with the improvement of methods and technologies of the pharmaceutical industry.

In medicine successfully used medicinal plants containing flavonoids. Representative of them is a chore that has multifunctional action, but does not have the industrial production in Russia. The main source of routine in the pharmaceutical industry are the buds of Sophora japonica, but industrial raw material base of said plant in Russia is absent.

Promising domestic source of rutin and other flavonoids may be crap, widely cultivated as a food crop in Russia, including in the Oryol region. In flowering shoots of culture as a main component contains up to 3–5% of the routine, as well as accompanying other flavonoids, particularly quercetin. However, buckwheat is not used as a source of medicinal material.

Creating your own production routine is difficult due to the lack of scaling and transfer laboratory techniques produce in industrial production. Therefore, an important step in the formation of the domestic production of the substance routine is the creation and optimization process.

Our research found that of the vegetative mass buckwheat original way you can get routine 22.45 kg/ha. Profitability of production in terms of scaled production is 35%.

Waste water-alcohol extraction routine is a valuable lignocellulosic material for further processing in biotechnology products for animal feed.

УДК 621.039.75

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ РОСТА СПИРТОВЫХ ДРОЖЖЕЙ НА ГИДРОЛИЗАТАХ СМЕСИ ПШЕНИЧНОЙ СОЛОМЫ И ОТРУБЕЙ

Понкратов А.С., Красильникова О.В., Валеева Р.Т., Емельянов В.М.
Казанский национальный исследовательский технологический университет, Казань, Россия
420015, Казань, ул. К. Маркса, 68
e-mail: Aponkratov24@gmail.com

Проведены экспериментальные исследования по проверке влияния сернокислотных гидролизатов смеси пшеничной соломы и отрубей на прорцессы роста спиртовых дрожжей.

Ключевые слова: культивирование, гидролизаты, пшеничная солома и отруби.

В лаборатории инженерных проблем биотехнологии КНИТУ проведены экспериментальные исследования процессов роста спиртовых дрожжей на гидролизатах. В работе были исследованы спиртовые дрожжи Saccharomyces cerevisiae Y–1334, Saccharomyces cerevisiae Y–1986, Saccharomyces cerevisiae Y-717 и гидролизаты пшеничной соломы и смеси пшеничной соломы и отрубей, полученные высокотемпературным гидролизом измельченного сырья сернистой и серной кислотой. В процессе выращивания спиртовых дрожжей контролировали температуру, кислотность среды, динамику роста и физиологическое состояние дрожжевых клеток, содержание редуцирующих веществ в культуральной жидкости.

Концентрации редуцирующих веществ снижались в процессах при использовании подпиток гидролизатов с сернистой кислотой от 2,6 до 0,3% масс. и на основе серной кислоты от 2,56 до 0,4% масс. В процессах, при использовании гидролизатов вместо глюкозы и в качестве подпитки с начальной концентрацией РВ 1,9% масс., минимальная концентрация составила 1,3% масс.; с начальной концентрацией РВ 1,7% масс., минимальная концентрация составила 0,67% масс.

Таким образом, сернокислотный и сернистокислотный гидролизаты смеси соломы и отрубей могут быть использованы в процессах наработки посевных культур спиртовых дрожжей Saccharomyces cerevisiae Y–1986 и Saccharomyces cerevisiae Y–1334.

УДК 621.039.75

INVESTIGATION OF THE DISTILLERS' YEAST GROWTH ON THE HYDROLYZATES OF THE MIX OF WHEAT STRAW AND BRAN

Ponkratov A.C.
Kazan National Research Technological University, Department of Chemical Cybernetics
Karl-Marx-Str. 68, 420015 Kazan
e-mail: Aponkratov24@gmail.com

Experimental studies to test the effect of sulfuric acid hydrolysates mixture of wheat straw and bran on the growth of fodder yeast.

Keywords: cultivation, hydrolysates, wheat straw and bran.

Experimental investigation of the distillers' yeast growth on the hydrolysate was undertaken in the laboratory biotechnology engineering problems KNRTU. In this work we analyzed the following issues: Distillers' yeast Saccharomyces cerevisiae Y–1334, Saccharomyces cerevisiae Y–1986, Saccharomyces cerevisiae Y-717 which were growing on the hydrolysate of the mix of wheat straw and bran which was obtained by hight-temperature hydrolysis being carried with pulps of sulphurous and dipping acid. Temperature, medium acidity, growth dynamics, physiological state of the yeast cells, reducing agent content in the culture liquid were under control during the whole period of the distillers' yeast growth process.

Impoverishment of the reducing agents in the processes where we used refeeding of 2,6–0,3% mass sulphurous acid hydrolyzates and refeeding based on 2,56–0,4% mass dipping acid. In the processes where instead of glucose we used hydrolyzates as refeeding with initial concentration PB 1,9% mass, lowest concentration was 1,3% mass; with initial concentration PB 1,7% mass, lowest concentration was 0,67% mass.

Therefore sulphurous and dipping acid hydrolyzates can be used in the growth process of distillers' yeast inoculum Saccharomyces cerevisiae Y–1986 and Saccharomyces cerevisiae Y–1334.

УДК 577.151

ИССЛЕДОВАНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ ГРИБНОЙ АМИЛАЗЫ, ИММОБИЛИЗОВАННОЙ НА ХИТОЗАНСОДЕРЖАЩЕЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЕ

Распопова Е.А., Красноштанова А.А.
Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия
125480, Москва, ул. Героев Панфиловцев, д. 20, корп. 1
e-mail: raspopova_liza@mail.ru

С целью стабилизации грибной амилазы (КФ 3.2.1.1.) применена ковалентная иммобилизация на хитозансодержащую целлюлозу. Было показано, что иммобилизация позволяет более эффективно сохранять активность при тепловой и pH инактивациях фермента.

Ключевые слова: иммобилизация, стабилизация, хитозан, амилаза.

Иммобилизованные амилазы находят применение в различных областях, например, в медицине, в пищевой промышленности. Эффективным методом повышения стабильности фермента является ковалентная иммобилизация, которая характеризуется образованием прочных ковалентных связей между функциональными группами молекулы белка и матрицей [1]. При этом в качестве композиционных материалов, как правило, используются природные полимеры, та-

кие как хитозан. Активность нативной и иммобилизованной амилазы определяли с помощью фотоколориметрического метода с применением 3,5-динитросалициловой кислоты.

Было установлено, что иммобилизация грибной амилазы на хитозансодержащую целлюлозу значительно повлияла на сохранение активности фермента в различных условиях. Оптимальная температура иммобилизованной амилазы смещается в более высокую сторону от 45°C до 55°C в сравнении с нативной. Термическая стабильность при инкубации 60 минут при 45°C иммобилизованного фермента возрастает в 4 раза по сравнению с нативным.

Список литературы:

1. Yandri, Devi Susanti, Tati Suhartati, Sutopo Hadi Immobilization of α-Amylase from Locale Bacteria Isolate *Bacillus subtilis* ITBCCB148 with Carboxymethyl Cellulose (CM-Cellulose) // Modern Applied Science. 2012. Vol. 6. №. 3. P.81-86.

UDC 577.151

STUDY OF STABILITY OF FUNGUS AMYLASE, IMMOBILIZED ON CELLULOSE CONTAINING CHITOSAN

Raspopova E.A., Krasnoshtanova A.A.
Mendeleyev University of Chemical Technology of Russia, Moscow, Russia
125480, Moscow, Geroev Panfilovcev str., 20, building 1
e-mail: raspopova_liza@mail.ru

Covalent immobilization on cellulose containing chitosan was applied to stabilize the fungus amylase. It was demonstrated that the immobilization is more effective to maintain activity of the thermally and pH inactivated enzyme.

Keywords: immobilization, stabilization, chitosan, amylase.

The immobilized amylases are applied in different industries, for instance, in medicine and food industry. The effective way to increase the enzyme stability is the covalent immobilization, characterized by the formation of strong covalent bonds between the functional protein molecule groups and the matrix [1]. The immobilized product tends to contain natural polymers, such as chitosan. The activity of the native and immobilized amylase was defined by applying photocolorimetric analysis with 3,5-dinitrosalicylic acid.

It was investigated the immobilization of fungus amylase on the cellulose containing chitosan greatly increased the maintained enzyme activity in different conditions. The ideal temperature of the immobilized amylase shifted to the higher value from 45°C to 55°C as compared with the native enzyme. For incubation 60 min (45°C) the thermal stability of the immobilized amylase 4-fold increases compared with the native enzyme.

References

1. Yandri, Devi Susanti, Tati Suhartati, Sutopo Hadi Immobilization of α-Amylase from Locale Bacteria Isolate *Bacillus subtilis* ITBCCB148 with Carboxymethyl Cellulose (CM-Cellulose) // Modern Applied Science. 2012. Vol. 6. №. 3. P.81-86.

УДК602.6:58

ИЗУЧЕНИЕ ЗАВИСИМОСТИ РОСТА СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЫ *THALICTRUM MINUS L.* И СИНТЕЗА ЕЮ АЛКАЛОИДА БЕРБЕРИНА ОТ ФИТОГОРМОНОВ

Савин П.С., Савина Т.А., Цыбулько Н.С., Тертичная Ю.М.
ФГБНУ Всероссийский институт лекарственных и ароматических растений (ФГБНУ ВИЛАР), Москва, Россия 117216, ул Грина, д. 7, стр. 1
E mail: vilarnii@mail.ru

Установлено, что для поддержания роста суспензионной культуры василистника малого необходимо вносить регуляторы роста 2,4-Д и НУК. На биосинтез культурой берберина существенное влияние оказывает ИУК и кинетин.

Ключевые слова: Суспензионная культура, регуляторы роста, кинетин, L-нафтилуксусная кислота (НУК), 2,4 -дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4-Д), индолилуксусная кислота (ИУК).

Берберин является основным вторичным метаболитом, синтезируемым и выделяемым суспензионной культуройвасилистника малого (*ThalictrumminusL.*) в питательную среду.

Изучали действие на продуктивность клеточной культуры ауксинов 2,4-Д, ИУК, НУК, и цитокинина – кинетин.

Установлено, что ростовые процессы суспензионной клеточной культурывасилистника малого регуляторы роста кинетин и ИУК поддерживали на равном низком уровне (4,0–6,0 г/л питательной среды). Отмечено преимущество воздействия кинетина на процесс синтеза берберина. Содержание алкалоида при внесении кинетина составляло 2,78%, при внесении ИУК – 2,33%. Совместное внесение кинетина и ИУК несколько увеличивало рост биомассы, но снижало выход берберина до 2,31%. При использовании 2,4-Д или НУК наблюдался существенный скачек накопления биомассы – на 48%. При этом, усиление темпов роста суспензионной культуры сопровождалось снижением уровня синтеза БАВ почти в два раза.

В результате проведенных экспериментов можно отметить положительную роль на продукцию берберина ауксина ИУК в концентрации 2,0 мг/л и кинетина в концентрации 0,5г/л.

UDC602.6:58

RESEARCH ONTHE INFLUENCE OF PHYTOHORMONES UPON THE *THALICTRUM MINUS L.* SUSPENSION CULTURE
GROWTH AND PRODUCTION OF THE ALCALOIDE BERBERINE

P.S. Savin, T.A. Savina, N.S. Tsybulko, J.M. Tertichnaya
Federal State Scientific Institution "All-Russia Research Institute of Aromatic and Medical Plants "VILAR", Address: 7, bldg. 1, Greena str., Moscow117216, Russia
E mail: vilarnii@mail.ru

It was discovered that in order to sustain the growth of *THALICTRUM MINUS* L. (little meadow rue) suspension culture it is necessary to apply plant growth regulators (PGRs) such as 2,4-dichlorofenoxyacetic acid (2,4-D) and L-naphtyle acetic acid (NAA). The in dole acetic acid (IAA) as well as kinetin has a substantial impact on berberine production by the culture.

Keywords: suspension culture, plant growth regulators, kinetin, L-naphtyle acetic acid, 2,4-dichlorofenoxyacetic acid, indole acetic acid.

The alkaloid berberine is the main secondary metabolite that the little meadow rue suspension culture produces and exudes into the culture medium.

The cell culture productivity dependence on auxins (2,4-D, NAA, IAA) and cytokine in kinetin was under investigation.

It was determined that both kinetin and IAA sustained the growth of the little meadow rue suspension culture at the similarly low level (4,0 – 6,0 g/l of the culture medium). It was pointed out that kinetin has an advantage of IAA in the berberine culture biosynthesis. Kinetin inoculation gave 2,78% of berberine, and in the case of IAA its concentration was only 2,33%.

A simultaneous input of kinetin and IAA resulted in some increase of the biomass accretion, but the berberine yield diminished up to 2,31%. A substantial increase (up to 48%) of the biomass accretion was observed when both 2,4-D and NAA were applied. However the acceleration of the suspension culture growth was accompanied by almost twice diminishing of the bioactive substances synthesis.

As a result of the research there may by pointed out a positive impact of IAA in concentration of 2,0 mg/l and kinetin in concentration of 0,5g/l on the berberine cell culture productivity.

УДК 573.6.086.83:577.15; 579.66’15

ПОЛУЧЕНИЕ ФЕРМЕНТНОГО ПРЕПАРАТА ГРИБНЫХ ПРОТЕАЗ НА ОСНОВЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ШТАММА *PENICILLIUMCANESCENS*

Смирнова И.А., Середа А.С., Костылева Е.В., Цурикова Н.В.[1], Рожкова А.М.[2], Синицын А.П.[2,3]

[1]*ФГБНУВсероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии, 111033, г. Москва, ул. Самокатная, 4б*
e-mail: ferment_vniipbt@mail.ru
[2]*ФГБНУ Институт биохимии им. А.Н.Баха(ИНБИ РАН), 119071, г. Москва, Ленинский пр. 33, к.2*
[3]*Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, 119992, г. Москва, Ленинские горы, МГУ, 1/3*

Проведено масштабирование процесса культивирования рекомбинантного продуцента комплекса грибных протеаз PenicilliumcanescensPepA-LAP в лабораторных ферментерах. Получен концентрированный ферментный препарат (ФП) Пенициллопепсин-LAP, содержащий пенициллопепсин, лейцинаминопептидазу и обладающий ксиланазной активностью. Исследованы его основные физико-химические и биохимические свойства.

Ключевые слова: грибные протеазы, пенициллопепсин, лейцинаминопептидаза, Penicilliumcanescens, ферментный препарат, ферментация

Одним из наиболее перспективных направлений современной биотехнологии является получение белковых гидролизатов с применением ФП микробного происхождения. Особую роль в данном процессе играют кислые аспартатные грибные протеазы, благодаря способности образовывать пептиды без горечи, а также лейцинаминопептидаза(LAP), снижающая горечь белковых гидролизатов за счет удаления гидрофобных аминокислот с N-конца полипептидной цепи.

Ранее нами был получен рекомбинатный штамм *P. canescens*PepA-LAP[1], который наряду с собственным комплексомкарбогидраз, продуцирует кислую аспартатную протеазу пенициллопепсин и LAP. В результате масштабирования процесса культивирования *P. canescens*PepA-LAP в лабораторных ферментерах был подтвержден высокий уровень активности кислой протеазы иLAP, определена динамика биосинтеза экзо- и эндопептидазштаммом. Установлено,

что общая протеолитическая активность нового рекомбинантного штамма, в 3 – 4 раза превышает активность промышленного продуцента кислых грибных протеаз *Aspergillusoryzae* 107, ВКПМ F-929[2].

На основе культуральной жидкости, наработанной в процессе ферментации, был получен концентрированный комплексный препарат Пенициллопепсин-LAP (лиофильно высушенный ультраконцентрат), обладающий высокой активностью кислых протеаз, LAP и ксиланазы.

Исследование физико-химическихи биохимических свойств основных протеазФП Пенициллопепсин-LAP показало, что они аналогичны LAP и аспергиллопепсину из комплексного ФП Протооризин на основе промышленного штамма *Aspergillusoryzae* 107. С учетом высокой продуктивности штамм *P. canescens*PepA-LAP может рассматриваться как перспективный продуцент протеолитических ферментов.

1. Smirnova I.A., Sereda A.S., Tsurikova N.V., Kostyleva E.V., Rojkova A.M., Sinitsyn A.P. Development of recombinant fungal producers of acid proteases. Abstracts of International Conference «BIOCATALYSIS 2013». 2–5 July, Moscow.

2. Патент РФ № 2006123547/13, 04.07.2006. Римарева Л.В., Оверченко М.Б., Морозова К.А., Синицын А.П. Штамм гриба *Aspergillusoryzae* – продуцент кислых и слабокислых протеаз // Патент России № 2315098.2008.Бюл. № 2.

UDC 573.6.086.83:577.15; 579.66'15

OBTAINING OF PENICILLOPEPSIN-LAP PREPARATION USING *PENICILLIUMCANESCENS* RECOMBINANTS TRAIN

Smirnova I.A., Sereda A.S., Kostyleva E.V., Tsurikova N.V.[1], Rojkova A.M.[2], Sinitsyn A.P.[2,3]

[1]*Federal State Budget Scientific EstablishmentAll-Russia Scientific Research Institute of Food Biotechnology, 111033, Moscow, Samokatnaya str., 4b, Russia*

e-mail: ferment_vniipbt@mail.ru

[2]*Federal State Budget Scientific EstablishmentA.N.Bach Institute of Biochemistry, Russian Academy of Sciences, Leninsky prospect, 33, build. 2, Moscow, 119071, Russia*

[3]*Chemical Department, Moscow State University, Leninskiye Gory, 1-3, GSP-1, Moscow, 119991, Russia*

The cultivation processof fungal proteases recombinant producer *Penicilliumcanescens*PepA-LAP was scaled up in laboratory fermenters. A concentrated enzyme preparation (EP) *Penicillopepsin-LAP* was obtained, containing penicillopepsin and leucineaminopeptidase and possessing xylanase activity. The basic physical, chemical and biochemical properties of *Penicillopepsin-LAP* were investigated.

Keywords: fungalproteases, penicillopepsin, leucineaminopeptidase, Penicilliumcanescens

One of the most promising areas of modern biotechnology is protein hydrolysates obtaining using microbial EP.Two fungal proteases play a special role in this process:1) aspartic acid fungal proteases, due to their ability to produce peptides without bitterness, and 2) leucineaminopeptidase (LAP) reducing the bitterness of protein hydrolysates by removing hydrophobic amino acid residues from N-terminus of the polypeptide chain.

Previously, we obtained recombinant strain *P. canescens*PepA-LAP (1), which, in addition to its own carbohydrasescomplex, produces acid aspartic protease penicillopepsin and LAP. During *P. canescens* PepA-LAP cultivation in laboratory fermenters the high level of acid protease and LAP activitieswas confirmed; the dynamics of exo- and endopeptidases biosynthesis by the strain was determined. It was found that total proteolytic activity of the new recombinant strain is 3 – 4 times

higher than activity of fungal acid proteases industrial producer *Aspergillusoryzae* 107 VKPM F-929 [2] strain.

On the basis of the culture broth (CB) collected during fermentation, complex preparation *Penicillopepsin-LAP* (lyophilized CB ultra-concentrate) was obtained possessing high activity of acid proteases, LAP and xylanase.

Study of physico-chemical and biochemical properties of *Penicillopepsin-LAP* key proteases showed that they are similar to LAP and aspergillopepsin from the complex EPProtoorizinobtained using the industrial strain *A. oryzae* 107. Due to the high productivity, *P. canescens* PepA-LAP strain can be considered as a promising producer of proteolytic enzymes.

1. Smirnova I.A., Sereda A.S., Tsurikova N.V., Kostyleva E.V., Rojkova A.M., Osipov D.O., Sinitsyn A.P.Development of recombinant fungal producers of acid proteases. Abstracts of International Conference «BIOCATALYSIS 2013». 2–5 July, Moscow.

2. RF Patent № 2006123547/13, 04.07.2006. Rimareva L.V., Overchenko M.B., Morozova K.A., Sinitsyn A.P.The strain of the fungus *Aspergillusoryzae* – a producer of acidic and subacidic proteases // Russian Patent № 2315098.2008. Bull. number 2.

УДК 579.66

ВЫДЕЛЕНИЕ ШТАММОВ ТЕРМОТОЛЕРАНТНЫХ ДРОЖЖЕЙ, ПРОДУЦИРУЮЩИХ ЭТАНОЛ И ОБЛАДАЮЩИХ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ИНГИБИТОРАМ ФЕРМЕНТАЦИИ

Сорокина К.Н.[1,2], **Самойлова Ю.В.**[1], **Пилигаев А.В.**[1]

[1]*Институт катализа им. Г.К. Борескова Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия*

[2]*Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия*

630090, Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, д.5

e-mail sorokina@catalysis.ru

В работе проведено выделение штаммов термотолерантных дрожжей, продуцирующих этанол. Ряд штаммов, обладающих ростом свыше 45°С были исследованы на устойчивость к ингибиторам (кислоты, альдегиды, производные фурфурола). Показано, что 4 штамма обладали высокой устойчивостью к фурфуролу, 5-ГМФ, выход биомассы и этанола в присутствии ингибиторов не изменялся.

Ключевые слова: биомасса; ферментация; ингибиторы; штаммы.

Растительная биомасса является перспективным источником сырья для получения С5 и С6 сахаров путем каталитического гидролиза и их последующей ферментации в ряд ценных продуктов. Одной из существенных проблем при ферментации полученных таким образом сахаров является наличие ингибиторов в среде, образующихся в ходе гидролиза целлюлозы (в том числе органических кислот, альдегидов и производных фурфурола).

В данной работе проведено выделение и скрининг свойств термотолератных дрожжей, обладающих устойчивостью к ингибиторам фрементации. Всего было выделено 21 штаммов, относящихся к *Kluyveromyces marxianus*, *Clavispora lusitaniae* и *Candida inconspicua* обладающих способностью к росту при температурах свыше 40°С и сбраживанию глюкозы и ксилозы, и продуцирующих этанол. Проведен RAPD анализ. Из протестированных штаммов лишь четыре штамма, относящиеся к виду *Kluyveromyces marxianus* обладали способностью к росту >45°С, для них исследована устойчивость полученных штаммов к различным ингибиторам, которая

составляет для штаммов: муравьиная кислота <2 г/л, гликолевая кислота <10 г/л, яблочная кислота <25 г/л, фурфурол <1 г/л, 5-ГМФ >15 мМ, уксусная кислота 2 г/л, этанол < 75–80 г/л. Скрининг свойств при культивировании при 45°С показал, что в присутствии 0.5 г/л фурфурола полностью подавляется потребление ксилозы, а глюкозы на 30%. При концентрации 20 мМ 5-ГМФ в среде потребление глюкозы не изменялось, ксилозы снижалось на 50%. Выход биомассы и этанола по глюкозе в обоих случаях не изменялся. Таким образом, по результатам скрининга была выявлен штамм *Kluyveromyces marxianus* TYK-14, обладающий высокой устойчивостью к ингибиторам ферментации (в т.ч. производным фурфурола).

Научные исследования проведены при финансовой поддержке государства в лице Минобрнауки России. Уникальный идентификатор научных исследований RFMEFI61314X0017.

УДК 579.66

ISOLATION OF THERMOTOLERANT YEAST STRAINS PRODUCING ETHANOL AND RESISTANT TO INHIBITORS OF FERMENTATION

Sorokina K.N.[1,2], **Samoylova Y.V.**[1], **Piligaev A.V.**[1]

[1]*Boreskov Institute of Catalysis of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia*

[2]*Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*

630090, Novosibirsk, pr. Lavrentieva, 5

In this study a number of thermotolerant yeast strains producing ethanol were isolated. Several strains had biomass growth over 45°C and were tested against resistance to inhibitors (acids, aldehydes, furfural derivatives). It has been shown that 4 strains exhibited high resistance to furfural, 5-HMF, and biomass yield and ethanol in the presence of inhibitors remained unchanged.

Keywords: biomass; fermentation; inhibitors; strains.

Plant biomass is a promising source of raw material for producing C5 and C6 sugars through catalytic hydrolysis and subsequent fermentation in a number of valuable products. One of the major problems in the fermentation of sugars is the presence of inhibitors in the medium, formed during the hydrolysis of cellulose (including organic acids, aldehydes and derivatives of furfural).

In this paper we have carried out the selection and screening properties termotoleratnt yeasts that are resistant to inhibitors frementation. There were isolated 21 strains belonging to *Kluyveromyces marxianus*, *Clavispora lusitaniae* and Candida *inconspicua* having the ability to grow at temperatures above 40°C and to ferment simultaneously glucose and xylose, producing ethanol. The RAPD analysis was performed. Of the strains tested, only four strains belonging to the species *Kluyveromyces marxianus* have the ability to grow> 45°C and they were taken to investigate the stability of these various strains derived inhibitors, revealed the following critical concentrations: formic acid <2 g/l glycolic acid <10 g/l, malic acid <25 g/l, furfural <1 g/l, 5-HMF> 15 mM acetic acid, 2 g/l ethanol <75–80 g/l. Screening properties when cultured at 45°C showed that in the presence of 0.5 g/L furfural completely suppressed uptake of xylose and glucose at 30%. At a concentration of 20 mM 5-HMF consumption of glucose in the medium was not changed xylose decreased by 50%. Biomass yield on glucose and ethanol in both cases unchanged. Thus, the results of screening was found strain Kluyveromyces marxianus TYK-14 having a high resistance to inhibitors of fermentation (including furfural derivatives).

Research carried out with financial support from the state on behalf of the Russian Ministry. Unique identifier research is RFMEFI61314X0017.

УДК 57.085.23

БЕССЫВОРОТОЧНЫЕ СРЕДЫ «ГИБРИС» ДЛЯ СУСПЕНЗИОННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК CHO И HEK В БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ

Табаков В.Ю.[1,2], **Честков В.В.**[1,2], **Честков И.В.**[2], **Щепкина Ю.В.**[1,2]
[1]*ФГБУ Медико-Генетический Научный Центр РАМН, Москва, Россия*
115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1
[2]*ООО Научно-Производственное предприятие ПанЭко, Москва, Россия*
115522, Москва, а/я119
e-mail: chestkov@med-gen.ru

Разработаны специальные бесывороточные среды для суспензионного культивирования линий клеток CHO и HEK в биотехнологических процессах. Продемонстрированы высокий уровень накопления жизнеспособных клеток и длительный период поддержания жизнеспособности культур модельных линий CHO-Sи HEK-SFв условиях эксперимента в стационарной культуре с перемешиванием.

Ключевые слова: бессывороточнаясреда; суспензионное культивирование; клеточная линия; CHO-S;HEK-SF; биотехнологический процесс.

Получение препаратов сложных рекомбинантных белков и трансдуцирующих вирусных векторов предполагает использование высокопроизводительных суспензионных культур рекомбинантных клеточных линий яичника китайского хомяка CHO и первично трансфицированных делеционным вариантом аденовируса Ad5 клеток почки эмбриона человека HEK-293 [1,2].Оптимальные показатели роста и продуктивности этих рекомбинантных линий достигаются при условии суспензионного культивирования клеток в специализированных бессывороточных средах [3]. Нами разработаны отечественные аналоги бессывороточных сред химически определенного состава для обеспечения высокоэффективного культивирования клеток этих линий в биотехнологических процессах. Среда «Гибрис-1-CHO» предназначена для роста и продукции рекомбинантных белков клетками линий CHO в суспензионных биореакторных культурах. В экспериментах на модельной клеточной бессывороточной линии CHO-S (Invitrogen) в условиях стационарной культуры с перемешиванием максимальный уровень накопления биомассы жизнеспособных клеток (свыше 95%) наблюдается на 5–6 сутки от инокуляции посевного материала (рис.1). Биохимический анализ культуральной среды в динамике установил пониженную скорость утилизации глюкозы и низкий уровень накопления лактата в процессе культивирования. Среда «Гибрис-1–293» обеспечивает высокоэффективное культивирование клеток бессывороточной суспензионной линии HEK-SF (ПанЭко)в условиях стационарной культуры с перемешиванием. Плотность суспензии клеток достигала 2,3–3,0 млн. клеток/кластеров на 1 мл культуральной среды (рис.2). При этом, количество агрегатов клеток в длительных экспериментах (до 10 суток) не превышало 10% с размерами агрегатов не более 5–15 клеток.

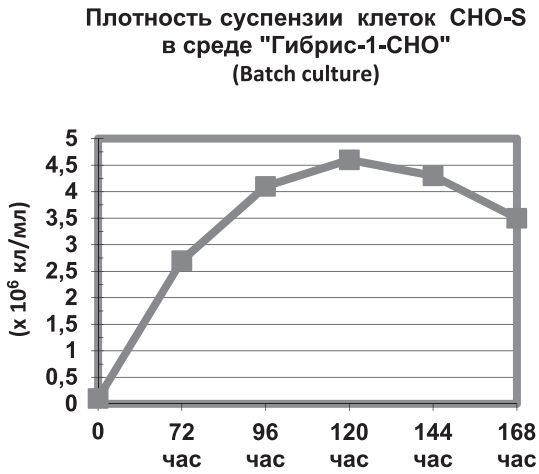


Рис.1

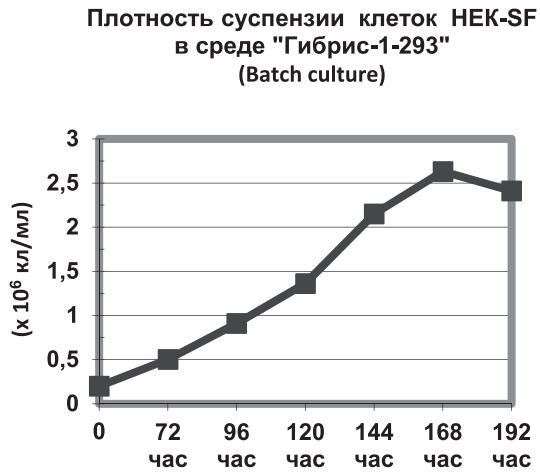


Рис.2

Список литературы

1. Kim J.Y., Kim Y.G., Lee G.M.CHO cells in biotechnology for production of recombinantproteins: currentstate and fur ther potential//Appl. Microbiol. Biotechnol. 2012. Vol.93. P.917–930.

2. Wright J.F.Transient transfection methods for clinicaladeno-associatedviral vectorproduction// Human genetherapy. 2009. Vol.20. P.698–706.

3. WurmM. Medium and Process Optimization for High Yield, High Density Suspension Cultures: From Low Throughput Spinner Flasksto High Through put MillilitreReactors// BioProcess International magazine. 1.02.2009

URL: http://www.bioprocessintl.com/upstream-processing/cell-culture-media/medium-and-process-optimization-for-high-yield-high-density-suspension-cultures-from-low-throughput-spinner-flasks-to-high-throughput-millilitre-reactors-184052 (дата обращения:16.12.14).

UDC:57.085.23

SERUM-FREE MEDIA "HYBRIS" FORCULTURING CHO AND HEK CELLS IN SUSPENSION

Tabakov V.Yu.[1,2], **Chestkov V.V.**[1,2], **Chestkov I.V.**[1,2], **SchepkinaYu.V.**[1,2]

[1]*Research Centreof Medical Genetics (RCMG) oftheRussianAcademyof Medical Sciences (RAMS) Moscow, Russia*

115478, Moscow, Moskvorechiest., 1

[2]*PanEco Ltd., Moscow, Russia*

115522, Moscow, pb119.

e-mail: chestkov@med-gen.ru

Chemicallydefinedprotein-freemedia were developed for culturing of CHO and HEK cells in biotechnological processes. High level of viable cells and prolonged time of cell (viability) life were shown in cultures of CHO-S and HEK-SF at (in) batch shaking culturing experiment.

Keywords: serum-free medium; suspension culturing; cell line; CHO-S; HEK-SF; biotechnological process.

Production of protein and viral transducing vectors requires the reach high density suspension of biotechnological cell lines Chinese Hamster Ovary (CHO) and primary transfected by sheared ade-

novirus variant Ad5 Human Embrional Kidney cells (HEK-293) [1,2]. Optimal growth and production indicators of these recombinant linesare achieved under suspension culture conditions in specialized serum-free media [3].

We have developed new effective chemically defined serum-free media for high efficient culturing of these cell lines in biotechnological processes. The medium “HYBRIS-1-CHO” is intended for the growth and recombinant proteins production by CHO cell lines in bioreactor cultures. In experiments using model serum-free cell line CHO-S (Invitrogen) under stationary culture with shaking, the maximal level of viable cell biomass accumulation (over 95%) was observed at 5–6 day after seeding material inoculation (fig.1). The biochemical analysis of cell culture medium revealed low rate of glucose utililization and low level of lactate accumulation. The medium “HYBRIS-1–293” provides high efficiency culturing of serum-free suspension cell line HEK-SF (PanEco) under stationary culture with shaking. Cell density was achieved 2,3–3,0 × 10^6 cells/clusters per 1 ml of culture medium (fig.2). The amount of cell aggregates in prolonged experiments (up to 10 days) didn’t exceed 10% at total cell number with aggregates up to 5–15 cells.

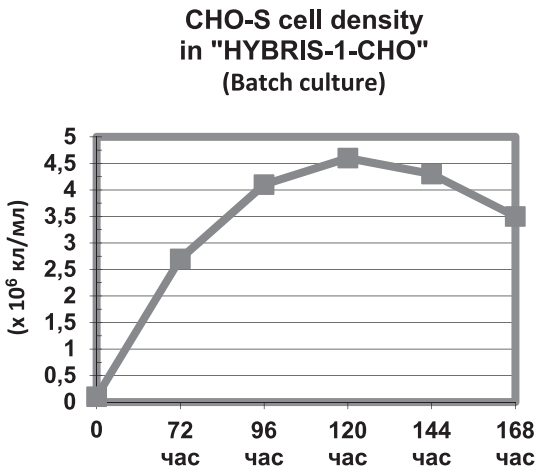


fig.1

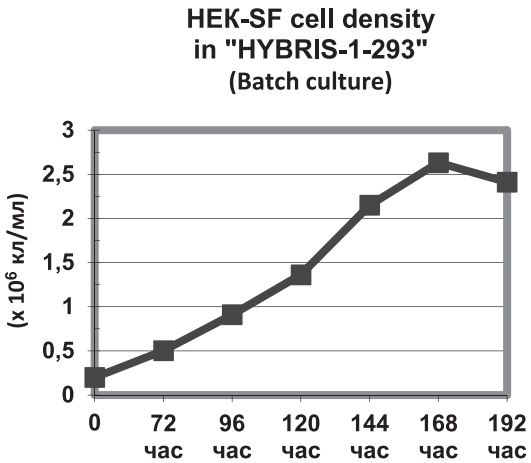


fig.2

References

1. Kim J.Y., Kim Y.G., Lee G.M.CHO cells in biotechnology for production of recombinant proteins: currentstate and further potential//Appl. Microbiol. Biotechnol. 2012. Vol.93. P.917–930.

2. Wright J.F. Transient transfection methods for clinical adeno-associated viral vector production//Human genetherapy. 2009. Vol.20. P.698–706.

3. Wurm M.Medium and Process Optimization for High Yield, High Density Suspension Cultures: From Low Through put Spinner Flasksto High Through put MillilitreReactors// BioProcess International magazine. 1.02.2009

URL: http://www.bioprocessintl.com/upstream-processing/cell-culture-media/medium-and-process-optimization-for-high-yield-high-density-suspension-cultures-from-low-throughput-spinner-flasks-to-high-throughput-millilitre-reactors-184052 (дата обращения:16.12.14).

УДК 663.1

СИСТЕМНЫЙ ПОДХОД К ВЫБОРУ ОПТИМАЛЬНОГО БИОРЕАКТОРА

Винаров А.Ю.

Открытое акционерное общество «Государственный научно-исследовательский институт биосинтеза белковых веществ», Москва, Россия

109004 Москва, ул. А.Солженицина,27. E-mail: Vinarov@hotmail.com

Формулируется подход к выбору оптимального биореактора с учетом явлений на микро- и макроуровнях и их математического моделирования. Приведен пример алгоритма выбора биореактора на основе критерия энергозатрат. Рассматриваются варианты различных критериев оптимальности для выбора биореактора.

Ключевые слова: биореактор, алгоритм выбора, критерий оптимальности, системный подход.

Выбор рациональной конструкции биореактора представляет собой сложную и важную задачу, особенно при создании коммерческих биотехнологий. Критерий оптимальности при этом может учитывать энергетические затраты, количество и качество получаемого биопродукта, степень биоконверсии исходного субстрата и др./1/. Задача выбора для разрабатываемой биотехнологии оптимального биореактора или технических требований для его создание может быть решена на основе системного подхода к данной проблеме с использованием методов математического моделирования процессов на микро и макроуровне /2, 3/.

Пример простого алгоритма выбора биореактора для аэробной ферментации:

1.Рассчитывается необходимая скорость потребления кислорода с учетом модели кинетики роста, стехиометрии потребления O_2 и концентрации клеток в среде.

2.Рассчитывается требуемый коэффициент массопередачи (KLa), обеспечивающий требуемое потреблениеO_2 при концентрации растворенного O_2 превышающей критическое значение .

3.Рассчитываются энергозатраты для достижения расчетного значения (KLa), выбирается аппарат и параметры работы (перемешивание, аэрация) с минимальным значением (критерий оптимальности)

Например, в типовых аппаратах с мешалкой энергозатраты на массопередачу кислорода составляют 0,75–1,0 квтч/1кгO_2, при скорости массопередачи 4–5 кгO_2/м^{3}ч, а в оптимальной конструкции биореактора затрачивается всего 0,35–0,45 квтч/1кг O_2. Нами рассмотрены задачи выбора оптимального биореактора и на основе других критериев: максимальная поверхность насадки в аппарате для иммобилизации клеток, минимальный объем дорогостоящей питательной среды при культивировании CHO клеток, максимальная продуктивность по биогазу для метанового сбраживания и др.

1.Кафаров В.В., Винаров А.Ю., Гордеев Л.С.Моделирование и системный анализ биохимических производств (монография) изд. М. : Лесная пр-ть, 1985, 280с.

2.ВинаровА.Ю., Гордеев Л.С., Кухаренко А.А., Панфилов В.И. под ред. Быкова В.А. Ферментациионные аппараты для процессов микробиологического синтеза (монография). Изд.М.: Дели,2005, 300с

3.Кафаров В.В., Винаров А.Ю., Гордеев Л.С.Моделирование биохимических реакторов (монография изд.М.: Лесная пр-ть, 1979, 343с.

SYSTEM APPROACH TO THE SELECTION OF OPTIMAL BIOREACTOR

Vinarov A.Yu.
Joint – stock company «State scientific research institute of proteins biosynthesis» Moscow, Russia 109004 Moscow, Aleksandra Soljenitsina Str., 27 E-mail: Vinarov@hotmail.com

Formulated approach to the selection of optimal bioreactor with the phenomena at the micro and macro levels, and their mathematical modeling. An example of bioreactor selection algorithm based on the criterion of energy consumption is shown. Discusses options for different optimality criteria for selecting the bioreactor.

Keywords: bioreactor selection, algorithm, optimality criterion, system approach, mathematical model.

The choice of a rational design of the bioreactor is a complex and important task, especially in the creation of commercial biotechnology. Criterion of optimality in this case may include energy costs, the amount and quality of byproduct produced, the degree of the initial substrate bioconversion et al.[1]. The problem of choice for optimal bioreactor for a new developed biotechnology or technical requirements for its creation can be solved on the basis of the system approach to this problem using mathematical modeling methods with the phenomena at the micro – and macro levels describing by the corresponding models [2,3].

An example of a simple algorithm for selection of bioreactor for aerobic fermentation:

1. The required rate of oxygen consumption is calculated based on the model of the growth kinetics, stoichiometry of O_2 consumption and cell concentration in the medium.
2. That allows us to calculate the required mass transfer coefficient (KLa) with regard to the concentration of dissolved O_2 exceeds a critical value for a given culture
3. For the competing types of bioreactors and the parameters of their work (mixing, aeration) is calculated the energy consumption for achieving the design value (KLa) and select the unit with a minimum of energy (optimality criterion).

For example, in typical agitated apparatus energy on mass transfer of O_2 is 0.75–1.0 kWh/1kgO_2 at a rate of mass transfer 4–5 kgO_2 /m^{3}h, but for the optimal design of the bioreactor is spent only 0.35–0.45 kWh/1kg O_2. We have considered the problem of choosing the optimal bioreactor and on the basis of other criteria, such as the maximum amount of surface packing in apparatus for cell immobilization, the minimum amount of expensive culture medium by culturing CHO cells, the maximum productivity biogas for methane fermentation, and others.

1. V. Kafarov, A. Vinarov, L.Gordeev Modeling and system analysis of biochemical manufactures (monograph) Moscow : Lesnaya Prom. 1985, 280 p.
2. A Vinarov, L. Gordeev, A. Kucharenko, V. Panfilov (by redaction of V.Bukov) Fermentation apparatus for microbiological processes (educational book)., Moscow : Deli, 2005, 300p.
3. V. Kafarov, A. Vinarov, L. Gordeev. Modeling of biochemical reactors (monograph) Moscow: Lesnaya Prom. 1979, 345 p.

УДК 577.152.

СПОСОБЫ КОНСЕРВАЦИИ МИКРОМИЦЕТОВ – ПРОДУЦЕНТОВ ПРОТЕИНАЗ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИЕ ИХ СТАБИЛЬНОСТЬ

Яковлева М.Б., Никитина З.К., Быков В.А.
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений, Москва, Россия

117216, Москва, ул. Грина, 7
nikitinaz@yandex.ru

Исследовалась выживаемость и сохранение способности гидролизовать белки штаммами микромицетов при различных способах консервации в условиях пролонгированного хранения. Способ хранения на агаризованной среде Чапека как под вазелиновым маслом, так и без него обеспечивал 100% сохранность всех 47 исследованных штаммов дейтеромицетов на протяжении 40,5 месяцев.

Ключевые слова: дейтеромицеты, выживаемость, хранение, индексы лизиса.

Потребителем ферментных препаратов являются сельское хозяйство, пищевая промышленность, медицина, наука. Способностью синтезировать протеолитические ферменты обладают практически все микроорганизмы, в той или иной степени. Микромицеты занимают одно из первых мест, поскольку один продуцент способен синтезировать комплекс ферментов. Необходимым условием для промышленного получения ферментов является обеспечение сохранности жизнеспособности и биотсинтетической активности микроорганизмов.

Показано, что способ консервации на агаризованной среде Чапека как под вазелиновым маслом, так и без него обеспечивал 100% сохранность 47 исследованных штаммов дейтеромицетов на протяжении 40,5 месяцев. Оптимальный способ консервации для сохранения штаммов не всегда совпадает с таковым для поддержания их биохимической активности на исходном уровне. Семь культур из 8 заложенных на силикагель и хранящихся в условиях холодильника оставались жизнеспособными более чем через 20 лет. Проведённые исследования выявили необходимость индивидуального подбора способа и условий хранения не только для определённого вида, но и для штамма.

METHODS OF CONSERVATION OF MICROMYCETES – PRODUCERS OF PROTEASES, ENSURING THEIR STABILITY

Yakovleva M.B., Nikitina Z.K., Bykov V.A.
Federal state scientific institution all-Russian research Institute of medicinal and aromatic plants, Moscow, Russia
117216, Moscow, Green, 7 street
nikitinaz@yandex.ru

We studied the survival and preservation of the ability to hydrolyze proteins strains of micromycetes in various methods of conservation under conditions of prolonged storage. The method of storage on agar medium of Capek as vaseline oil, and without it ensured 100% safety of all 47 of the investigated strains deuteromycetes over 40,5 months.

Keywords: deuteromycetes, survival, storage, indexes lysis.

Consumer enzyme preparations may be agriculture, food industry, medicine, science. Ability to synthesize proteolytic enzymes possess virtually all microorganisms, in one degree or another. The micromycetes occupy one of the first places, as one producer is able to synthesize the enzyme complex. A necessary condition for industrial production of enzymes is to preserve the viability and biosynthetically activity of microorganisms.

It is shown that the method of conservation on agar medium of Capek as vaseline oil, and without it provided 100% protection 47 of the investigated strains deuteromycetes over 40,5 months. The best

way preservation for preservation of strains does not always coincide with those to maintain their biochemical activity at baseline. The seven cultures of 8 laid on silica gel and stored in the refrigerator remained viable after more than 20 years. Our research has identified the need for individual selection method and storage conditions not only for a certain type, but also for the strain.

УДК 615.9+577.472(28):614+577.4

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ И ПОЛУЧЕНИЕ НАД

Цыренов В.Ж., Гомбоева С.В., Санданов А.А.
Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления,
г. Улан-Удэ, Россия
670013, г. Улан-Удэ, ул. Ключевская, 40в
e-mail: s.gomboeva@mail.ru

Осуществлен миробиологический синтез НАД методом ферментации. Предложены технологическая схема миробиологческого синтеза и получения НАД в препаративных количествах

Ключевые слова: Corynebacteriumammoniaegenes, НАД, salvageсинтез, химическая очистка НАД.

НАД (никотинамидадениндинуклеотид) является ценным биологически активным веществом, который находит применение в медицине в качестве лекарств и компонента диагностикумов.

Для осуществления микробиологического синтеза НАД методом ферментации отобран штамм продуцент *CorynebacteriumammoniaegenesВСТИ 404*. Методом математического планирования экспериментов установлены оптимальные параметры синтеза НАД с помощью упомянутого выше штамма. Изучен химический состав супернатантакультуральной жидкости *C.Ammoniaegenes*, разработан метод химической очистки и выделения НАД. Предложены технологическая схема микробиологического синтеза и получения НАД в препаративныхколичествах.

Список литературы:

Санданов А.А., Цыренов В.Ж., Островский Д.Н. «Биосинтез НАД коринеформными бактериями».//Вестник ВСГТУ. – 2010. – №2. – С. 31–37.

Санданов А.А., Островский Д.Н., Цыренов В.Ж. Микробиологический синтез 2-С-метил-Д-эритрол-2,4-циклодифосфата.// Известия Вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2011. – №1. -С.110–114.

Цыренов В.Ж., Санданов А.А., Островский Д.Н. Биосинтез метилэритролциклодифосфата у коринеподобных бактерий в условиях окислительного стресса.// Вестник ИГУ. Экология. – 2013. – №4. – С. 167-175.

УДК 615.9+577.472(28):614+577.4

MICROBIOLOGICALSYNTHESISANDPREPARATIONOFNAD

TsyrenovV.Zh., GomboevaS.V., SandanovA.A.
East-Siberian state university of technology and management, Ulan-Ude, Russia
670013, Ulan-Ude, KlyuchevskayaSt, 40V
e-mail: s.gomboeva@mail.ru

NADmikrobiological synthesis by the means of fermentationmade. A technological scheme of NADmikrobiological synthesis and preparation in preparative quantities.

Keywords: Corynebacteriumammoniaegenes, NAD, salvage synthesis, NAD chemical clearing.

NAD (nicotinamide adenine dinucleotide) is a valuable biologically active substance, which finds its application in medicine in form of drugs and component test systems. For the implementation of NADmicrobiological synthesis by the means of fermentation the producer strain *CorynebacteriumammoniaegenesESTI 404* was selected. The NAD synthesis optimal parameters with the help of the above-mentioned strain were established by the means of test mathematical planning method. The chemical content of the *C. ammoniaegenes* culture fluid supernatant was studied and a method of chemical NAD purification and selection was worked out. A technological scheme of NAD microbiological synthesis and preparation in preparative quantities was proposed.

References:

Sandanov A.A., Tsyrenov V.Zh., Ostrovsky D.N. NADBiosynthesis with coryneform bacteria. // Vestnik of ESSTU. – 2010. – №.2. – P. 31–37.

Sandanov A.A., Ostrovsky D.N., Tsyrenov V.Zh. 2-C-methyl-D-aritra-2,4-cyclodiphosphat microbiological synthesis // IzvestiyaVuzov. Applied chemistry and biotechnology. – 2011. – №.1. – P. 110–114.

TsyrenovV.Zh., SandanovA.A., OstrovskyD.N. Metileritrol of cyclodiphosphat biosynthesis incoryneformbacteria under conditions of oxidative stress. // Vestnik of the Irkutsk state University. Ecology. – 2013. – №. 4. – P. 167-175.

УДК 579.66 + 547.7

ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНГИЦИДНОЙ И БАКТЕРИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ ХАЛЬКОГЕНСОДЕРЖАЩИХ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

Залепкина С.А., Смирнов В.Ф., Борисов А.В.[1], Мацулевич Ж.В.[1], Смирнова О.Н.

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,
Нижний Новгород, Россия
603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, д. 23, корп. 1
e-mail: biodeg@mail.ru

[1]*Нижегородский государственный технический университет им. Р.Е. Алексеева, Нижний Новгород, Россия*
603155, Нижний Новгород, ул. Минина, д. 24, корп. 1
e-mail: obchim@nntu.nnov.ru

Проведено исследование биологической активности халькогенсодержащих соединений в отношении различных видов микроскопических грибов и бактерий. Установлены соединения, обладающие наибольшей биоцидной активностью.

Ключевые слова: селен; сера; гетероциклические соединения; бактерицидность; фунгицидность.

Известно, что многие халькогенсодержащие гетероциклические соединения обладают высокой биологической активностью и играют важную роль в метаболизме живых организмов. Целью настоящей работы было исследование фунгицидной и бактерицидной девяти новых халькогенсодержащих соединений на основе серы и селена. Биоцидная активность соединений определялась в интервале 0,1 – 2% (масс.) В качестве тест организмов использовались бак-

терии видов: *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella oxytoca*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli* и микроскопические грибы видов: A*lternaria alternata*, *Penicillium cyclopium*, *Penicillium chrysogenum*, A*spergillus oryzae*, A*spergillus terreus*, A*spergillus niger*.

Установлено, наибольший бактерицидный эффект проявил ди(1,3-диметил-2,3-дигидро-1Н-бензо[d]имидазол-2-ил)диселенид. Максимальной фунгицидной активностью обладал 2-меркаптопиридин-1-оксид.

Халькогенсодержащие гетероциклические соединения, обладающие высокой фунгицидной и бактерицидной активностью, могут быть использованы в биотехнологии в качестве биоцидных препаратов, ингибирующих рост и развитие микроскопических грибов и бактерий.

UDC 579.66 + 547.7

STUDYING FUNGICIDAL AND BACTERICIDAL ACTIVITY OF NEW CHALCOGEN HETEROCYCLIC COMPOUNDS

Zalepkina S.A., Smirnov V.F., Borisov A.V.[1], Matculevich Zh.V.[1], Smirnova O.N.
Nizhny Novgorod State University, Nizhny Novgorod, Russia
603950, Nizhny Novgorod, Gagarin prosp., 23, blok 1
e-mail: biodeg@mail.ru
[1]*Nizhny Novgorod State Technical University, Nizhny Novgorod, Russia*
603155, Nizhny Novgorod, Minina st., 24, blok 1
e-mail: obchim@nntu.nnov.ru

Studying of bioactivity of new chalcogen heterocyclic compounds towards bacteria and fungi was carried out. Compounds with higher toxicity were determined.

Keywords: selenium; sulphur; heterocyclic substances; fungicidal activity; bactericidal activity.

Chalcogen-containing heterocyclic substances are known to have high bioactivity and play an important role in metabolism of living organisms. The objective of this research was to study toxicity of nine new chalcogen compounds produced on base of S and Se towards bacteria and fungi. Toxic properties of the compounds were designated at 0,1 to 2 weight %. As test-organisms were used bacteria *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella oxytoca*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli* and fungi A*lternaria alternata*, *Penicillium cyclopium*, *Penicillium chrysogenum*, A*spergillus oryzae*, A*spergillus terreus*, A*spergillus niger*.

The highest bacterial growth-inhibitory activity of di(1,3-dimethyl-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazole-2-yl)diselenide was determined. 2-Mercaptopyridyn-1-oxide had the maximum toxicity towards fungi.

Chalcogen-containing heterocyclic compounds with the high fungicidal and bactericidal activity may be used in biotechnology as biocidal products inhibiting growth and development of fungi and bacteria

УДК 579.222.3

ИЗУЧЕНИЕ УПРАВЛЯЮЩИХ ФАКТОРОВ РАЗВИТИЯ ЭКСТРЕМАЛЬНО ГАЛОФИЛЬНОГО МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА

Занина О.С., Мурзина Е.Д., Борисов В.Д., Кошкарева К.А., Бутырин С.П.,

Побережный Д.Ю., Атрощик Е.А., Нагаева В.Е., Кузнецов А.Е., Калёнов С.В.
Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия
125480, Москва, ул. Героев Панфиловцев, д. 20, корп. 1
e-mail: nocturna13@rambler.ru

Проведена идентификация и оптимизация условий культивирования компонентов экстремально галофильного микробного сообщества, получена управляемая смешанная популяция микроводорослей и галобактерий.

Ключевые слова: экстремальные галофилы; галобактерии; галофильные сообщества, некультивируемые, смешанные культуры.

Исследование физиологической активности микроорганизмов-экстремофилов, в частности экстремальных галофилов, в составе сообществ может дать импульс развитию подходов к регулированию метаболизма и технологиям получения известных и новых биологически активных соединений. Сильно минерализованное озеро Аликес (о. Кос, Греция), из которого отобран материал исследования – пример устойчивой экосистемы, подверженной перепадам температур, солености, освещения в широких диапазонах вплоть до экстремальных значений.

Из образцов различных зон озера: донных отложений, различных слоев воды и кристаллов соли на селективных модифицированных средах выделены преобладающие микробные компоненты. Оптимизация состава сред и условий культивирования выделенных бактериальных культур и микроводорослей проведена по плану Плакетта-Бермана с вариацией содержания специфических микроэлементов, температурных режимов, условий аэрации и освещения, причем в последнем случае показана роль спектральных составляющих на развитие отдельных культур. Изучено перекрестное влияние микроорганизмов друг на друга и их специфические ферментативные активности в различных условиях.

Результаты исследования послужили основой создания управляемой смешанной популяции микроводорослей и галобактерий, а также сред для культивирования ранее некультивируемых микроорганизмов.

ONTROLLING FACTORS OF EXTREMAL HALOPHILOUS MICROBIAL COMMUNITY

Zanina O.S., Murzina E.D., Borisov V.D., Koshkareva K.A., Butyrin S.P., Poberezhniy D.Y., Atroshchik E.A., Nagaeva V.E., Kouznetsov A.Ye., Kalenov S.V.
Mendeleyev University of Chemical Technology of Russia, Moscow, Russia
125480, Moscow, Geroev Panfilovtsev street, 20, Bldg. 1
e-mail: nocturna13@rambler.ru

The culture conditions of components of the extremely halophilic microbial community were identified and optimized. The well-managed mixed population of microalgae and halobacteria was obtained.

Keywords: extreme halophiles; halobacteria; halophilic community, uncultivated halophiles, multicomponent populations, mixed cultures.

The investigation of physiological activity of extremal microorganisms, in particular extremal halophiles, as a part of microbial community can give impulse to advances in controlling metabolism and technologies of production known and new biologically-active substances. Example of stable ecological community, subject to the temperature gradient, salinity gradient, different lightening in a broad range up to extremal point is a highly mineralized lake Alikes (Kos island, Greece) from those we got the sample for research.

Domination microbial components isolated from various sample zones (sludge, different water zones, salt crystals) and grown in selective modification medium. Optimization of medium compositions and growth conditions for isolated bacterial cultures and microalgae was lead with Plackett-Burman's plan with various content of specific trace nutrient, temperature modes, aeration and lightening conditions. The role of the spectral components in the development of individual cultures microbes was studied. Cross effect of microorganisms to each other and its specific enzyme activity was investigated in various conditions.

Based on the results of this research, we set up controlled the well-managed mixed population of microalgae and halobacteria, nutrient medium for fermentation uncultivated microorganisms, which was isolated from the extremal halophilious community.

СЕКЦИЯ «БИОКАТАЛИЗ И БИОКАТАЛИТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ»
SECTION "BIOCATALYSIS AND BIOCATALYTIC TECHNOLOGIES"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

УДК 579.22:577.15

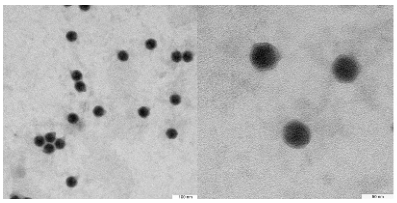
ПРЕПАРАТ БАКТЕРИОФАГА БИМ BV-53, ОБЛАДАЮЩИЙ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Бондаревич Н.В.[1], Широков А.А.[2], Новик Г.И[1].
[1]*Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*
220141, г. Минск, ул. акад. В.Ф. Купревича, д. 2, Беларусь
e-mail: natal-vasilna@rambler.ru
[2]*Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов, Россия*
410049, г. Саратов, просп. Энтузиастов, д.13, Россия

Для исследования активности ферментов проникновения бактериального вируса в клетку получен очищенный препарат бактериофага БИМ BV-53. Проведен анализ ферментативной активности нативныхфаговых частиц при инкубировании с ЛПС клеточных стенок штаммов бактерий *Pseudomonasfluorescens* БИМ В-582 и БИМВ-86. Проведено хроматографическое разделение олигомерных продуктов ферментолиза с участием нативных частиц бактериофага.

Ключевые слова: очищенный бактериофаг; ферменты бактериофагов; ЛПС.

Ферменты вирусов бактерий, необходимые для проникновения бактериофагов в клетку, представлены гидролазами различных подклассов, а также описаны лиазы бактериофагов, катализирующие разрыв связей капсульных гликанов. Для изучения ассоциированных с бактериофагом БИМ BV-53ферментов использовали нативные частицы бактериофага, очищенные методами высаливания ацетатом аммония и последующего ультрацентрифугирования. При анализе с помощью электронного микроскопа показан высокий уровень гомогенности препарата, фрагментов клеток не наблюдалось. Субстратом в реакции ферментолиза служили ЛПС бактерий-хозяев *Pseudomonasfluorescens* БИМ В-582 и БИМ В-86. Инкубирование в течение часа бактериофага и ЛПС демонстрирует увеличение восстанавливающей способности (по реакции на антиоксиданты с гексацианоферратом калия) и снижение вязкости реакционной смеси и свидетельствует о прохождении ферментолиза. Методами гель-проникающей хроматографии на колонках SephadexG50 и TSK HW-40 были фракционированы продукты ферментолиза. Контроль за ходом элюции проводили фенол-сернокислым методом.



Микрофотографии препарата БИМ BV-53 (31 500 и 80 000 X)

Препарат бактериофага БИМ BV-53 обладает деполимеразной активностью и позволяет получить составные компоненты высокомолекулярных субстратов.

UDC 579.22:577.15

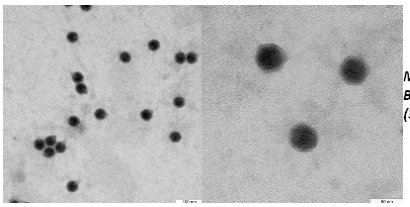
BACTERIOPHAGE BIMBV-53 PREPARATION SHOWING ENZYMATIC ACTIVITY

Bondarevich N.V.[1], Shirokov A.A.[2], Novik G.I[1].
[1]*Institute of Microbiology, NAS of Belarus, Minsk, Belarus*
220141, Minsk, Kuprevich str., 2, Belarus
e-mail: natal-vasilna@rambler.ru
[2]*Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms Russian Academy of Sciences, Saratov, Russia*
410049, Saratov, Prospect Entuziastov, 13, Russia

Preparation of bacteriophage BIM BV-53 was purified to evaluate activity of enzymes involved in penetration of virus into bacterial cell. Analysis of enzyme activity of native phage particles incubated with cell wall LPS from bacterial strains *Pseudomonasfluorescens* BIMB-582 andBIMB-86 was conducted. Chromatographic separation of oligomeric products of enzymatic lysis mediated by native bacteriophage particles was performed.

Keywords: purified bacteriophage; bacteriophage enzymes; LPS.

Enzymes of bacterial viruses essential for phage penetration into the cell are represented by hydrolases of various subclasses and phage lyases catalyzing disruption of capsular glycan bonds are also described. Native phage particles recovered by ammonium acetate precipitation and subsequent ultracentrifugation were used to investigate the enzymes associated with bacteriophage BIM BV-53. Electron microscopic examination showed high level of specimen homogeneity, cell debris was not observed. LPS of host bacteria *Pseudomonas fluorescens* BIM B-582 and BIM B-86 served as substrate in enzymatic lysis reactions. One hour incubation of bacteriophage with LPS demonstrates increase in reducing capacity (estimated as response to antioxidants with potassium hexacyanoferrate) and decrease in viscosity of reaction mixture evidencing progression of lysis process. Products of enzymatic lysis were fractionated by gel-chromatography on Sephadex G50 and TSK HW-40 columns. Elution was controlled by phenol-sulfate method.



Microphotographs of BIM BV-53 preparation (31 500 and 80 000 X)

Bacteriophage BIM BV-53 preparation displays depolymerase activity enabling to split up high molecular weight substrates into constituents.

ВЫСОКОЭФФЕКТИВНЫЕ БИОКАТАЛИЗАТОРЫ В ВИДЕ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ КЛЕТОК МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ

Ефременко Е.Н.
Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова,
119991, г. Москва, Ленинские горы, д.1, стр.3

Особую ценность в биотехнологии имеют биокатализаторы, от активности, стабильности и широты спектра конвертируемых субстратов которых зависит не только эффективность, но и

просто целесообразность реализуемых процессов. Мицелиальные грибы (МГ), благодаря своей способности синтезировать и секретировать разнообразные гидролитические ферменты, осуществляют деструкцию различных отходов, продуцируя при этом метаболиты, коммерчески значимые для различных отраслей промышленности, сельского хозяйства и экологии (органические кислоты, растворители, ферменты, липиды и др.). Иммобилизация клеток МГ позволяет технически упростить технологический процесс, создать более высокие концентрации клеток в реакторе и повысить, таким образом, продуктивность процесса, существенно увеличить операционную стабильность клеток и поднять их каталитическую активность за счёт позитивного влияния адгезионно-зависимого формирования грибного мицелия (в присутствии нерастворимого носителя) на морфологию клеток. В экспериментах в сравнении со свободными клетками продемонстрировано значительное увеличение эффективности действия клеток МГ разных родов (*Rhizopus, Aspergillus, Mucor, Trichoderma, Fusarium, Penicillium, Heleococcum*) при использовании криогеля поливинилового спирта для их иммобилизации [1–6]. Установлена возможность применения иммобилизованных МГ для очистки сточных вод различных предприятий и разной степени загрязнённости, а также продемонстрированы эффективные методы переработки отработанной биомассы иммобилизованных клеток МГ в биогаз и биодизель. Показана возможность направленной регуляции свойствами биокатализаторов на основе спор мицелиальных грибов.

[1] Современные проблемы науки и образования, 2015, № 2, с. 1–8
[2] Катализ в промышленности, 2013, Т. 5, № 2, с. 190–198
[3] Вестник Кузбасского государственного технического университета, 2013, №1, с. 111–113
[4] Catalysis in Industry, 2011, Т. 3, № 1, с. 41–46
[5] Food Technology and Biotechnology, 2008, Т. 46, № 2, с. 208–212
[6] Catalysis in Industry, 2007, № 1, с. 55–61

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ в рамках ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы» (уникальный идентификационный номер проекта RFMEFI60714X0050).

HIGHLY EFFECTIVE BIOCATALYSTS IN THE FORM OF IMMOBILIZED CELLS OF FILAMENTOUS FUNGI FOR THE APPLICATION IN BIOTECHNOLOGICAL PROCESSES

Efremenko E.N.
Chemistry Department, the M.V. Lomonosov Moscow State University
Lenin's Hilss, 1/3, Moscow, 119991, Russia

Biocatalysts compose the most important part of biotechnology since the effectiveness and even reasonability of realizing biotechnological processes depends on their activity, stability and wideness of spectrum of converted substrates. Filamentous fungi (FF) owing to their ability to synthesize and secret diverse hydrolytic enzymes can catalyze destruction of various wastes and production of metabolites with high commercial value for different areas of industry, agriculture and environment (organic acids, solvents, enzymes, lipids, etc.). Immobilization of FF cells enables the technical simplification of any process, making and maintenance of high concentrations of cells in reactor volume and thereby increase in productivity of process, significant improvement of cell stability and cell catalytic activity owing to appearance of positive effect on cell morphology created by adhesively dependent formation of fungous mycelium happening in the presence of water-non-soluble matrix

of support. In experiments, the comparison of immobilized FF cells with their suspended analogues demonstrated considerable enhancement of effective action of FF cells of various genera (*Rhizopus, Aspergillus, Mucor, Trichoderma, Fusarium, Penicillium, Heleococcum*) when cryogel of poly(vinyl alcohol) was used as a carrier for their immobilization [1–6]. The possible application of immobilized FF cells in purification waste water coming from different industrial enterprises with various degrees of muddiness was demonstrated. The effective methods of processing and conversion of spent biomass of immobilized FF cells to biogas and biodiesel were shown. The possible directed regulation of biocatalysts' properties was revealed in the experiments with immobilized spores of FF.

[1] Modern problems of Science and Education, 2015, № 2, с. 1–8
[2] Catalysis in Industry, 2013, Т. 5, № 2, с. 190–198
[3] Bul. Kuznetsk Basin State Technical University, 2013, №1, с. 111–113
[4] Catalysis in Industry, 2011, Т. 3, № 1, с. 41–46
[5] Food Technology and Biotechnology, 2008, Т. 46, № 2, с. 208–212
[6] Catalysis in Industry, 2007, № 1, с. 55–61

The investigation was financially supported by Ministry of science and education of Russian Federation in the frame of federal program «Investigations and elaborations in priority directions of developments in science and technology in Russia 2014–2020» (unique identification number of Project is RFMEFI60714X0050).

УДК 615.281: 579.84: 544.473:577.15

АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ ФЕРМЕНТЫ И СПОСОБЫ ИХ ДОСТАВКИ – АЛЬТЕРНАТИВА АНТИБИОТИКАМ

Клячко Н.Л.[1,2], **Филатова Л.Ю.**[1], **Мирошников К.А.**[3], **Легоцкий С.А.**[1], **Прийма А.Д.**[1], **Белый Т.С.**[1], **Усвалиев А.Д.**[1], **Рудаковская П.Г.**[1], **Грибановский С.Л.**[5], **Зайцева Е.А.**[1], **Белова А.Б.**[1], **Мажуга А.Г.**[1,4], **Головин Ю.И.**[1,5], **Кабанов А.В.**[1,6]

[1]*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия, 119991, Москва, ул. Ленинские горы, д. 1, стр. 11, кафедра химической энзимологии*
[2]*Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия*
[3]*Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Москва, Россия*
[4]*Национальный исследовательский университет «МИСИС», Москва, Россия*
[5]*Тамбовский государственный университет им. Г.Р. Державина, Тамбов, Россия*
[6]*University of North Carolina, Chapel Hill, NC, USA*
e-mail: nlklyachko@gmail.com

Обсуждаются свойства, особенности лизиса патогенов и возможности стабилизации ферментов бактериофагов, специфичных к стафилококку, сальмонелле и *E. coli*. Найдены подходы для повышения эффективности действия бактериолитических ферментов путем «разупорядочивания» внешней мембраны клеточных стенок грамотрицательных бактерий.

Ключевые слова: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *E. coli*, бактериофаг, антибактериальные ферменты, лизис патогенов, противомикробные препараты, наноматериалы, доставка лекарств, магнитные частицы, низкочастотное магнитное поле

Появление значительного числа патогенных «супербактерий», устойчивых к действию низкомолекулярных антибиотиков, вызывает необходимость поиска новых субстанций с антимикробным действием, лишенных недостатков традиционных антибиотиков. В частности,

особый интерес вызывает использование ферментов бактериофагов, разрушающих клеточную стенку бактерий. Обсуждены ферменты LysK бактериофага К, специфичного к стафилококку, и S 394/1, специфичного к сальмонелле и *E. coli*, их свойства, особенности лизиса патогенов, стабильность и возможности стабилизации с использованием полиэлектролитов. Возможности создания стабильных и эффективных средств борьбы с бактериальными инфекциями обсуждаются. Особенности строения клеточной стенки грамотрицательных бактерий диктуют, в частности, необходимость введения дополнительных хелперов для «разупорядочивания» внешней мембраны клетки. Один из разработанных подходов описывает введение дополнительных антибактериальных пептидов, помогающих работе антибактериального фермента. Другой подход заключается в использовании наночастиц магнетита в форме «палочек», сорбированных на клеточной стенке патогенов, «разупорядочивающих» под действием низкочастотного магнитного поля внешнюю мембрану патогенов и позволяющих антибактериальному ферменту с большей эффективностью разрушать пептидогликан клеточной стенки бактерий.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РНФ 14-13-00731 и К1-2014-022 (магнитные свойства наночастиц в форме «палочек»)

THE ANTIBACTERIAL ENZYMES AND METHODS OF DELIVERY – AN ALTERNATIVE TO ANTIBIOTICS

N.L. Klyachko[1,2], L.Yu. Filatova[1], K.A. Miroshnikov[3], S.A. Legotsky[1], A.D. Priyma[1], T.S. Belyy[1], A. Usvaliev[1], P.G. Rudakovskaya[1], S.L. Gribanovsky[5], E.A. Zaytseva[1], A.B. Belova[1], A.G. Majouga[1,4], Yu.I. Golovin[1,5], A.V. Kabanov[1,6]

[1]*Lomonosov Moscow State University, Chemical Enzymology Department, Moscow 119991, Russia*
[2]*Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia*
[3]*Shemyakin & Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Moscow, Russia*
[4]*National University of Science and Technology "MISIS" (MISIS), Moscow, Russia*
[5]*G.R. Derzhavin Tambov State University, Tambov, Russia*
[6]*University of North Carolina, Chapel Hill, NC, USA*
e-mail: nlklyachko@gmail.com

Enzymes of bacteriophages, specific towards staphylococci, Salmonella and *E. coli*, their properties, the lysis of pathogens, stability and the possibility of stabilization are discussed. Approaches have been developed to enhance the efficiency of bacteriolytic enzymes by "disordering" of outer membrane of the cell walls of Gram-negative bacteria.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *E. coli*, bacteriophage, antibacterial enzymes, pathogens lysis, antimicrobials, nanomaterials, drug delivery, magnetic nanoparticles, low-frequency magnetic field

A substantial number of pathogenic microorganisms resistant to small molecule antibiotics, causing the need for new substances with antimicrobial activity, lacking the drawbacks of traditional antibiotics. In particular, of particular interest is the use of bacteriophage enzymes that destroy bacterial cell wall. Enzymes LysK of bacteriophage K, specific towards staphylococci, and S 394/1, specific for Salmonella and *E. coli*, their properties, especially the lysis of pathogens, stability and the possibility of stabilization using polyelectrolytes are discussed. Possibilities of creating stable and effective enzyme preparations treating bacterial infections are discussed. Peculiarities of the structure of the cell wall of Gram-negative bacteria dictate, in particular, the need for additional helpers "disordering" outer cell membrane. One of the approaches developed describes the introduction of additional

antimicrobial peptides, helping the antibacterial enzyme. Another approach is the use of magnetite nanoparticles in the form of "sticks", adsorbed on the cell wall of pathogens, "disordering" under the effect of low-frequency magnetic fields the outer membrane of pathogens and allowing the antibacterial enzyme more efficiently destroy the peptidoglycan of bacterial cell wall.

The work was supported by grants RSF 14-13-00731 and K1-2014-022 (in part of magnetic measurements for nanoparticles in the form of "steaks")

УДК 543.424.2;535.016

ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ СЕНСОРЫ НА ОСНОВЕ НАНОБИОМАТЕРИАЛОВ

Курочкин И.Н.[1], **Рыжиков И.А.**[2], **Сарычев А.К.**[2], **Афанасьев К.Н.**[2], **Будашов И.А.**[1], **Еременко А.В.**[1], **Сиголаева Л.В.**[1], **Седова М.В.**[2], **Богинская И.А.**[2], **Амитонов С.В.**[1], **Коростылев Е.В.**,[2] **Лагарьков А.Н.**[2]

[1]*Химический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва, e-mail: ikur@genebee.msu.su*

[2]*Институт теоретической и прикладной электродинамики РАН, Москва, e-mail: sarychev_andrey@yahoo.com, nanocom@yandex.ru*

Рассматриваются вопросы использования новых метаматериалов и белок полимерных покрытий для создания оптических и электрохимических сенсоров

Ключевые слова: гигантское комбинационное рассеяние, метаматериалы, полиэлектролиты, слой за слоем, биосенсоры, иммуноанализ, амперометрические сенсоры.

Исследованы возможности использования нового диэлектрического метаматериала, содержащего диэлектрические и плазмонные резонаторы для целей дополнительного усиления сигнала гигантского комбинационного рассеяния и создания нового поколения сенсорных материалов. Созданный метаматериал включает в свой состав пленки диоксида церия и иммобилизованные на их поверхности плазмонные наночастицы. Достигнуто дополнительное усиление сигнала гигантского комбинационного рассеяния более чем в 200 раз. Рассмотрены вопросы применения нового материала для высокочувствительного биохимического и иммунологического анализов.

Показаны возможности использования наноразмерных частиц диоксида марганца и фермент-полиэлектролитных комплексов для создания высокочувствительных амперометрических сенсоров для определения нейротоксинов и эстераз крови.

УДК 543.424.2;535.016

HIGHLY SENSITIVE SENSORS BASED ON NANOBIOMATERIALS

Kurochkin I.N.[1], **Ryzhikov I.A.**[2], **Sarychev A.K.**[2], **Afanasiev K.N.**[2], **Budashov I.A.**[1], **Eremenko A.V.**[1], **Sigolaeva L.V.**[1], **Sedova M.V.**[2], **Boginskaya I.A.**[2], **Amitonov S.V.**[3], **Korostilev E.V.**[2], **Lagarkov A.N.**[2]

[1]*Faculty of Chemistry, Lomonosov Moscow State University, Moscow,*

[2]*Institute for Theoretical and Applied Electromagnetics, The Russian Academy of Science, Moscow*

The presentation deals with the use of new metamaterials and protein polymer coatings to create optical and electrochemical sensors

Keywords: enhanced Raman scattering, metamaterials, polyelectrolytes, layer by layer, biosensors, immunoassays, amperometric sensors.

The presentation considers the possibility of the facet structures, based on cerium dioxide for the purpose of increasing the intensity of the SERS signal. During the studies a new metamaterial was developed. The metamaterial is based on the facet cerium dioxide films and plasmonic nanoparticles that are immobilized on its surface. The new metamaterial provides additional SERS signal amplification factor more than 200. Thus developed material offers the prospect of increasing the sensitivity and selectivity of biochemical and immunological analysis.

The presentation also shows the possibility of using nano-sized particles of manganese dioxide and the enzyme-polyelectrolyte complexes for the development of highly sensitive amperometric sensors for the detection of neurotoxins and blood esterases.

УДК 577.154.2 + 542.952+ 579.22; 577.152.1

ГЕТЕРОГЕННЫЕ БИОКАТАЛИЗАТОРЫ ДЛЯ ПЕРЕЭТЕРИФИКАЦИИ ТРИГЛИЦЕРИДОВ РАСТИТЕЛЬНЫХ МАСЕЛ В ЦЕННЫЕ МАСЛОЖИРОВЫЕ ПРОДУКТЫ И БИОДИЗЕЛЬ

Коваленко Г.А.[1,2], **Перминова Л.В.**[1], **Беклемишев А.Б.**[1], **Кузнецов В.Л.**[1,2]
[1]*Институт катализа СО РАН им. Г.К. Борескова, Новосибирск, Россия*
630090, Новосибирск, пр. Акад. Лаврентьева, 5
[2]*Новосибирский государственный Университет, Новосибирск, Россия*
e-mail: galina@catalysis.ru

Гетерогенные биокатализаторы приготовлены путем включения клеточных лизатов рекомбинантного штамма rE.coli/lip, продуцирующего термостабильную липазу из *Thermomyces lanuginosus*, в наноуглерод-силикатные ксерогели. Свойства приготовленных биокатализаторов исследованы в процессах переэтерификации триглицеридов растительных масел, в том числе, в биодизель.

Ключевые слова: рекомбинантная липаза, клеточные лизаты, гетерогенные биокатализаторы, переэтерификация триглицеридов

Проведены сравнительные исследования гетерогенных биокатализаторов с активностью термостабильной липазы, приготовленных путем включения клеточных лизатов рекомбинантного штамма-продуцента r*E.coli*/lip в композитные наноуглерод-силикатные ксерогели. Свойства биокатализаторов (ферментативная активность и операционная стабильность) изучены в процессах переэтерификации триглицеридов в масложировых смесях, а также с участием тетил- или этил-ацетата в эфиры жирных кислот (биодизель).

При исследовании многокомпонентных биокатализаторов было обнаружено, что наноструктурированные формы углерода, вводимые в SiO_2-ксерогель одновременно с липазой r*E.coli*/lip, влияют на увеличение начальной конверсии (x) в реакции переэтерификации масложировых смесей при 70–75°C следующим образом: без наноуглерода (x = 41%) > агрегаты углеродных нанотрубок (УНТ)

(x = 35%) > диспергированные УНТ (x = 26%) > «нано-лук» (x = 20%), что объясняется особенностями механизма биокатализа липазой и гидрофобно-гидрофильными взаимодействиями фермента с наноуглеродным компонентом.

При изучении периодического процесса переэтерификации растительного (подсолнечного) масла с участием метил- или этилацетата при 40°C было обнаружено, что биокатализаторы стабильно работают в течение >1 000 часов.

УДК 577.154.2 + 542.952+ 579.22; 577.152.1

HETEROGENEOUS BIOCATALYSTS FOR THE CONVERSION OF VEGETABLE OILS INTO VALUABLE PRODUCTS OF TRIGLYCEFIDERS' INTERESTERIFICATION SUCH AS OIL-FAT BLENDS AND BIODIESEL

Kovalenko G.A., Perminova L.V., Beklemishev A.B., Kuznetsov V.L.
Boreskov Institute of Catalysis, Novosibirsk, Russia
630090, Novosibirsk, Av. Akad. Lavrentyeva, 5
Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia
e-mail: galina@catalysis.ru

Heterogeneous biocatalysts were prepared by entrapment of cells' lysates of recombinant strain r*E.coli*/lip producing thermostable lipase of *Thermomyces lanuginosus* inside nanocarbon-in-SiO_2-xerogel composites. Properties of the biocatalysts were studied in the reactions of triglycerides' interesterification, in particular with participation of methyl- or ethyl-acetate to biodiesel.

Keywords: thermostable lipase, heterogeneous biocatalysts, triglycerides' interesterification

Comparative investigations of the heterogeneous biocatalysts with activity of thermostable lipase are carried out. The biocatalysts are prepared by entrapment of cells' lysates of recombinant strain r*E.coli*/lip producing thermostable lipase of *Thermomyces lanuginosus* inside nanocarbon-in-SiO_2-xerogel composites. Properties of the biocatalysts such as enzymatic activity and operational stability are studied in the reactions of triglycerides' interesterification in vegetable oil-fat blends, as well as reactions with participation of methyl- or ethyl-acetate for production of the esters of fatty acids (biodiesel).

The study on the effect of the nanostructured carbon fine powders (carbon nanotubes CNTs and onion-like nanospheres) included inside silica xerogel on the biocatalysts' initial activity expressed as substrate' conversion is carried out in the periodic process of interesterification of oil-fat blends at 70–70°C. Because of enhancement of the conversion (x) the included nanocarbons can be arranged in the following order: no nanocarbon (x = 41%) > aggregated CNTs (x = 35%) > dispersed CNTs (x = 26%) > "nano-onion" (x = 20%).

It is found that prepared multicomponent biocatalysts operate in the periodic process of interesterification of sun flower oil with participation of methyl- or ethyl-acetate into biodiesel for more than 1000 h at 40°C.

УДК 577.15.08

ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ БИОСЕНСОРЫ НА ОСНОВЕ ЦИТОХРОМА P450 17A1 ДЛЯ СКРИНИНГА НОВЫХ ИНГИБИТОРОВ – ОКСАЗОЛИН-СОДЕРЖАЩИХ ПРОИЗВОДНЫХ 17(20) *E*-ПРЕГНА-5,17(20)-ДИЕНА

Кузиков А.В., Стулов С.В., Шумянцева В.В., Мишарин А.Ю., Арчаков А.И.
Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича».
alexejc@yandex.ru,
8 (499) 246-58-20
119121, г. Москва, Погодинская ул. д. 10, стр.7

Цитохромы P450 (CYP) являются белками-мишенями при разработке новых противораковых препаратов в случае гормон-зависимых онкологических заболеваний. Ингибиторы ключево-

го фермента синтеза андрогенов – CYP17A1, катализирующего 17α-гидроксилазную-17,20-лиазную реакцию, используются при лечении андроген-зависимого рака простаты. Анализ каталитической активности цитохромов P450 требует присутствия белков редокс-партнеров и доноров электронов (NADPH).Электрохимическиецитохром P450–системы, в которых электрод играет роль донора электронов, позволяют исследовать субстрат-ингибиторный потенциал P450 с высокой чувствительностью, а также рассчитывать электрокинетические параметры ферментативных реакций.

В работе с помощью электрохимических методованализа – циклической вольтамперометрии и амперометриипри контролируемом напряжении на модифицированных дидодецилдиметиламмоний бромидом печатных графитовых электродах с иммобилизованным цитохромом P450 17A1 (10^{-12}моль белка/электрод), проведеноисследование новыхоксазолин-содержащих производных 17(20)*E*-прегна-5,17(20)-диена, полученных в лаборатории синтеза физиологически активных соединений ИБМХ. Среди новых оксазолин-содержащих производных 17(20) *E*-прегна-5,17(20)-диенанайдены соединения – потенциальные ингибиторы P450 17A1 по отношению к субстрату – прегненолону.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 14-04-91337).

ELECTROCHEMICAL BIOSENSORS BASED ON CYTOCHROME P450 17A1 FOR SCREENING OF NEW INHIBITORS – OXAZOLINE-CONTAINING DERIVATIVES 17(20) *E*-PREGNA-5,17(20)-DIENE

Kuzikov A.V., Stulov S.V., Shumyantseva V.V., Misharin A.Y., Archakov A.I.
Institute of Biomedical Chemistry of the RAMS, Moscow, Russia

Cytochromes P450 (CYP) are the target proteins in the development of new anti-cancer drugs in the case of hormone-dependent tumors. Inhibitors of CYP17A1, a key enzyme in the synthesis of androgen, which catalyze 17α-hydroxylase 17,20-lyase reactions, are used in the treatment of androgen-dependent prostate cancer. Analysis of the catalytic activity of the cytochrome P450 proteins requires the presence ofprotein redox partners and an electron donor (e. g. NADPH). Electrochemical cytochrome P450 systems, where electrode serves as an electron donor, allow to investigate the substrate-inhibitory potential of the P450 with high sensitivity and to calculate the parameters of electro kinetic enzymatic reactions.

New oxazoline-containing derivatives of 17(20)*E*-pregna-5,17(20)-diene obtained in the laboratory of synthesis of physiologically active compounds of IBMC were studied by means of electrochemical methods such as cyclic voltammetry and amperometry at a controlled potential. Screen printed graphite electrodes modified with didodecyldimethylammonium bromide/cytochrome P450 17A1 (10^{-12}mole protein/electrode) were used as sensing elements of electro analysis. Based on analysis of electrochemical parameters, potential inhibitors of P450 17A1 were found among the new oxazoline-containing derivatives 17(20)*E*-pregna-5,17(20)-diene, when pregnenolone was used as substrate of this enzyme.

This work has been supported by the Russian Foundation for Basic Research (RFBR grant № 14-04-91337).

УДК 577.112.824: 615.9

ЭСТЕРАЗНЫЙ СТАТУС ОРГАНИЗМА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ И ПРОГНОЗА ДЕЙСТВИЯ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИХ ИНТОКСИКАНТОВ

Махаева Г.Ф.

Институт физиологически активных веществ РАН, Черноголовка, Россия
142432, г. Черноголовка, Московской обл., Северный проезд, 1
e-mail: gmakh@ipac.ac.ru

Обсуждается эстеразный статус организма как эффективный и информативный биомаркер интоксикаций фосфорорганическими соединениями

Ключевые слова: фосфорорганические соединения; эстеразный статус; эстеразы крови; биомаркеры.

Разработка биомаркеров воздействия фосфорорганических соединений (ФОС) на человека и их количественная оценка (квантификация) является важнейшим компонентом системы предсказания и ранней диагностики вызываемых ими заболеваний. Нами была предложена концепция «эстеразного статуса» организма как совокупности активностей эстераз крови, с которыми взаимодействуют ФОС. Это ацетилхолинэстераза (АХЭ), бутирилхолинэстераза (БХЭ), нейротоксичная эстераза (НТЭ), карбоксилэстераза (КЭ), параоксоназа (PON1). Эстеразный статус определяет в значительной степени индивидуальную чувствительность организма к ФОС и другим антихолинэстеразным соединениям и может быть использован в качестве комплексного биомаркера воздействия таких соединений. Мы полагаем, что этот комплексный биомаркер является более эффективным и информативным по сравнению с стандартным определением активностей отдельных ферментов – БХЭ плазмы, АХЭ эритроцитов и НТЭ лимфоцитов, поскольку оценка эстеразного статуса позволит сразу определить: 1) подвергался ли человек вообще воздействию ФОС, 2) оценить характер воздействия – дискриминировать острую и отставленную нейротоксичность, 3) оценить степень воздействия, что важно для последующей терапии. Проведенные эксперименты на грызунах показали, что определение эстеразного статуса позволяет улучшить возможности корректной диагностики отравлений и прогноза развития интоксикаций, вызываемых ФОС. Обсуждаются методы оценки эстеразного статуса и различные аспекты его применения для биомедицинской диагностики.

Литература

1. Makhaeva G.F., Rudakova E.V., Boltneva N.P., Sigolaeva L.V., Eremenko A.V., Kurochkin I.N., Richardson R.J.Blood Esterases as a Complex Biomarker for Exposure to Organophosphorus Compounds. In: Counteraction to Chemical and Biological Terrorism in the East Europe Countries, Eds C. Dishovsky, A. Pivovarov, Springer, 2009, pp. 177–194.

2. Makhaeva G.F., Rudakova E.V., Sigolaeva L.V.Investigation of esterase status as a complex biomarker of exposure to organophosphorus compounds. In: Toxicological Problems, Ch. Dishovsky, J. Radenkova-Saeva Eds., Military Publishing Ltd., Sofia, 2014, pp.15–26.

3. Boltneva N.P., Rudakova E.V., Sigolaeva L.V., Makhaeva G.F.Esterase Status of Various Species in Assessment of Exposure to Organophosphorus Compounds. In: Toxicological Problems, Ch. Dishovsky, J. Radenkova-Saeva Eds., Military Publishing Ltd., Sofia, 2014, pp. 27-38.

УДК 577.112.824: 615.9

ESTERASE STATUS OF ORGANISM FOR DIAGNOSTICS AND PROGNOSIS OF ACTION OF ORGANOPHOSPHORUS TOXICANTS

Makhaeva G.F.

Institute of Physiologically Active Compounds Russian Academy of Sciences, Chernogolovka, Russia
142432, Chernogolovka, Moscow Region, Severny Proezd, 1
e-mail: gmakh@ipac.ac.ru

Esterase status of an organism as the effective and informative biomarker of intoxications with organophosphorus compounds is discussed.

Key words: фосфорорганические соединения; эстеразный статус; эстеразы крови; биомаркеры. organophosphorus compounds; esterase status; blood esterases; biomarkers

Development of biomarkers of human exposures to OPCs and their quantification is a vital component of a system of prediction and early diagnostics of the induced diseases. We proposed to use the conception of organism "esterase status" as a set of blood esterases to which OPC interact: acetylcholinesterase (AChE), butyrylcholinesterase (BChE), neuropathy target esterase (NTE), carboxylesterase (CaE) and paraoxonase (PON1). Esterase status determines in a great extent the individual sensitivity to OPCs and other anticholinesterase compounds and can be used as a complex biomarker of exposure. We suggest that this complex biomarker should be more effective and informative than standard assays of plasma BChE, RBC AChE, and lymphocyte NTE. It will allow us: 1) to assess an exposure as such and to confirm the nonexposure of individuals suspected to have been exposed; 2) to determine if the exposure was to agents expected to produce acute and/or delayed neurotoxicity; 3) to perform dosimetry of the exposure, which provides valuable information for medical treatment. The performed experiments on mice demonstrated that determination of the esterase status of an organism allows one to improve the possibilities of diagnosis and prognosis of intoxications development. The methods of esterase status determination are discussed as well various aspects of its application for biomedical diagnostics.

References

4. Makhaeva G.F., Rudakova E.V., Boltneva N.P., Sigolaeva L.V., Eremenko A.V., Kurochkin I.N., Richardson R.J.Blood Esterases as a Complex Biomarker for Exposure to Organophosphorus Compounds. In: Counteraction to Chemical and Biological Terrorism in the East Europe Countries, Eds C. Dishovsky, A. Pivovarov, Springer, 2009, pp. 177–194.

5. Makhaeva G.F., Rudakova E.V., Sigolaeva L.V.Investigation of esterase status as a complex biomarker of exposure to organophosphorus compounds. In: *Toxicological Problems*, Ch. Dishovsky, J. Radenkova-Saeva Eds., Military Publishing Ltd., Sofia, 2014, pp.15–26.

6. Boltneva N.P., Rudakova E.V., Sigolaeva L.V., Makhaeva G.F.Esterase Status of Various Species in Assessment of Exposure to Organophosphorus Compounds. In: *Toxicological Problems*, Ch. Dishovsky, J. Radenkova-Saeva Eds., Military Publishing Ltd., Sofia, 2014, pp. 27-38.

УДК – 577.15.08

ИЗУЧЕНИЕ КСИЛАНОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ
GEOBACILLUSSTEAROTHERMOPHILUS 22 VKPMB-11678 **(ГОРЯЧИЙИ СТОЧНИК ГАРГА, РОССИЯ)**

РозановА.С.*, Сушенцева Н.Н., Малуп Т.К., Горячковская Т.Н., Демидова Е.В., Мещерякова И.А., Демидов Е.А., Пельтек С.Е.
Институт Цитологии и Генетики СО РАН, Новосибирск, Россиия
630090 Новосибирск, проспект Лаврентьева 10
**e-mail: sibiryak.n@gmail.com.*

Были выделены термофильные ферменты из генома *Geobacillusstearothermophilus* 22 VKPMB-11678, разрушающие гемицеллюлозные связи, и определены их свойства.

Ключевые слова: *Geobacillusstearothermophilus*, ксиланаза, ионнаяжидкость

Цель нашей работы, изучение гидролитических свойств ферментов гемицеллюлазногоко мплекса *Geobacillusstearothermophilus* 22 VKPMB-11678, выделенного из донных отложений горячего источника Гаргинский, долина реки Баргузин, Прибайкалье, Россия, и проверка их активности в присутствии ионных жидкостей. В экспрессирующие конструкции были клонированы гены ферментов: α-glucuronidase, endo-1,4-β-xylanase, xylan-1,4-β-xylosidase, andα-L-arabinofuranosidase. Энзиматические свойства ферментов были изучены при разных pH (4–8) и температурах (45–70°C).Для части ферментов были изучены их свойства в присутствии ионных жидкостей. Эта характеристика важна так как применение ионных жидкостей имеют значительный потенциал для переработки растительной биомассы.

Воздействие ионных жидкостей на ферменты разнонаправленное. Ферментативныя активность xylan-1,4-β-xylosidase возрастает в присутствии ионных жидкостей при их концентрации 5 и 10%, Рисунок 1. В то время как ферментативная активность endo-1,4-β-xylanase радикально уменьшается при концентрации ионной жидкости 5%. Это может быть вызвано как закислением среды в присутствии ионной жидкости, endo-1,4-β-xylanasedемонстрирует низкую активность при низких значенияхpH. В то время как, на повышение активности xylan-1,4-β-xylosidase могло повлиять повышение доступности субстрат и возможно изменение свойств фермента.

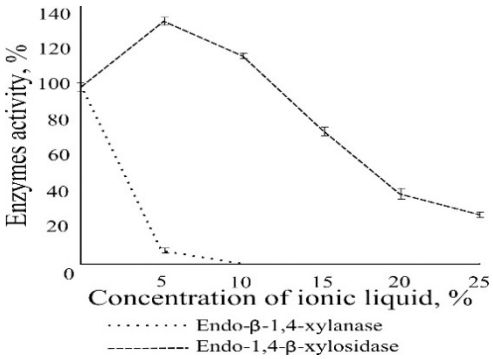


Рисунок 1. Относительная активность белка при разных концентрация ионной жидкости. За 100% взята активность при отсутствии ионных жидкостей в ферментативной реакции.

577.15.08

RESEARCH OF XYLANOLITIK PROTEINS FROM *GEOBACILLUSSTEAROTHERMOPHILUS22 VKPM B-11678* **(GARGA HOT SPRING, RUSSIA)**

Rozanov Aleksei S.*, Sushentseva Natalya N., Malup Tatiana K., Goryachkovskaya Tatiana N., Demidova Elisaveta V., Meshcheriakova Irina A., Demidov Evgeniy A., Peltek Sergey E.

Institute of Cytology & Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Science, Ave. Lavrentieva 10, Novosibirsk, Russia

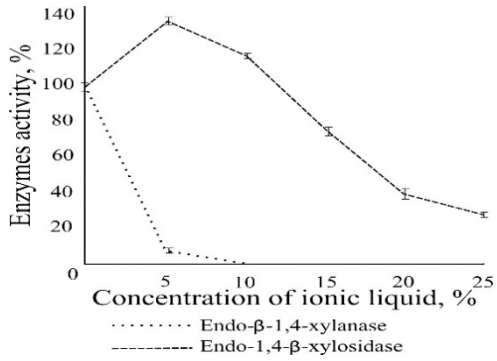
**e-mail: sibiryak.n@gmail.com.*

Thermophilichemicellulose disrupting enzymes have been isolated from the genome of *Geobacill usstearothermophilus* 22 VKPM B-11678, and determine their properties.

Keywords: *Geobacillusstearothermophilus*, xylanase, ionic liquid

The aim of this work was to study the hemicellulose complex proteins of *Geobacillusstearother mophilus22* VKPM B-11678, isolated from sediment from Garga Hot Spring, Barguzin River Valley, Baikal, Russia, for plant biomass hydrolysis, and examine their activity under highly ionic conditions. Genes encoding several thermophilicxylanases were cloned, including α-glucuronidase, endo-1,4-β-xylanase, xylan-1,4-β-xylosidase, and α-L-arabinofuranosidase. The enzymatic activities of the proteins were studied under a wide range of pH (4–8) and temperature (45–70°C) conditions. The enzymatic activitiesin ionic liquids demonstrating for two proteins were studied. This characteristic is important because the use of ionic liquids is a promising method for pretreatment of lignocellulosic biomass.

The influence of ionic liquids on enzyme activity was multidirectional. The enzymatic activity of xylan-1,4-β-xylosidase increased at ionic liquid concentrations of 5 and 10%, Figure 1. However, the enzymatic activity of endo-1,4-β-xylanase decreased in the presence of ionic liquid, even at a concentration of 5%. This may be a result of the acidification of the ionic liquid, particularly as endo-1,4-β-xylanasedemonstrated low activity at acidic pH. The reason for the high efficiency of the enzyme complex is that endo-1,4-β-xylanase significantly improves the availability of hemicellulose for xylan-1,4-β-xylosidase by eliminating hemicellulose at relatively short soluble xylooligosaccharides.



УДК 543.9

МОНО И БИФЕРМЕНТНЫЕ БИОСЕНСОРНЫЕ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ СТИМУЛ-ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ МИКРОГЕЛЕЙ

Сиголаева Л.В.[1], **Гладыр С.Ю.**[1], **Евтушенко Е.Г.**[1], **Гелиссен А.П.Х.**[2], **Мергель О.**[2], **Пергушов Д.В.**[1], **Курочкин И.Н.**[1], **Плампер Ф.А.**[2], **Рихтеринг В.**[2]

[1]*Химический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,*
Ленинские горы, 1/3, Москва, 119991, Россия
[2]*Институт физической химии II, Рейнско-Вестфальская высшая техническая школа, Университет*
г. Аахена, Аахен, D-52056, Германия
e-mail: lsigolaeva@genebee.msu.ru

Исследованы свойства моно и биферментных биосенсорных систем, сформированных в различных температурных и pH условиях путем взаимодействия биомолекул со стимул-чувствительным микрогелем, адсорбированным на проводящие поверхности.

Ключевые слова: катионный полимерный микрогель, стимул-чувствительный полимер, модификация поверхности, тирозиназа, холиноксидаза, бутирилхолинэстераза, биосенсор.

В работе исследованы способы формирования и свойства микрогель/ферментных тонких пленок нанесенных в различных температурных и pH-условиях на проводящие субстраты методом последовательной двух-стадийной адсорбции температуро-и pH-чувствительного микрогеля поли(N-изопропилакриламид-*co*-3-(N,N,-диметиламино)пропилметакриламида) (поли(НИПАМ-*co*-ДМАПМА), с последующей адсорбцией ферментов (тирозиназы, холиноксидазы и/или бутирилхолинэстеразы). При помощи (i) усиленной адсорбции поли(НИПАМ-*co*-ДМАПМА микрогеля при T>VPTT (температуры фазового перехода, сопровождающегося изменением объема) и (ii) последующей адсорбции фермента по принципу всасывания губкой при T<VPTT, можно достичь значительного увеличения чувствительности биосенсоров для анализа фенола (в случае иммобилизованной тирозиназы) или холина (в случае иммобилизованной холиноксидазы). Данный способ адсорбции ферментов зависит от размера белковой глобулы и позволяет в одну стадию получить биферментные системы с пространственно разделенными иммобилизованными ферментами, что показано на примере биферментной системы холиноксидаза/бутирилхолинэстераза.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ 14-08-01108 и DFG в рамках SFB 985.

УДК 543.9

MONO AND BIENZYMATIC BIOSENSOR SYSTEMS BASED ON STIMULI-SENSITIVE MICROGELS

Sigolaeva L.V.[1], Gladyr S.Yu.[1], Evtushenko E.G.[1], Gelissen A.P.H.[2], Mergel O.[2], Pergushov D.V.[1], Kurochkin I.N.[1], Plamper F.A.[2], Richtering W.[2]

[1]*Chemistry Department of M.V. Lomonosov Moscow State University*
Leninskie Gory 1/3, Moscow, 119991, Russia
[2]*IPF II, RWTH University of Aachen, D-52056, Aachen, Germany*
e-mail: lsigolaeva@genebee.msu.ru

The fabrication regimes and properties of microgel/enzyme thin films formed at conductive substrates via two-steps, sequential adsorption of temperature- and pH-sensitive microgel were examined.

Keywords: cationic copolymer microgel, stimuli-sensitive polymer, surface modification, tyrosinase, choline oxidase, butyrylcholinesterase, biosensor

The fabrication regimes and properties of microgel/enzyme thin films were examined which formed at conductive substrates via two-steps, sequential adsorption of a both temperature- and pH-sensitive microgel poly(N-isopropylacrylamide-*co*-3-(N,N,-dimethyl amino)propylmethacrylamide) (poly(NIPAM-*co*-DMAPMA), followed by enzyme (tyrosinase, choline oxidase and/or butyrylcholinesterase) adsorption under different pH and temperature regimes. By temperature-induced stimulating both (i) poly(NIPAM-*co*-DMAPMA) microgel adsorption at T>VPTT (volume phase transition temperature) and (ii) following sponge-like enzyme loading at T<VPTT, we can achieve increased biosensor sensitivities for phenol (system with immobilized tyrosinase) and for choline (system with immobilized choline oxidase). Since sponge-like approach to enzyme adsorption was found to be dependent on the molecular weight (globule size) of the enzyme, the bienzymatic systems with spatially separated enzymes was prepared in one-step as was demonstrated for the system with co-immobilized choline oxidase/butyrylcholinesterase.

Supported by the DFG within SFB 985 "Funktionelle Microgele und Mikrogelsysteme" and the RFBR 14-08-01108.

СИНТЕЗ НАНОКОМПОЗИТА НА ОСНОВЕ ЭЛЕКТРОПРОВОДЯЩЕГО ПОЛИАНИЛИНА И УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБОК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЛАККЗА-МЕДИАТОРНОЙ СИСТЕМЫ И РАЗРАБОТКА НА ЕГО ОСНОВЕ ГИБКОГО ТОНКОГО СУПЕРКОНДЕНСАТОРА

Ярополов А.И., Шумакович Г.П., Хлупова М.Е., Васильева И.С., Морозова О.В.
ИНБИ РАН, Ленинский пр-кт, д. 33, стр. 2, 119071 Москва

Лакказа-медиаторная система на основе октоцианомолибдата (4+) калия была использована для ускорения реакции полимеризации анилина. Предложенный подход является экологически приемлемым, кинетически контролируемым и позволяет получать электропроводящий полимер с улучшенными физико-химическими свойствами. Проведено сравнение образцов полианилина, полученных с использованием одной лакказы и лакказа-медиаторной системы методами УФ-видимой, ИК-спектроскопии с прелбразованием Фурье, просвечивающей электронной микроскопии и масс-спектрометрии. Методом *in situ* синтезирован нанокомпозит полианилин/карбоксилированные многостенные углеродные нанотрубки (ПАНИ/МУНТ) с использованием

лакказа-медиаторной системы. Полученный нанокомпозит был использован в качестве электрохимически активного материала электродов гибкого тонкого симметричного суперконденсатора. Электрохимическая емкость ферментативно синтезированного композита состояла из электрической емкости двойного электрического слоя и псевдоемкости электропроводящего полианилина. Удельная емкость композита ПАНИ/МУНТ, измеренная методом циклической вольтамперметрии при скорости развертки потенциала 5 мВ/с, составляла ~440 Ф/г. Изготовленный суперконденсатор имел следующие характеристики: толщина 300–400 мкм, плотность энергии 25,3 кДж/кг, плотность мощности 5,2 кВт/кг.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №15-08-00142.

LACCASE – MEDIATOR SYNTHESIS OF NANOCOMPOSITE BASED ON CONDUCTING POLYANILINE AND CARBON NANOTUBES AND ITS APPLICATION FOR THIN AND FLEXIBLE SUPERCAPACOTOR DEVELOPMENT

Yaropolov A.I., Shumakovich G.P., Khlupova M.E., Vasil'eva I.S., Morozova O.V.
A.N. Bach Institute of Biochemistry of the Russian Academy of Sciences
Leninsky pr. 33-2, 119071 Moscow, Russia

Laccase-mediator system based on potassium octocyanomolybdate (4+) was used for acceleration of the enzymatic aniline polymerization. The proposed approach is environmentally benign, permit a higher degree of control oven the kinetic of the reaction and, hence, the synthesis of a conducting polymer with improved physicochemical properties. The characterization of the polymer obtained by either a laccase-catalyzed method or a laccase-mediator method was carried out using UV-vis, FTIR spectroscopies, TEM investigation and the MALDI TOF mass spectrometry. The conducting polyaniline/carboxylic acid functionalized multiwalled carbon nanotubes (PANI/MWCNT) nanocomposite has been synthesized by in situ enzymatic oxidative polymerization of aniline monomer using laccase-mediator system. The obtained PANI/fMWCNT composite was used as electroactive material for thin and flexible electrodes of high performance symmetric supercapacitor. The electrochemical capacitance of the enzymatically synthesized composite consists of an electrical double layer capacitance as well as pseudocapacitance of conducting polyaniline. The specific capacitance of the obtained PANI/MWCNT composite was about 440 F/g measured by cyclic voltammetry at potential scan rate of 5 mV/s. The overall thickness of the device can variated from 300 to 400 μm. The supercapacitor show energy density and power density approximately of 25,3 kJ/kg and 5,2 kW/kg, respectively.

The supercapacitor made had the following characteristics: thickness of 300–400 microns, the energy density of 25.3 kJ/kg, a power density of 5.2 kW/kg.

The reported study was partially supported by RFBR, research project No. 15-08-00142.

ПОСТЕРЫ
POSTERS

УДК 541.64:662.728

ИММОБИЛИЗАЦИЯ ХИМОТРИПСИНА НА НАНОЧАСТИЦАХ: СИНТЕЗ, СПЕКТРАЛЬНЫЕ И РАЗМЕРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ; ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ НАНОКОМПОЗИТОВ

Боровикова Л.Н.[1], **Титова А.В.**[1], **Писарев О.А.**[1,2]

[1]*Российская академия наук, Институт высокомолекулярных соединений РАН, Санкт-Петербург, Россия, 199004, Санкт-Петербург, Большой просп. В.О., 31*

[2]*Санкт-Петербургский Государственный Политехнический Университет, Санкт-Петербург, Россия, 195251, Санкт-Петербург, Политехническая ул., 29*

diadora3@mail.ru

Предложен метод иммобилизации протеолитического фермента – химотрипсина на наночастицах селена и серебра. Показано, что условия синтеза нанокомпозитов влияют на их размерные и спектральные характеристики. Модифицированным методом Кунитца показано, что иммобилизация химотрипсина на наночастицах приводит в изменению его протеолитической активности.

Ключевые слова: наночастицы, иммобилизация, активность, фермент, конформация

С целью иммобилизации ферментов на наночастицах металлов и неметаллов синтезированы нанокомпозиты селена и серебра с химотрипсином (ХТ). Синтез проводили с использованием окислительно-восстановительных реакций в присутствии химотрипсина. Увеличение температуры синтеза приводило к сдвигу максимума оптической плотности в длинноволновую область при 4 оС – 256 нм; при 20°С – 270 нм; при 37°С – 285 нм. Это свидетельствовало о росте частиц (по данным динамического светорассеяния 28, 33, 38 нм, соответственно). Для нанокомплексов Ag+ХТ установлена оптимальная температура синтеза 4оС (размер 90 нм). Максимальную ферментативную активность проявляли системы с содержанием Ag/ХТ (0,001 масс.%/0,1 масс.%) и Se/ХТ (0,01 масс.%/0,01 масс.%), причем в слабокислой (pH 5,5) и щелочной среде (pH от 8 до 10,5) величина активности больше, чем у нативного фермента.

Таким образом, развитая поверхность наночастицы увеличивала вероятность контакта молекулы субстрата с иммобилизованным ферментом на поверхности наночастицы. Кроме того, распределение активных центров фермента на поверхности наночастицы приводило к образованию своеобразного «микрореактора», что, также способствовало увеличению относительной ферментативной активности нанокомпозита.

УДК 541.64:662.728

IMMOBILIZATION OF CHYMOTRYPSIN ON NANOPARTICLES: SYNTHESIS, SPECTRAL AND DIMENSIONAL FEATURES; FERMENTATION ACTIVITY OF NANO-COMPLEXES

Borovikova L.N.[1], **Titova A.V.**[1], **Pisarev O.A.**[1,2]
[1]*Institute of macromolecular compound of Russian Academy of Science, Saint-Petersburg, Russia, 199004, Saint-Petersburg, V.O. Bolshoi pr., 31*
[2]*Saint-Petersburg State Polytechnic University, Saint-Petersburg, Russia, 195251, Saint-Petersburg, Polytechnicheskaya str., 29*
diadora3@mail.ru

A method of immobilization of proteolytic enzyme, on the nanoparticles of selenium and silver is proposed. It has been demonstrated that nano-composites synthesis conditions make effect on their dimensional and spectral features. It has been demonstrated by modified Kunitz method that immobilization of chymotrypsin on nanoparticles has resulted in its proteolytic activity.

Keywords: nanoparticles, immobilization, activity, enzyme, conformation.

Nano-complexes of selenium and silver with chymotrypsin (ChT) were obtained with the purpose of immobilization of the enzymes on metal and non-metal nanoparticles. The synthesis was carried out by means of oxidation-reduction reactions in presence of ChT. Increase of the synthesis temperature has resulted in shift of the optical density maximum to the long-wavelength zone: 256 nm at 4°C; 270 nm at 20°C; and 285 nm at 37 oC. This fact testified the growth of the particles (according to the data of dynamic light scattering a radius of the particles was equal to 28, 33 and 38 nm correspondingly). Optimal synthesis temperature equal to 4oC (size of 90 nm) has been determined for Ag+ChT nano-complexes. Maximal enzyme activity was shown by the systems with the content of Ag/ChT (0.0001 mass %/0.1 mass %) and Se/ChT (0.01 mass %/0.01 mass %), wherein in a weakly acidic (pH 5.5) and alkaline medium (pH from 8 to 10.5), the activity was greater than that of the native enzyme.

Thus, the developed surface of the nanoparticle increased the probability of contact of the substrate molecule with the immobilized enzyme on the nanoparticle surface. Moreover, the distribution of the active centers of the enzyme on the nanoparticle surface has resulted in formation of a kind of “microreactor” that also contributed to the increase of relative enzymatic activity of the nanocomplex as well.

УДК 577.151.45

ПОЛИСАХАРИДМОНООКСИГЕНАЗЫ *THIELAVIA TERRESTRIS* И *TRICHODERMA REESEI* И ИХ РОЛЬ В ФЕРМЕНТАТИВНОЙ ДЕГРАДАЦИИ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ

Булахов А.Г., Гусаков А.В.
Институт биохимии им А.Н. Баха РАН, лаборатория биотехнологии ферментов, Ленинский проспект 33, Москва, Россия, 119071.
alexbulakhov@yahoo.com

Выделены две грибные полисахаридмонооксигеназы (ПМО) и изучено их влияние на гидролиз целлюлозы под действием полиферментной системы гриба *Penicillium verruculosum*. Показано, что добавка ПМО к целлюлазному комплексу увеличивает эффективность его действия до 23%.

Ключевые слова: целлюлазный комплекс, полисахаридмонооксигеназа, ферментативная деструкция целлюлозы

Металлозависимые полисахаридмонооксигеназы (ПМО) – новый класс ферментов, принимающих участие в ферментативной деградации целлюлозы под действием полиферментных систем микроскопических грибов. ПМО, действующие на целлюлозу, относятся к семье AA9 вспомогательных активностей (Auxiliary Activity Family 9). Целью данной работы явилось выяснение влияния ПМО на эффективность гидролиза целлюлозосодержащих субстратов под действием целлюлазного комплекса.

Две рекомбинантные ПМО из *Thielavia terrestris* и *Trichoderma reesei* были выделены в гомогенном виде и идентифицированы методом времяпролетной МАЛДИ масс-спектрометрии. В качестве субстратов использовали микрокристаллическую целлюлозу (МКЦ) и измельченную осиновую древесину (100 г/л). Ферментативный гидролиз целлюлозы проводили под действием целлюлазного комплекса гриба *Penicillium verruculosum* в отсутствие или в присутствии очищенных ПМО (10% от общей дозы ферментов по белку) при pH 5,0 и 50°C в течение 48 ч. В качестве донора электронов, необходимого для проявления активности ПМО, использовали 5 мМ галлиевую кислоту.

В результате исследования было выяснено, что добавка ПМО к целлюлазному комплексу увеличивает выход восстанавливающих сахаров при гидролизе осиновой древесины на 5-13%, а при гидролизе МКЦ на 16-23%; при этом концентрация сахаров через 48 ч достигала 40 г/л. Таким образом, был обнаружен синергизм между ПМО и целлюлазами, а также показана существенная роль ПМО в ферментативной деструкции целлюлозы, что имеет важное прикладное значение при разработке ферментных препаратов для ферментативной конверсии целлюлозосодержащего сырья в различные полезные продукты.

UDK 577.151.45

POLYSACCHARIDE MONOOXYGENASES *THIELAVIA TERRESTRIS* AND *TRICHODERMA REESEI* AND THEIR ROLE IN THE ENZYMATIC DEGRADATION OF CELLULOSE

Bulakhov A.G., Gusakov A.V.
A.N. Bach Institute of Biochemistry RAS, Laboratory of Enzyme Biotechnology, Leninsky prospect 33, Moscow 119071, Russian Federation
alexbulakhov@yahoo.com

Two fungal polysaccharide monooxygenases (PMO) were isolated. Their influence on cellulose hydrolysis by multienzyme system of the fungus *Penicillium verruculosum* was studied. It was shown that the addition of PMO to the cellulase complex boosts its efficiency for up to 23%.

Keywords: cellulase complex, polysaccharide monooxygenase, enzymatic degradation of cellulose

Metal-dependent polysaccharide monooxygenases (PMO) represent a new class of enzymes involved in biodegradation of cellulose by multienzyme systems of fungi. PMOs acting on cellulose belong to Auxiliary Activity Family 9 (AA9). The aim of this research was a study of the influence of PMOs on hydrolysis of cellulosic substrates catalyzed by a cellulase complex.

Two recombinant PMOs from *Thielavia terrestris* and *Trichoderma reesei* were isolated in homogeneous form. The proteins were identified by MALDI-TOF mass spectrometry. Avicel and milled aspen wood (100 g/l) were used as substrates in the studies. Enzymatic hydrolysis of cellulosic materials was carried out using a cellulase complex of the fungus *Penicillium verruculosum* in the absence or with an addition of PMO. The content of PMO in the reaction system was 10% of the overall protein loading. The hydrolysis was carried out for 48 h at pH 5.0 and 50°C. Gallic acid (5 mM) was used as the donor of electrons, essential for PMO's activity.

As a result of the research, it was found out that the addition of PMO to the cellulase complex boosts the yield of reducing sugars (RS) in aspen wood hydrolysis by 5-13%, while in the case of Avicel the increase in the RS yield was 16-23%, the concentration of RS reaching 40 g/l after 48 h of the enzymatic reaction. Thus, a synergism between PMO and cellulases was revealed, demonstrating an important role of PMOs in the process of cellulose biodegradation. So, PMOs may find practical applications in development of multienzyme cocktails for plant biomass conversion to various useful products.

УДК 577.15, 663.15

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РОЛИ N-ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЯ В ПРОЯВЛЕНИИ КАТАЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЦЕЛЛОБИОГИДРОЛАЗЫ I *PENICILLIUM VERRUCULOSUM* МЕТОДОМ САЙТ-НАПРАВЛЕННОГО МУТАГЕНЕЗА

Доценко А.С.[1,2], **Волков П.В.**[2], **Рожкова А.М.**[1,2], **Гусаков А.В.**[1]
[1]*Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова, Москва*
[2]*Институт Биохимии имени А.Н. Баха РАН, Москва*
E-mail: ansdotsenko@gmail.com, amrojkova@yahoo.com

Целлюлазы (в том числе целлобиогидролазы) являются основными компонентами ферментных комплексов, используемых в процессах биотрансформации растительного сырья. Было продемонстрировано значительное увеличение гидролитической активности целлобиогидролазы I *Penicillium verruculosum* в результате мутирования сайтов N-гликозилирования.

Ключевые слова: целлобиогидролаза, N-гликозилирование, сайт-направленный мутагенез

Ключевой стадией в процессах биотрансформации растительного сырья является гидролиз кристаллических участков в составе микрофибрилл целлюлозы, поэтому исследование ферментов, катализирующих гидролиз кристаллической целлюлозы, в частности целлобиогидролаз, представляется перспективным. Известно, что каталитическая активность целлюлаз зависит от степени N-гликозилирования [1]. Поэтому мутагенез сайтов

N-гликозилирования может являться перспективным направлением увеличения активности целлобиогидролаз и оптимизации процессов биотрансформации сырья.

Мицелиальный гриб *Penicillium verruculosum* является промышленным продуцентом целлюлаз, в том числе целлобиогидролазы I (ЦБГI) [2]. Из трех осуществленных мутаций N70A, N413A и N455A (методом сайт-направленного мутагенеза остаток аспарагина в составе сайтов N-гликозилирования N-X-S/T был заменен на остаток аланина) положительной оказалась мутация N70A. При гидролизе микрокристаллической целлюлозы под действием ЦБГI N70A выход глюкозы через 48 ч на 30% больше по сравнению с немутантной формой, а при гидролизе измельченной древесины осины – больше на 60%.

Работа выполнена при поддержке РФФИ 14–04–00724.

Библиографический список

1. Beckham G.T., Dai Z., Matthews J.F., Momany M., Payne C.M., Adney W.S., Baker S.E., Himmel M.E.Harnessing glycosylation to improve cellulase activity // Curr. Opin. Biotech. 2012. Vol. 23. № 3. P. 338–345.

2. Чекушина А.В., Доценко Г.С., Кондратьева Е.Г., Синицын А.П.Ферментные препараты Penicillium verruculosum для биоконверсии растительного сырья – альтернатива коммерческим препаратам, полученным с помощью грибов рода Trichoderma // Биотехнология. – 2013. – № 3. – С.69-80.

THE ROLE OF N-LINKED GLYCOSYLATION IN THE CATALYTIC ACTIVITY OF CELLOBIOHYDROLASE I *PENICILLIUM VERRUCULOSUM*

Dotsenko A.S.[1,2], **Volkov P.V.**[2], **Rozhkova A.M.**[1,2], **Gusakov A.V.**[1]
[1]*M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow*
[2]*A.N. Bach Institute of Biochemistry RAS, Moscow*
E-mail: ansdotsenko@gmail.com, amrojkova@yahoo.com

Cellulases are the major components of enzyme complexes used in processes of biotransformation of lignocellulosic materials. Site-directed mutagenesis of N-linked glycosylation sites seems an actual method for enzyme activity increasing and thus optimizing the processes of biotransformation. A significant increase of hydrolytic activity of cellobiohydrolase I *Penicillium verruculosum* resulted from site-directed mutagenesis of N-linked glycosylation sites was demonstrated towards microcrystalline cellulose as a model substrate and aspen wood as a natural substrate.

Keywords: biotechnology, cellobiohydrolase, Penicillium, N-linked glycosylation, site-directed mutagenesis, catalytic activity

Cellulose and hemicelluloses are the major components of plant cell walls. A key stage in the processes of biotransformation of plant raw materials is the hydrolysis of crystalline areas of cellulose within microfibers, therefore investigation of enzymes that catalyze the hydrolysis of crystalline cellulose, in particular cellobiohydrolase, appears promising and perspective. It is known that the catalytic activity of cellulases depends on the degree of glycosylation [1], that makes determination of the role of N-linked glycosylation an actual method for increasing of cellobiohydrolases activity and optimizing the processes of biotransformation.

The filamentous fungus *Penicillium verruculosum* is an industrial producer of enzymes of cellulolytic complex, including cellobiohydrolase I (CBHI) – one of the key enzymes of the complex [2]. Three mutations were performed in the structure of the CBHI globule: N70A, N413A and N455A (an asparagine residue in N-linked glycosylation sites N-X-S/T was replaced by an alanine residue using site-directed mutagenesis), only the mutation N70A appeared positive. A significant increase of CBHI hydrolytic activity was demonstrated towards microcrystalline cellulose (MCC) as a model substrate and pretreated aspen wood as a natural substrate. In case of MCC the glucose yield after 48-h hydrolysis under the action of CBHI N70A is 30% more, and in case of pretreated aspen wood – is 60% more compared to the mature CBHI.

The research was supported by RFBR 14–04–00724.

Bibliography

1. Beckham G.T., Dai Z., Matthews J.F., Momany M., Payne C.M., Adney W.S., Baker S.E., Himmel M.E.Harnessing glycosylation to improve cellulase activity // Curr. Opin. Biotech. 2012. Vol. 23. № 3. P. 338–345.

2. Чекушина А.В., Доценко Г.С., Кондратьева Е.Г., Синицын А.П.Ферментные препараты *Penicillium verruculosum* для биоконверсии растительного сырья – альтернатива коммерческим препаратам, полученным с помощью грибов рода Trichoderma // Биотехнология. – 2013. – № 3. – С.69-80.

УДК 543.9:663:664

ИНКАПСУЛИРОВАННЫЕ В ОРГАНОСИЛИКАТНЫЕ ПОЛИМЕРЫ МЕТИЛОТРОФНЫЕ ДРОЖЖИ КАК ОСНОВА БИОФИЛЬТРА ДЛЯ ОЧИСТКИ МЕТАНОЛСОДЕРЖАЩИХ СТОКОВ

Федосеева Д.Г., Каманина О.А., Понаморева О.Н.
Тульский государственный университет, Тула, Россия
300012, г. Тула, пр. Ленина, 92
e-mail: d.g.fedoseeva@gmail.com

Разработаны подходы для получения биофильтров на основе инкапсулированных золь-гель методом микроорганизмов. Применение биофильтров позволяет утилизировать метанолсодержащие стоки с более высокой исходной концентрацией метанола.

Ключевые слова: золь-гель метод, инкапсулированные микроорганизмы, биофильтры, очистка сточных вод, метанолсодержащие стоки.

Биологическая очистка сточных вод промышленных предприятий применяется для удаления растворенных органических загрязнений, одним из таких компонентов которых является метанол. В современных технологиях для решений этих целей используют биофильтры на основе иммобилизованных золь-гель методом микроорганизмов.

В работе изучали возможности использования гетерогенного биокатализатора на основе инкапсулированных в органосиликатные полимеры метилотрофных дрожжей *Ogataea polymorpha* ВКМ Y-2559 как биофильтра для утилизации метанолсодержащих стоков.

По истечению 19 суток в условиях статического режима доля переработанного метанола составила 84% от исходного количества равного 0,06 моль/дм^3 (площадь рабочей поверхности фильтра составляет 2,058•10^{-3} м^2, объем стока 0,01 дм^3). Для очистки метанолсодержащих стоков в динамическом режиме использовали колонну, заполненную стеклянными шариками диаметром 3,3 ± 0,3мм, покрытых гетерогенным биокатализатором (диаметр колонны 0,7 см, длина 15 см). Наибольшая степень переработки метанола (57%) наблюдается при скорости пропускания раствора 0,1 см^3/мин. Улучшить показатели колонны возможно с помощью изменения ее параметров – длины, ширины, количества неподвижной фазы.

Важно отметиться, что исходная концентрация метанола в стоке, допустимая при биологической очистке – 10 ммоль/дм^3. При использовании метилотрофных с защитной органосиликатной оболочкой для утилизации метанолсодержащих стоков максимально допустимая исходная концентрация метанола в стоке составляет 30 ммоль/дм^3. Таким образом, биофильтры на основе инкапсулированных в органосиликатные полимеры клеток дрожжей является перспективным элементом для систем очистки сточных вод, содержащих метанол.

Работа выполнена при поддержке ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы», соглашение № 14.574.21.0062 и Госзадания Минобранауки России, № 2014/227.

UDC 543.9: 663: 664

THE METHYLOTROPHIC YEAST ENCAPSULATED OF ORGANOSILICATE POLYMERS AS A BASIS FOR CLEANING BIOFILTER METHANOL-DRAINS

Fedoseeva D.G., Kamanina O.A., Ponamoreva O.N.
Tula State University, Tula, Russia
300012, Tula, pr. Lenina 92
e-mail: d.g.fedoseeva@gmail.com

Approaches for biofilters based on sol-gel encapsulated by microorganisms. The use of biofilters allows utilization of the methanol drains with a higher initial concentration of methanol.

Keywords: sol-gel method, encapsulated microorganisms, biofilters, waste water treatment, methanol-containing drains.

Biological wastewater treatment, industrial enterprises used to remove dissolved organic contaminants, one of these components which is methanol. In today's technology to solve these purposes biofilters based on immobilized sol-gel method microorganisms.

This paper investigates the possibility of using heterogeneous biocatalyst based on organosilicate polymers encapsulated in methylotrophic yeast *Ogataea polymorpha* VKM Y-2559 as a biofilter for recycling the methanol drains.

At the expiration of 19 days in a static mode share of recycled methanol was 84% of the initial amount equal to 0.06 mol/dm^3 (effective surface area of the filter is 2,058 • 10^{-3} m^2, volume flow 0.01 dm^3). To the methanol effluent purification in a dynamic mode using a column packed with glass beads of 0.3 mm diameter 3,3 ± 0,3 coated heterogeneous biocatalyst (column diameter 0.7 cm, length 15 cm). The greatest degree of processing of methanol (57%) is observed at a flow rate of solution of 0.1 cm^3/min. Improve the performance of the column is possible by changing its parameters – the length, width, number of stationary phase.

It is important to note that the initial methanol concentration in the effluent, the allowable biological treatments – 10 mmol/dm^3. When using methylotrophic with a protective shell for the disposal of organosilicate methanol-containing wastewater maximum allowable initial methanol concentration in the effluent is 30 mmol/dm^3. Thus, based biofilters are encapsulated in yeast cells organosilicate polymer element is a promising treatment systems for wastewater containing methanol.

This work was supported by the Federal Target Program "Research and development on priority directions of scientific-technological complex of Russia for 2014–2020 years" agreement № 14.574.21.0062 and state task of the Ministry of Education and Science of Russia, № 2014/227.

УДК 543.9:663:664

ОБРАЗОВАНИЕ ОРГАНОСИЛИКАТНЫХ КАПСУЛ ВОКРУГ ЖИВЫХ КЛЕТОК ДРОЖЖЕЙ КАК СПОСОБ ОБЕСПЕЧЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ К ПОВРЕЖДАЮЩИМ ФАКТОРАМ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Каманина О.А., Бурмистрова Т.В., Понаморева О.Н.
Тульский государственный университет
Тула, Россия
e-mail: o.a.kamanina@gmail.com

Золь-гель методом получены гетерогенные биокатализаторы на основе инкапсулированных в органосиликатные матрицы метилотрофных дрожжей. Показаны защитные свойства образующихся капсул вокруг микроорганизмов.

Ключевые слова: золь-гель метод, инкапсулирование микроорганизмов, гетерогенный биокатализатор

В процессе эволюции природных систем живые организмы развивают различные минерализованные структуры. Примерами таких структур являются силикатные оболочки диатомовых водорослей. Важнейшая функция таких систем – защита организмов и генетического материала своего вида от неблагоприятных условий. Нами было показано, что возможно образование органосиликатных капсул вокруг живых клеток метилотрофных дрожжей *Ogataea polymorpha* ВКМ Y-2559 золь-гель методом, используя кремнийорганические прекурсоры (тетраэтоксисилан и метилтриэтоксисилан) и полиэтиленгликоль. Защитную функцию ограносиликатных оболочек оценивали по изменению дыхательной активности инкапсулированных микроорганизмов и дрожжей без защитной оболочки под действием повреждающих факторов окружающей среды (соединения тяжелых металлов и УФ-излучение). Дыхательную активность инкапсулированных дрожжей, покрытых органосиликатной оболочкой, практически не зависит от присутствия токсикантов и УФ-облучения (λ=254 нм, 5ч), в то время как дыхание не инкапсулированных микроорганизмов снижается в несколько раз. Эти результаты указывают на беспрецедентные защитные функции органосиликатной капсулы, что следует учитывать при разработке гетерогенных биокатализаторов на основе иммобилизованных микроорганизмов.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России ГЗ №2014/227.

FORMATION OF ORGANOSILICATE CAPSULES AROUND YEAST CELLS AS A WAY TO INCREASE THEIR RESISTANCE TO DAMAGING ENVIRONMENTAL FACTORS

Kamanina O.A., Burmistrova T.V., Ponamoreva O.N.
Tula State University
Tula, Russia
e-mail: o.a.kamanina@gmail.com

The heterogeneous biocatalysts based on methylotrophic yeast encapsulated in organosilicate matrix were obtained by sol-gel method. The protective properties of capsule around microorganisms were shown.

Keywords: sol-gel matrix, encapsulation of microorganisms, heterogeneous biocatalyst

Organisms develop various mineralized structures during the evolution of the natural systems. Examples of such structures are silicate shells of diatoms. The most important function of these sys-

tems is protection of the genetic material of organisms and their species from adverse conditions. We have shown that the capsules can be formed around the organosilicate living cells of methylotrophic yeast *Ogataea polymorpha* VKM Y-2559 by sol-gel method using organosilane precursors (tetraethoxysilane and methyltriethoxysilane) and polyethylene glycol. Protective function of ogranosilicate membranes was assessed by change in respiratory activity of encapsulated microorganisms and yeast without the protective shell under the action of damaging environmental factors (heavy metals and UV radiation). Respiratory activity of the organosilicate coated yeast is almost independent of the presence of toxins and UV irradiation (λ = 254 nm, 5h), whereas respiration of non-encapsulated microorganisms is reduced by several times. These results indicate unprecedented protective function of organosilicate capsules that should be considered in the development of heterogeneous biocatalysts based on immobilized microorganisms.

This work was supported by the Russian Ministry GB №2014 / 227.

ОРИЕНТИРОВАННАЯ ИММОБИЛИЗАЦИЯ ФРАГМЕНТОВ АНТИТЕЛ НА ПОВЕРХНОСТИ КРЕМНИЕВЫХ МИКРОЧИПОВ, МОДИФИЦИРОВАННЫХ НАНОЧАСТИЦАМИ ЗОЛОТА, ДЛЯ СОЗДАНИЯ НАНОСЕНСОРОВ

Преснова Г.В.[1], Преснов Д.Е.[2,3], Григоренко В.Г.[1], Егоров А.М.[1], Рубцова М.Ю.[1]
[1]*Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва*
[2]*НИИ Ядерной Физики им. Д.В. Скобельцына, МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва*
[3]*Физический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва*

С целью создания наносенсоров исследовали различные способы ковалентной иммобилизации антител и их фрагментов на поверхности кремния. В качестве модельных антигенов использовали простат-специфический антитен (ПСА) и белок, связывающий жирные кислоты (БСЖК), которые являются молекулярными маркерами рака предстательной железы и инфаркта миокарда. В работе изучали образование «сэндвич» комплексов антител с антигеном, состоящих из молекулы иммобилизованного антитела, молекулы антигена и молекулы антител второго типа, направленных к другой антигенной детерминанте. В качестве метки вторых антител использовались наночастицы золота размером 25 нм, которые регистрировали на поверхности кремния методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). Разработан новый метод ориентированной иммобилизации фрагментов антител на кремнии, модифицированном 3-глицидопропилтриметоксисилана с тиоловыми группами (ГОПС-SH) и наночастицами золота небольшого диаметра (4–6 нм). Проведен сравнительный анализ различных методов иммобилизации и различных методов выявления иммунных комплексов на поверхности кремния. В процессе работы выбраны способы иммобилизации антител, обеспечивающие наиболее высокую плотность активных центров антител на поверхности. Для количественного определения белков-биомаркеров предложено определять плотность наночастиц золота на носителе. Разработан алгоритм подсчета наночастиц-меток в присутствии мелких наночастиц золота, использованных для иммобилизации фрагментов антител.

Работа выполнялась при финансовой поддержке РФФИ (13-04-01137).

ORIENTED IMMOBILIZATION OF ANTIBODY FRAGMENTS ON THE SURFACE OF SILICON MICROCHIPS MODIFIED WITH GOLD NANOPARTICLES FOR THE DEVELOPMENT OF NANOSENSORS

Presnova G.V.[1], Presnov D.E.[2,3], Grigorenko V.G.[1], Egorov A.M.[1], Rubtsova M.Yu.[1]
[1]*Chemistry Faculty, M.V.Lomonosov Moscow State University, Moscow*
[2]*Skobeltsyn Institute of Nuclear Physics, M.V.Lomonosov Moscow State University, Moscow*
[3]*Faculty of Physics, M.V.Lomonosov Moscow State University, Moscow*

In order to develop nanosensors various methods for covalent immobilization of antibodies and their fragments on the surface of silicon were investigated. Two proteins were used as model antigens: prostate specific antiten (PSA) and fatty acid-binding protein (FABP) which are molecular markers of prostate cancer and myocardial infarction. The formation of a “sandwich” antigen-antibody complexes composed of immobilized antibody molecule, antigen molecule and second antibody molecule, directed to a different antigenic determinant, were studied. Gold nanoparticles of 25 nm were used as labels for second antibodies. They were detected on a silicon surface by scanning electron microscopy (SEM). A new method for oriented immobilisation of antibody fragments on the silicon modified with 3- glycidopropyltriethoxysilane with thiol groups (GOPS-SH) and a small-diameter gold nanoparticles (4–6 nm). A comparative analysis of different immobilization technoques and various detection methods on the surface of silicon was performed. The methods providing the highest density of active sites of the antibodies on silicon surface were selected. For the quantitative determination of protein-biomarkers the density of the gold nanoparticles on the carrier was supposed to be determined. An algorithm for calculating the nanoparticle-labels amount in the presence of small gold nanoparticles used for immobilization of antibody fragments was developed.

The work was supported by the RFBR (13–04–01137).

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

УДК 577.112.7

БИОАДСОРБЦИЯ БЕЛКОВ И МУЦИНА НА МЕЗОПОРИСТЫХ МИКРОСФЕРАХ $CaCO_3$

Балабушевич Н.Г.,[1] **Лопес де Гереню А.В.,**[1] **Киржанова Е.А.,**[1] **Феоктистова Н.А.,**[1,2] **Володькин Д.В.**[1,2]

[1]*МГУ имени М.В. Ломоносова, Химический факультет, 119991, Москва, Россия, E-mail: nbalab2008@gmail.com*

[2]*Фраунгофер институт клеточной терапии и иммунологии, 14476, Потсдам-Гольм, Германия*

Исследовано и обсуждено взаимодействие белков и муцина с мезапористыми микросферами $CaCO_3$ в форме ватерита, активно используемыми в качестве растворимых матриц при капсулировании биомолекул.

Ключевые слова: $CaCO_3$, ватерит, белки, муцин, микрокапсулирование, доставка белков

Изучено соосаждение и адсорбция [1] на микросферах $CaCO_3$ в форме ватерита белков с различными физико-химическими свойствами (протамин, апротинин, инсулин, каталаза) и высокомолекулярного гликопротеина муцина. Показано, что эффективность включения белков и муцина больше при получении соосаждением, а сохранение удельной активности – при сорбции на поверхности микросфер $CaCO_3$. Проанализировано влияние времени инкубации, pH среды, концентраций $CaCO_3$ и белка на сорбцию на микросферах $CaCO_3$. Оценено соответствие экспериментальных изотерм адсорбции белков модели монослойной адсорбции и определены параметры адсорбционного равновесия белков.

Результаты исследования объясняют природу взаимодействий белков и муцина с микросферами ватерита $CaCO_3$, которые активно применяются в качестве природного материала при капсулировании биологически активных соединений в мягких условиях.

1. Balabushevich N.G.et al. Physical Chemistry Chemical Physics, 2015, 17 (4), 2523.

UDK 577.112.7

BIOADSORPTION OF PROTEINS AND MUCIN INTO MESOPOROUS VATERITE $CaCO_3$ MICROSPHERES

Balabushevich N.G.[1], **Lopez de Guerenu A.V.**[1], **Kirzhanova E.A.**[1], **Feoktistova N.A.**[1,2], **Volodkin D.V.**[1,2]

[1]*Lomonosov Moscow State University, Department of Chemistry, 119991, Moscow, Russia, E-mail: nbalab2008 @gmail.com*

[2]*Fraunhofer Institute for Cell Therapy and Immunology, 14476, Potsdam-Golm, Germany*

Here we investigate and discuss proteins and mucin interactions with mesoporous $CaCO_3$ microspheres (vaterite form), which are nowadays very actively used as decomposable templates for biomolecules encapsulation.

Keywords: $CaCO_3$, vaterite, proteins, mucin, microencapsulation, protein drug delivery

The co-precipitation and adsorption of different proteins (protamine, aprotinin, insulin, catalase) and mucus glycoprotein mucin have been investigated [1]. It was shown that the protein and mucin

loading efficiencies were higher in the case of co-precipitation than during sorption on $CaCO_3$ microspheres. The effect of incubation time, pH, $CaCO_3$ and protein concentrations on the sorption process was analysed. The accordance of experimental isotherms to a monolayer adsorption model has been studied together with proteins adsorption equilibrium parameters. The experimental results explain the proteins and mucin interactions with vaterite $CaCO_3$ which is a popular technique for encapsulation of biomaterials in mild conditions.

1. Balabushevich N.G.et al. Physical Chemistry Chemical Physics, 2015, 17 (4), 2523.

УДК 577.151.03

САЙТ-НАПРАВЛЕННЫЙ МУТАГЕНЕЗ КСИЛАНЗЫ А *PENICILLIUM CANESCENS* ДЛЯ УВЕЛИЧЕНИЯ ТЕРМОСТАБИЛЬНОСТИ ФЕРМЕНТА

Денисенко Ю.А., Гусаков А.В., Рожкова А.М., Осипов Д.О.
Институт биохимии им А.Н.Баха РАН, лаборатория Биотехнологии ферментов
Россия, Москва, Ленинский проспект, 33, стр. 2, 119071
Denisenkoyura@mail.ru

В эндо-1,4-β-ксиланазе А из мицелярного гриба *Penicillium canescens* были произведены четыре аминокислотные замены (L18F, T104E, T160D, H191R) методом сайт-направленного мутагенеза в целях увеличения термостабильности фермента. Показано, что одна из замен (L18F) привела к значительной стабилизации ксиланазы.

Ключевые слова: ксиланаза, *Penicillium canescens*, термостабильность, мутагенез

Эндо-1,4-β-ксиланазы (далее просто ксиланазы) неупорядоченно гидролизуют β-1,4-ксилозидные связи в ксиланах и являются важным компонентом ферментных комплексов, применяемых в целлюлозно-бумажной промышленности, а также в хлебопечении и в качестве добавок к кормам сельскохозяйственных животных и птиц.

В целях увеличения термостабильности ксиланазы А из гриба *Penicillium canescens* в ферменте методом сайт-направленного мутагенеза были произведены четыре аминокислотные замены: L18F, T104E, T160D, H191R. Экспрессии мутантных форм T104E и T160D не было выявлено, в то время как два других мутанта были выделены из соответствующих ферментных препаратов в гомогенном виде. Изучение их свойств показало, что обе мутации не привели к значительным изменениям биохимических и физико-химических параметров фермента, за исключением термостабильности. Методом дифференциальной сканирующей микрокалориметрии были определены температуры фазового перехода гомогенных ксиланаз. Они составили 56,1; 54,7 и 60,0°C для фермента дикого типа, мутантов H191R и L18F, соответственно. Таким образом, аминокислотная замена L18F в ксиланазе А *P. canescens* привела к заметному увеличению термостабильности фермента. Обнаруженный эффект стабилизации был также подтвержден путем изучения остаточной активности фермента при его инкубации при различных температурах.

УДК577.151.03

SITE-DIRECTED MUTAGENESIS OF XYLANASE A FROM *PENICILLIUM CANESCENS* FOR IMPROVING ITS THERMOSTABILITY

Denisenko Y.A., Gusakov A.V., Rozhkova A.M., Osipov D.O.
A.N.Bach Institute of Biochemistry, Russian Academy of Sciences, Laboratory of Biotechnology of Enzymes
Russia, Moscow, Leninsky Prospect, 33, b. 2, 119071
Denisenkoyura@mail.ru

Four amino acid substitutions (L18F, T104E, T160D, H191R) were made in endo-1,4-β-xylanase A from *Penicillium canescens* by site-directed mutagenesis in order to improve its thermostability. The L18F substitution resulted in significant stabilization of the enzyme.

Keywords: xylanase, *Penicillium canescens*, thermostability, mutagenesis.

Endo-1,4-β-xylanases (or simply xylanases) randomly hydrolyze β-1,4-xylosidic linkages in xylans, and they are an important component of enzyme preparations used in pulp and paper industry, in bread making as well as additives to feeds for agricultural animals and birds.

In order to improve thermostability of xylanase A from *Penicillium canescens*, four amino acid substitutions were made in the enzyme by site-directed mutagenesis: L18F, T104E, T160D, H191R. Mutant forms of the enzyme T160D and T104E were not expressed, while two other mutants were purified from the respective enzyme preparations in a homogeneous form. Investigation of properties revealed that both mutations did not result in significant changes in the biochemical and physicochemical parameters of the enzyme, with the exception of the thermal stability. The phase transition temperatures of homogeneous xylanases were measured by differential scanning microcalorimetry. They amounted to 56.1; 54.7 and 60.0°C for native xylanase, H191R and L18F mutants, respectively. Thus, the amino acid substitution L18F in *P. canescens* xylanase A led to significant increase in the thermostability of the enzyme. The stabilizing effect was also confirmed by studying the enzyme residual activity during its incubation at different temperatures.

УДК 577.153.3

РОЛЬ И НОВЫЕ ФУНКЦИИ ЛИПИДОВ В КОНДЕНСИРОВАННЫХ БИОСИСТЕМАХ. АКТИВАЦИЯ И РЕГУЛЯЦИЯ ЛИПОЛИЗА

Мадьяров Ш.Р.
Институт генофонда растительного и животного мира Узбекистана.
Академия наук Республики Узбекистан,
Ташкент, Узбекистан. 100125, Ташкент, ул. Боги-шамол, д. 32,
E-mail: shuhm@yandex.ru

Липиды, являясь "мономерными" полимероми в отличие от других биополимеров, обладают множеством специфических свойств, обеспечивающих уникальность надмолекулярных структур клетки и многообразие их функциональных особенностей. На примере фосфолипазы Д рассматривается гипотеза о новой, нативирующей функциональные белки роли липидных комлексов и биомембран.

Ключевые слова: липиды; вода; граница раздела фаз; мицеллы; мембраны; микродомены; фосфолипазы; рефолдинг; активация; регуляция; биотехнология.

Липиды в их мономолекулярной форме в водной среде склонны благодаря не ковалентным силам взаимодействия к самосборке и образованию всевозможных биополимерных структур – монослоев на поверхности воды и твердых материалов, ламеллярных структур в водноорганических смесях, простых и сложных мицелл, хиломикронов и липопротеидов, бислойных искусственных и биомембран и др. структурных элементов живой клетки. Т.е., являясь химически мономерными соединениями, они могут образовывать множество полимерных структур с уникальными физико-химическими свойствами и перспективами их использования в нанобиотехнологии.

Низкомолекулярные липиды благодаря своему специфическому строению и взаимодействиям с другими биомолекулами выступают в роли универсальной пластической матрицы в консолидации функциональных белков, углеводов, нуклеиновых кислот и др. ковалентных биополимеров в высокоупорядоченные, легко регулируемые биологические машины.

Давно известна регенерирующая роль липидов как в формировании и стабилизации, так и в реконструкции функциональных элементов биополимерных комплексов, искусственных и биомембран. К известным к настоящему времени функциям биомембран, по-видимому, можно добавить новую, конструкционную, шаперонирующую, в результате которой секретируемые мембранные белки могут претерпевать на микродоменной поверхности липидов биомембран частичную или коренную структурную перестройку, приводящую к их активации и последующей регуляции. Таким свойством, как предполагается, могут обладать одновременно межфазные границы раздела фаз липид – вода, а также липид – липид между прилежащими липидными микродоменами мембран [1].

Этот феномен был продемонстрирован на примере примембранного фермента фосфолипазы Д, мицеллярного лизолецитина, липосомного лецитина, некоторых детергентов и Me^{2+}ионов. Подобные эффекты каталитической активации были описаны ранее в литературе для фосфолипаз A_2 из змеиных ядов и панкреазы, для сфингомиелиназы и других ферментов. Адсорбированный и активированный таким образом на мембране фермент остается прижизненным её атрибутом и своеобразным «санитаром», следящим за стационарным и функциональным состоянием биомембраны, поддерживающим её липидный гомеостаз [1].

Литература:

Мадьяров Ш.Р.Действие детергентов, трипсина и ионов двухвалентных металлов на межфазную активацию и функционирование фосфолипазы Д // Биохимия. – 2014. – Т.79. – № 7. – С. 864 – 872

THE ROLE AND NEW FUNCTIONS OF LIPIDS IN CONDENSED BIOSYSTEMS. ACTIVATION AND REGULATION OF LIPOLYSIS

Madyarov Sh. R.
Institute of Gene Pool of Plants and Animals, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan.
100125, Tashkent, 32, Bogi-shamol str.
E-mail: shuhm@yandex.ru

The lipids being “monomeric” polymers as opposed to other biopolymers have a great number of specific properties which provide unique characters to supramolecular cell structures and diversity of their functional features. The hypothesis on new role of lipid complexes and biomembranes in nativation of functional proteins is considered on the example of phospholipase D.

Keywords: lipids; water; interface; micelles; membranes; microdomains; phospholipases; refolding; activation; regulation; nanobiotechnology.

The lipids are subjected in their monomolecular form in water media to self-assembling and to forming of various biopolymer structures: monolayers on the water and solids surfaces, lamellar structures in water-organic mixtures, simple and complex micelles, chylomicrons and lipoproteids, bilayer artificial and biological membranes and other parts of living cell. That is being chemical monomer compounds they can form a lot of polymer structures with unique physico-chemical properties and prospects of their usage in nanobiotechnology.

Low-molecular lipids act as universal plastic matrix in consolidation of functional proteins, carbohydrates, nucleic acid and other biopolymers into highly organised and easy controled biological machinery due to their specific structure and interaction with other biomolecules.

The regenerating role of lipids both in formation, stabilization and in reconstruction of functional elements in biopolymer complexes especially in artificial and biomembranes is known for a long time. A chaperoning or tuning function of biomembrenes apparently it is possible add to the wellknown today its another functions. As a result of a new function the secreted membrane proteins are subjected to partial or fundamental reorganization on microdomain surface of lipids of membrane that leads to their activation and following regulation. Such properties as it supposed can have simultaneously both lipid-water- and also lipid-lipid interfaces between adjacent lipid microdomains of membrane [1].

This phenomenon was demonstrated on the example of peripheral membrane enzyme – phospholipase D, on micellar lysolecithin and liposomal lecithin in the presence of some detergents and Me^{2+}ions. Similar effects of catalytic activation were described previously for snake venoms and pancreatic phospholipases A_2, for sphingomyelinase and other enzymes. Thereby a lipolytic enzyme adsorbed and activated on membrane by this way continues to be its vital attribute and specific "sanitary assistant" controlled its stationary and functional status as well as supporting a lipid homeostasis of given membrane [1].

References:

1. Madyarov Sh. R. Effect of Detergents, Trypsin and Bivalent Metal Ions on Interfacial Activation and Functioning of Phospholipase D // Biochemistry (Moscow). 2014. Vol. 79. №.7. P. 687–693. Original Russian Text: Madyarov Sh. R. // published in Biokhimiya. – 2014. – Vol. 79. – №. 7. – P. 864–872.

УДК 579.222:579.66

СКРИНИНГ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ШТАММОВ БАКТЕРИЙ ПО НИТРИЛГИДРАТАЗНОЙ АКТИВНОСТИ

Махсумханов А.А., Камбаралиева М.И., Ташбаев Ш.А., Пулатова О.М., Алимова Б.Х.
Институт микробиологии АН РУз, Ташкент, Узбекистан.
100128, Ташкент, ул. А. Кодирий 7б
e-mail: amakhsum@mail.ru

Проведен скрининг коллекционных штаммов бактерий по образованию фермента – нитрилгидратазы. Установлено, что из 11 протестированных штаммов по образованию фермента, наиболее активными продуцентами нитрилгидратазы являются штаммы *Pseudomonas putida*-42 (24 Ед) и *Pseudomonas stutzeri*-75 (19 Ед). Выявлено, что штамм *Pseudomonas putida*-42 по транс-

формирующей активности НАК в акриламид в четыре раза уступает, по активности (98 Ед) нитрилгидратазы штамму *Rhodococcus ruber* CGMCC3090.

Ключевые слова: коллекционные штаммы, нитрилгидратаза, активность, НАК, акриламид.

Известно, что штаммы бактерий, относящиеся к родам Rhodococcus, Pseudomonas, Agrobacterium и Bacillus продуцируют фермент – нитрилгидратазу и способны к трансформации акрилонитрила (НАК) в акриламид. В связи с этим, нами был проведен скрининг среди 11 штаммов бактерий родов Rhodococcus, Pseudomonas и Bacillus хранящихся в коллекции микроорганизмов Института микробиологии АН РУз. В результате проведенных исследований показано, что не все коллекционные штаммы бактерий могут трансформировать НАК в акриламид. Установлено, что из 11 протестированных штаммов по образованию фермента, наиболее активными продуцентами нитрилгидратазы являются штаммы *Pseudomonas putida*-42 (24 Ед) и *Pseudomonas stutzeri*-75 (19 Ед), при культивированиина питательной среде S2M. Необходимо отметить, что все штаммы показали медленный рост на минерализованной среде. При сравнении полученных результатов с данными литературных источников было выявлено, что штамм *Pseudomonas putida*-42 по трансформирующей активности НАК в акриламид в четыре раза уступает, по активности (98 Ед) нитрилгидратазы штамму *Rhodococcus ruber* CGMCC3090 [1].

Использованная литература:

1. Zhang J.L., Wang M., Sun H., Li X.D., Zhong L.P. Isolation and characterization of *Rhodococcus ruber* CGMCC3090 that hydrolyzes aliphatic, aromatic and heterocyclic nitriles// African Journal of Biotechnology. 2009. Vol. 8. №20. P. 5467-5486.

UDC 579.222:579.66

SCREENING OF COLLECTION'S BACTERIAL SPECIES FOR NITRILE HYDRATASE ACTIVITY

Makhsumkhanov A.A., Kambaralieva M.I., Tashbaev Sh.A., Pulatova O.M., Alimova B.Kh.
Institute of Microbiology, Uzbekistan Academy of Sciences, Tashkent, Uzbekistan.
100128, Tashkent, A. Kodiriy str. 7b
e-mail: amakhsum@mail.ru

Screening of collection's bacterial species on nitrile hydratase formation has been performed. It was established that most active nitrile hydratase forming species are *Pseudomonas putida*-42 (24 U) and *Pseudomonas stutzeri*-75 (19 U) among 11 investigated bacteria. It has been revealed that acrylonitrile transforming activity of the *Pseudomonas putida*-42 into acrylamide was 4 times less than nitrile hydratase activity (98 U) of *Rhodococcus ruber* CGMCC3090.

Keywords: collection's species, nitrile hydratase, activity, acrylonitrile, acrylamide.

It is known that bacterial species belonging to genera Rhodococcus, Pseudomonas, Agrobacterium and Bacillus produce nitrile hydratase and are able to transform acrylonitrile into acrylamide. In this connection, we have conducted a screening among 11 bacterial species of the genera Rhodococcus, Pseudomonas and Bacillus, which were stored in type culture collection of the Institute of Microbiology Uzbekistan Academy of Sciences. It was shown in result of conducted investigation that not all bacterial species of collection can transform acrylonitrile into acrylamide. It was established that most active nitrile hydratase forming species are *Pseudomonas putida*-42 (24 U) and *Pseudomonas stutzeri*-75 (19 U) among 11 investigated bacteria when they were grown in S2M nutrient medium. It should be noted that all tested species showed sluggish growth in mineralized medium. Comparison of ob-

tained data with one's from reference sources has revealed that acrylonitrile transforming activity of the *Pseudomonas putida*-42 into acrylamide was 4 times less than nitrile hydratase activity (98 U) of *Rhodococcus ruber* CGMCC3090 [1].

References:

1. Zhang J.L., Wang M., Sun H., Li X.D., Zhong L.P. Isolation and characterization of *Rhodococcus ruber* CGMCC3090 that hydrolyzes aliphatic, aromatic and heterocyclic nitriles// African Journal of Biotechnology. 2009. Vol. 8. №20. P. 5467-5486.

УДК 577.151

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МУЛЬТИФЕРМЕНТНОГО ГЛИКОЛИТИЧЕСКОГО КОМПЛЕКСА *TRICHODERMA VIRIDE* ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ПРЕБИОТИКОВ

Мартиросова Е.И.[1], **Ожимкова Е.В.**[2], **Ущаповский И.В.**[3], **Сульман Э.М.**[2]

[1]*Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, г. Москва, ул. Косыгина, 4;*

[2]*Тверской государственный технический университет, г. Тверь, наб. Аф. Никитина, 22,*

[3]*ФГБНУ ВНИИМЛ, г. Тверь, Комсомольский пр-т, 17/56, eozhimkova@mail.ru*

Изучен механизм гидролиза растительных гетерополисахаридов мультиферментным комплексом Trichoderma viride.

Ключевые слова: гликаны, гидролиз, пребиотики, гликозидазы.

Выявление и анализ механизма и кинетических зависимостей гидролиза гетерополисахаридов позволит подбирать условия проведения реакции оптимальные для накопления максимального количества физиологически активных олигосахаридов в реакционной среде. Сложность кинетического описания ферментативной деструкции растительных гетерополисахаридов обусловлена тем, что, в отличие от простых субстратов, полимерные субстраты предоставляют ферментам широкие возможности для способов атаки.

Одним из наиболее изучаемых во всем мире микроорганизмов являются грибы рода *Trichoderma*, так как они являются эффективными продуцентами многих гидролитических ферментов. Штамм T*richoderma viride* способен продуцировать несколько гидролитических ферментов (β – глюкозидазу, пектинэстеразу и ксиланазу), которые можно использовать для получения пребиотиков.

Анализ кинетических зависимостей позволяет выдвинуть гипотезу о том, что гидролиз гетерополисахаридов, вероятно, протекает по последовательно-параллельной схеме.

ASPECTS OF THE USE OF MULTIENZYME GLYCOLYTIC COMPLEX *TRICHODERMA VIRIDE* TO OBTAIN PREBIOTICS

Martirosova E.I.[1], **Ozhimkova E.V.**[2] **Uschapovsky I.V.**[3], **Sulman E.M.**[2]
[1]*Institute of Biochemical Physics. NM Emanuel Academy of Sciences, Ul. Kosygin, 4;* [2]*Tver State Technical University, Tver, nab. Af. Nikitin, 22,* [3]*FGBNU VNIIML, Tver, Komsomol prospect, 17/56,*

The mechanism of hydrolysis plant heteropolysaccharides by enzyme complex of Trichoderma viride was studied.

Keywords: glycans, hydrolysis, prebiotics, glycosidase.

Detecting and analysis of kinetic relationships of heteropolysaccharides hydrolysis would allow finding optimum reaction conditions to accumulate the maximum amount of physiologically active oligosaccharides in the reaction environment. It is complicated to describe kinetics and mechanism of the enzymatic destruction of plant heteropolysaccharides since the polymer substrates provide a wide range of attacking ways to enzymes.

Trichoderma fungi are one of the most actively studied microorganism genus in the world as they can effectively produce many hydrolytic enzymes. Its T*richoderma viride* strain can produce several hydrolytic enzymes (β–glucosidase, pectin esterase and xylanase), which can be used to obtain prebiotic. Analysis of the kinetic dependences suggests the hypothesis that hydrolysis of heteropolysaccharides probably proceeds by a series-parallel circuit.

УДК 577.152.31

ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ БИОКАТАЛИЗАТОРА НА ОСНОВЕ ТЕРМОСТАБИЛЬНОЙ ЛИПАЗЫ БАКТЕРИИ *BURKHOLDERIA CEPACIA* (AMANO BH) В РЕАКЦИИ ПЕРЕЭТЕРИФИКАЦИИ ПИЩЕВЫХ ЖИРОВ

Самойлова Ю.В.[1], **Пилигаев А.В.**[1], **Сорокина К.Н.**[1,2]
[1]*Институт катализа им. Г.К. Борескова Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия*
[2]*Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия*
630090, Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, д.5
e-mail: samoylova.jv@catalysis.ru

Разработан биокатализатор на основе липазы бактерии *Burkholderia cepacia* (Amano BH). Полученный биокатализатор был исследован в реакции переэтерификации подсолнечного и гидрированного подсолнечного масла в реакторе проточного типа. После 15.8 ч реакции катализатор сохранил 79% от первоначальной активности, время полуинактивации катализатора составило 25 ч.

Ключевые слова: биокатализатор; термостабильная липаза; переэтерификация.

Одним из процессов, применяемых на предприятиях масложировой промышленности для получения специализированных жиров, является переэтерификация масел с использованием катализаторов. Биокатализаторы на основе ферментов липаз позволяют проводить процесс переэтерификации в более мягких условиях, энергоэффективным и экологически безопасным способом по сравнению с химическими катализаторами.

В данной работе был получен биокатализатор (БКЛ) методом ковалентной иммобилизации термостабильной липазы бактерии *Burkholderia cepacia* (Amano BH) на силикагеле. Свойства

разработанного биокатализатора были исследованы в реакции переэтерификации смеси подсолнечного масла и гидрированного подсолнечного масла в соотношении 3:1 в реакторе проточного типа при температуре 70°C. Анализ продуктов реакции методом ВЭЖХ-МС показал, что относительная активность катализатора после 15.8 ч реакции составляет 79%, что несколько ниже аналогичного показателя для коммерческого катализатора Lipozyme TL-IM (94%). Отмечено изменение физических свойств масел (твердость) в процессе реакции на основе снижения содержания твердых триглицеридов (ТТГ), измеренное методом ЯМР. Время полуинактивации катализатора БКЛ составило 25 ч. Полученный биокатализатор применим для получения специализированных жиров с контролируемыми характеристиками.

УДК 577.152.31

PROPERTIES OF BIOCATALYSTS BASED ON A THERMOSTABLE LIPASE FROM *BURKHOLDERIA CEPACIA* (AMANO BH) IN THE TRANSESTERIFICATION REACTION OF FOOD OILS

Samoylova Y.V.[1], **Piligaev A.V.**[1], **Sorokina K.N.**[1,2]

[1]*Boreskov Institute of Catalysis of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia*

[2]*Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*

630090, Novosibirsk, pr. Lavrentieva, 5

e-mail: samoylova.jv@catalysis.ru

The biocatalyst based on lipase from *Burkholderia cepacia* (Amano BH) was developed and studied in the transesterification reaction of sunflower and hydrogenated sunflower oil in a flow reactor. After 15.8 h of reaction, the catalyst retained 79% of the initial activity, with half-life time 25 h.

Keywords: biocatalyst; thermostable lipase; transesterification.

Transesterification of oils using catalysts is one of the processes used in the oil industry for fats alternatives production. Biocatalysts based on lipase enzymes allow conducting transesterification process under milder conditions, in an energy efficient and environmentally friendly way, in comparison with chemical catalysts.

In this study we developed a biocatalyst (BKL) by immobilization of thermostable lipase from bacteria *Burkholderia cepacia* (Amano BH) on silica particles. Properties of biocatalyst were tested for transesterification reaction of sunflower oil and hydrogenated sunflower oil mixed in a ratio of 3:1 in a flow reactor at the temperature of 70°C. Analysis of reaction products by HPLC-MS showed that the catalyst relative activity after 15.8 h of reaction was 79% that is slightly lower than that of commercial catalyst Lipozyme TL-IM (94%). The change of the oils physical properties (hardness) in the reaction based on reduction of solid triglycerides content (SFC), was observed by NMR. The half-life time of the catalyst BKL was 25 h. This biocatalyst is applicable for production of specialty fats with controlled characteristics.

УДК 661.728: 577.15

БИОКАТАЛИТИЧЕСКИЕ ПРЕВРАЩЕНИЯ ХИМИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННОЙ ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗЫ

Удоратина Е.В.[1], Щербакова Т.П.[1], Кучин А.В.[1], Будаева В.В.[2], Скиба Е.А.[2], Сакович Г.В.[2]

[1]*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химии Коми НЦ УрО РАН, 167982, г. Сыктывкар, ул. Первомайская, 48, e-mail: udoratina-ev@chemi.komisc.ru*

[2]*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения Российской академии наук, 659322, г. Бийск, ул. Социалистическая, 1*

Работа направлена на поиск новых подходов к химическим превращениям лигноцеллюлозы травянистого происхождения для дальнейшего преобразования ее в ценные продукты – сырье для биохимической переработки.

Ключевые слова: лигноцеллюлоза, каталитическая деструкция, модификация, биотрансформация

Основной акцент в работе сделан на использование в качестве сырьевого источника ценных продуктов органического и биохимического синтеза возобновляемого травянистого сырья – отходов сельского хозяйства плодовых оболочек овса и стеблей соломы ржи, отходов льнопроизводства, а также биомассы российского мискантуса. Предложены эффективные способы выделения лигноуглеводной части из выше перечисленных видов сырья. Определены химические составы полученных лигноцеллюлозных материалов, проведена оценка их качества. Осуществлена направленная каталитическая деструкция лигноцеллюлоз, выделенных из стеблей соломы ржи и льняного волокна, в порошковые формы, характеризующиеся пониженной средней степенью полимеризации и изменением степени кристалличности целлюлоз. Наиболее эффективными для этой цели является применение кислот Льюиса, гетерополикислот и активирующих эти процессы механоакустических воздействий. Предполагается, что такие подходы приводят к повышению реакционной способности материала к дальнейшей биотрансформации. Проведено тестирование некоторых лигноцеллюлозных материалов в качестве субстратов для деструкции комплексным ферментным препаратом целлюлазно-глюканазно-ксиланазного действия. Установлены закономерности ферментативной деструкции материала от вида и способа его получения. Показано, что исследуемые лигноцеллюлозные материалы являются перспективными субстратами для получения глюкозо-ксилозных гидролизатов.

Работа выполнена при поддержке совместного интеграционного проекта фундаментальных исследований ИХ Коми НЦ УрО РАН (№ 12-С-3-1007) и ИПХЭТ СО РАН (№ 11)

BIOCATALYTIC TRANSFORMATIONS OF CHEMICALLY MODIFIED LIGNOCELLULOSE

E.V. Udoratina[1], T.P. Sherbakov[1], A.V. Kuchin[1], V.V. Budaeva[2], E.A. Skiba[2], G.V. Sakovich[2]
[1]*Federal State budgetary institution of Science Institute of chemistry of Komi SC of Ural Branch of RAS, 167982, Syktyvkar, st. Pervomaiskaya, 48*
[2]*Institute for Problems of Chemical and Energy Technologies of the Siberian Branch of the Russian Academy Sciences, 659322, Biysk, st. Socialystic, 1*
E-mail: udoratina-ev@chemi.komisc.ru

This work aimed at finding new approaches to processing chemical transformation of grassy lignocelluloses for further converting it into valuable products – raw material for biochemical processing.

Keywords: lignocellulose, catalytic destruction, modification, biotransformation

The emphasis is on the use of renewable raw materials-waste of agriculture – oat husks and straw stalks of rye, flax waste and *Miscanthus sinensis Anders* biomass (Institute of Cytology and Genetics SB RAS). Effective methods of selection offered lignocellulose of the raw material. Identifies the chemical compositions of lignocellulosic materials, evaluate their quality.

The directed catalytic destruction lignocellulose, isolated from straw stalks of rye and flax, in the powder forms, characterized by low average degree of polymerization and the change of degree of crystallinity of cellulose, carried out. The most effective for this purpose is application of acids of Lewis, heteropolyacids and mechanoacoustic influences activating these processes. It supposed that such approaches lead to increase of reactionary ability of a material to further biotransformation.

Some testing of lignocellulosic materials as substrates for degradation complex enzymes. Regularities of the enzymatic degradation of material type and how you obtained it. The studied lignocellulosics showed to be promising substrates to produce glucose-xylose hydrolyzates.

Work supported by fundamental research partnership project running Ural Branch of RAS (No. 12-C-3-1007) jointly with the Siberian Branch of the RAS (No. 11).

РАЦИОНАЛЬНЫЙ ДИЗАЙН ФЕРМЕНТОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОВ БИОИНФОРМАТИКИ И МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

Швядас В.К., Суплатов Д.А., Панин Н.В., Халиуллин И.Г.
Факультет биоинженерии и биоинформатики и Институт физико-химической биологии им. А.Н.Белозерского, Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова
E-mail: vytas@belozersky.msu.ru

Предложена стратегия рационального дизайна функциональных свойств фермента, основанная на использовании методов биоинформатики и молекулярного моделирования. Для идентификации позиций в структуре белка, играющих решающую роль в определении субстратной специфичности, каталитической активности, стабильности и других свойств, разработан новый метод биоинформатического анализа суперсемейств ферментов [1–3]. Метод применен для установления взаимосвязи структуры и функции в нескольких семействах ферментов: Ntn-гидролазах, пенициллин-связывающих белках, α/β-гидролазах. Идентифицированы функцию определяющие позиции в соответствующих семействах ферментов и использованы как точки для введения мутаций с целью увеличения стабильности и синтетической активности пенициллинацилазы из *Escherichia coli*, расширения субстратной специфичности D-аминопептидазы из *Ochrobactrum anthropi* и введения амидазной активности в липазу B из *Candida antarctica*. Молекулярное моделирование созданных *in silico* мутантов использовали для оценки влияния

вводимых мутаций на стабильность и каталитические свойства, а также последующего отбора наиболее перспективных мутантов для экспериментального получения и характеристики. Отобранные мутанты пенициллинацилазы, D-аминопептидазы и липазы B обладали существенно улучшенными функциональными свойствами [4–7]. Биоинформатический анализ семейств ферментов может быть использован как систематическое средство при изучении взаимосвязи структуры и функции, характеристики центров связывания ферментов, выбора позиций, определяющих функциональные свойства, и использования этих позиций для введения мутаций при инженерии свойств белков и дизайна ферментов с заданными функциональными характеристиками [8–9].

1. Suplatov D., Shalaeva D., Kirilin E., Arzhanik V., Švedas V. Bioinformatic analysis of protein families for identification of variable amino acid residues responsible for functional diversity. Journal of Biomolecular Structure and Dynamics. 2014, 32(1), 75–87. DOI:10.1080/07391102.2012.750249.

2. Suplatov D., Kirilin E., Takhaveev V., Švedas V. Zebra: a web server for bioinformatic analysis of diverse protein families. Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, 2014, 32(11), 1752–1758. DOI:10.1080/07391102.2013.833858.

3. Suplatov D., Arzhanik V., Švedas V., Comparative Bioinformatic Analysis of Active Site Structures in Evolutionarily Remote Homologues of α,β-Hydrolase Superfamily Enzymes, Acta Naturae, 2011, 3(1), 93–98. PMID:22649677.

4. Shcherbakova T.A., Panin N.V., Suplatov D.A., Shapovalova I.V., Svedas V.K., The βD484N mutant of penicillin acylase from *Escherichia coli* is more resistant to inactivation by substrates and can effectively perform peptide synthesis in aqueous medium, Journal of Molecular Catalysis – B Enzymatic, 2015, 112, 66–68. DOI:10.1016/j.molcatb.2014.11.015.

5. Suplatov D., Panin N., Kirilin E., Shcherbakova T., Kudryavtsev P., Švedas V., Computational design of a pH stable enzyme: understanding molecular mechanism of penicillin acylase's adaptation to alkaline conditions, PLoS ONE 2014, 9(6): e100643. DOI: 10.1371/journal.pone.0100643.

6. Khaliullin I., Suplatov D., Tokunan K., Himi M., Asano Y., Švedas V. (2013) Bioinformatic analysis of penicillin-binding proteins identified amino acid residues responsible for substrate specificity of D-aminopeptidase from Ochrobactrum anthropi. FEBS Journal, 280 (Suppl. 1), 592–593. DOI: 10.1111/febs.12340

7. Suplatov D., Besenmatter W., Švedas V., Svendsen A., Bioinformatic analysis of α/β-hydrolase fold enzymes reveals subfamily-specific positions responsible for discrimination of amidase and lipase activities. Protein Engineering Design and Selection, 2012, 25(11), 689–697. DOI: 10.1093/protein/gzs068.

8. Suplatov D.A., Voevodin V.V., Švedas V.K., Robust enzyme design: Bioinformatic tools for improved protein stability, Biotechnology Journal, 2015. DOI: 10.1002/biot.201400150.

9. Suplatov D., Kirilin E., Arbatsky M., Takhaveev V., Švedas V. pocketZebra: a web-server for automated selection and classification of subfamily-specific binding sites by bioinformatic analysis of diverse protein families. Nucl. Acids Res. 2014, 42(1): 344-W349. DOI: 10.1093/nar/gku448.

RATIONAL DESIGN OF ENZYMES USING METHODS OF BIOINFORMATICS AND MOLECULAR MODELING

Vytas Švedas, Dmitry Suplatov, Nikolai Panin, Ilyas Khaliullin

Faculty of Bioengineering and Bioinformatics and Belozersky Institute of Physicochemical Biology, Lomonosov Moscow State University, E-mail: vytas@belozersky.msu.ru

A rational design strategy of enzyme functional properties based on combined use of bioinformatics and molecular modeling is suggested. New method of bioinformatic analysis of enzyme superfamilies has been developed [1–3] to identify positions in protein structures that play important role in discrimination of substrate specificity, catalytic activity, stability, etc. The developed method was applied to understand structure-function relationship in several enzyme families: Ntn-hydrolases, penicillin-binding proteins, α/β-hydrolases. Function-related positions in corresponding enzyme families were identified and used as hotspots for mutations to increase stability and synthetic activity of penicillin acylase from *Escherichia coli*, expand substrate specificity of D-aminopeptidase from *Ochrobactrum anthropi* and introduce amidase activity into *Candida antarctica* lipase B. Molecular modeling of *in silico* constructed mutants was used to evaluate effect of substitutions at function-related positions on stability as well as catalytic properties and to select the most promising variants for experimental evaluation. Isolated mutants of penicillin acylase, D-aminopeptidase and lipase B demonstrated significantly improved functional properties [4–7]. Bioinformatic analysis of enzyme families can be used as a systematic tool to study structure-function relationship, characterize enzyme binding sites, select function-related positions and use them as hotspots for mutation to rationalize different protein engineering approaches and design enzymes with requested functional properties [8–9].

1. Suplatov D., Shalaeva D., Kirilin E., Arzhanik V., Švedas V. Bioinformatic analysis of protein families for identification of variable amino acid residues responsible for functional diversity. Journal of Biomolecular Structure and Dynamics. 2014, 32(1), 75–87. DOI:10.1080/07391102.2012.750249.

2. Suplatov D., Kirilin E., Takhaveev V., Švedas V. Zebra: a web server for bioinformatic analysis of diverse protein families. Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, 2014, 32(11), 1752–1758. DOI:10.1080/07391102.2013.833858.

3. Suplatov D., Arzhanik V., Švedas V., Comparative Bioinformatic Analysis of Active Site Structures in Evolutionarily Remote Homologues of α,β-Hydrolase Superfamily Enzymes, Acta Naturae, 2011, 3(1), 93–98. PMID:22649677.

4. Shcherbakova T.A., Panin N.V., Suplatov D.A., Shapovalova I.V., Svedas V.K., The βD484N mutant of penicillin acylase from *Escherichia coli* is more resistant to inactivation by substrates and can effectively perform peptide synthesis in aqueous medium, Journal of Molecular Catalysis – B Enzymatic, 2015, 112, 66–68. DOI:10.1016/j.molcatb.2014.11.015.

5. Suplatov D., Panin N., Kirilin E., Shcherbakova T., Kudryavtsev P., Švedas V., Computational design of a pH stable enzyme: understanding molecular mechanism of penicillin acylase's adaptation to alkaline conditions, PLoS ONE 2014, 9(6): e100643. DOI: 10.1371/journal.pone.0100643.

6. Khaliullin I., Suplatov D., Tokunan K., Himi M., Asano Y., Švedas V. (2013) Bioinformatic analysis of penicillin-binding proteins identified amino acid residues responsible for substrate specificity of D-aminopeptidase from Ochrobactrum anthropi. FEBS Journal, 280 (Suppl. 1), 592–593. DOI: 10.1111/febs.12340.

7. Suplatov D., Besenmatter W., Švedas V., Svendsen A., Bioinformatic analysis of α/β-hydrolase fold enzymes reveals subfamily-specific positions responsible for discrimination of amidase and lipase activities. Protein Engineering Design and Selection, 2012, 25(11), 689–697. DOI: 10.1093/protein/gzs068.

8. Suplatov D.A., Voevodin V.V., Švedas V.K., Robust enzyme design: Bioinformatic tools for improved protein stability, Biotechnology Journal, 2015. DOI: 10.1002/biot.201400150.

9. Suplatov D., Kirilin E., Arbatsky M., Takhaveev V., Švedas V. pocketZebra: a web-server for automated selection and classification of subfamily-specific binding sites by bioinformatic analysis of diverse protein families. Nucl. Acids Res. 2014, 42(1): 344-W349. DOI: 10.1093/nar/gku448.

УДК 577.112.386.5:54.05:542

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА БИОКАТАЛИЗАТОРА АМИНОАЦИЛАЗЫ

Епремян А.С.
ООО «БИО-ХИМ», ул. Мамиконянц, 58а/10, Ереван 0051, Армения
blackeye03@rambler.ru

Разработана технология производства высокоактивного и стабильного биокатализатора аминоацилазы для получения оптически активных аминокислот.

Ключевые слова: биокатализатор, аминоацилаза, технология.

Ферменты аминоацилазы, осуществляющие энантиоселективный гидролиз N-ацильных производных D,L-аминокислот, находят широкое применение для получения оптически чистых L- и D-аминокислот из рацематов. Обычно при этом биокатализатор используется в иммобилизованной форме, что обеспечивает многократность его использования и стабильность.

Нами разработана технология производства высокоактивного и стабильного биокатализатора аминоацилазы для получения оптически активных аминокислот. Биокатализатор аминоацилазы представляет собой клетки *Escherichia coli*, обладающие аминоацилазной активностью, иммобилизованные в гель кремневой кислоты. Основанием для проведения работы является разработанный нами способ получения эффективного биокатализатора аминоацилазы (Епремян А.С.и др., А.С. №1623908). По данным разработки составлен и выдан опытно-промышленный регламент на производство биокатализатора аминоацилазы. Изучены физико-химические и каталитические свойства биокатализатора аминоацилазы и показана возможность использования нового биокатализатора для получения оптически активных аминокислот, в частности L-метионина. Высокая активность и стабильность биокатализатора аминоацилазы, прочность связывания фермента с носителем, его доступность – совместное рассмотрение всех этих факторов позволяет предложить разработанный биокатализатор аминоацилазы в биокаталитической технологии получения оптически активных аминокислот. Одним из основных достоинств разработанного биокатализатора аминоацилазы является возможность его регенерации.

UDC 577.112.386.5:54.05:542

THE TECHNOLOGY OF PRODUCING OF AMINOACYLASE BIOCATALYST DEVELOPMENT

Yepremyan H.S.
"BIO-CHIM" Ltd., 58a/10 Mamikonyants St., 0051 Yerevan, Armenia
blackeye03@rambler.ru

The technology of producing of aminoacylase biocatalyst with high activity and stability for obtaining optically active amino acids is developed.

Keywords: biocatalyst, aminoacylase, technology.

Ferments of aminoacylase realizing enantioselective hydrolyse of N-acylated derivatives D,L-amino acids are widely used for obtaining optically pure L- and D- amino acids from racemates. In usual, biocatalyst is used in immobilized form, which insure multiplicity of its use and stability.

We had developed the technology of producing of aminioacylase biocatalyst with high activity and stability for obtaining optically active amino acids. The aminoacylase biocatalyst as immobilization of aminoacylase activity possessing *Escherechia coli* cells into silicon acid gel. As a base for realizing the work is the method of obtaining of effective aminoacylase biocatalyst made by us. (A. Yepremyan et al; Certificate of Authorship, №1623908). According to elaboration an experimental-industrial regulation of aminoacylase biocatalyst is developed and received. Physico-chemical and biocatalytical properties of aminoacylase biocatalyst are studied and the possibility of using of a new biocatalyst for obtaining opticaly active amino acids, particularly L-methionine is demonstrated. High activity and stability biocatalyst of aminoacylase, bond solidity of the enzyme with the carrier and its availability – conscientious consideration of all those factors, allows to offer the developed biocatalyst of aminoacylase to be used in biocatalytical technology for obtaining optically active amino acids. One of the basic advantages of development of biocatalyst of aminoacylase is the possibility of its regeneration.

СЕКЦИЯ «БИОТЕХНОЛОГИЯ ПИЩИ. ПРОДУКТЫ ЗДОРОВОГО ПИТАНИЯ»
SECTION "BIOTECHNOLOGY FOOD. HEALTH FOOD PRODUCTS"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

УДК [004.9+576.535]:574.2

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОМПЬЮТЕРНОГО ВИДЕОКОМПЛЕКСА «ЦИТОМИР» ДЛЯ АНАЛИЗА ЭФФЕКТОВ ГМР НА КЛЕТКИ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

Дромашко С.Е., Квитко О.Г., Шейко Я.И., Балашенко Н.А.
Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь
220072, Беларусь, Минск, ул. Академическая, д. 27
e-mail: S.Dromashko@igc.bas-net.by

Создан автоматизированный видеокомплекс «Цитомир», обеспечивающий многократное фотографирование до нескольких сотен долговременных клеточных культур одновременно. Предлагается использовать его для исследования эффектов ГМР на модели клеток человек и животных.

Ключевые слова: генетически модифицированные растения, компьютерная видеомикроскопия живых клеток, эффекты ГМР.

В литературе имеются публикации о негативных эффектах ГМР и их компонентов на лабораторных животных. Влияние ГМР на модели клеточных культур человека и животных до настоящего времени не изучалось.

В лаборатории моделирования генетических процессов Института генетики и цитологии НАН Беларуси разработаны оборудование и технология долговременной компьютерной видеомикроскопии живых клеток. На основе предложенного нами прототипа в рамках ГНТП «Эталоны и научные приборы» ГНПО «Планар» создал автоматизированный видеокомплекс «Цитомир», способный обеспечить многократное компьютерное фотографирование многих (до нескольких сотен) различных участков ростовой поверхности клеточных культур в течение двух–трех месяцев.

С помощью видеокомплекса «Цитомир» нами показан антираковый эффект ДНК, выделенной из эритроцитов цыпленка. В последние годы исследовано влияние олигонуклеотидов ДНК (дерината – иммуномодулятора, выделенного из молок осетровых рыб) и трансгенных белков (лактоферрина человека, полученного из молока трансгенных коз) на пролиферацию клеток человека и животных. Предлагаемая технология компьютерной видеомикроскопии перспективна для изучения долговременных эффектов ГМР на клеточном уровне.

UDC [004.9+576.535]:574.2

PROSPECTS OF USING COMPUTER VIDEO SYSTEM "TSITOMIR" TO ANALYZE GMP EFFECTS ON HUMAN AND ANIMAL CELLS

Dromashko S.E., Kvitko O.V., Sheiko Y.I., Balashenko N.A.
Institute of Genetics and Cytology, National Academy of Sciences, Minsk, Belarus
220072, Belarus, Minsk, st. Akademicheskaya, 27
e-mail: S.Dromashko@igc.bas-net.by

An automated video system "Tsitomir" provides multiple simultaneous photographing of up to several hundreds of long-term cell cultures. It is proposed to be used in studying GMP effects on models of human and animal cells.

Keywords: genetically modified plants, computer video microscopy of living cells, GMP effect.

The literature contains publications about the negative effects of GMPs and their components on laboratory animals. The GMP impact on human and animal cell culture models has not been studied to date.

The equipment and technology of long-term computer video microscopy of living cells were developed in the Laboratory of Simulation of Genetic Processes at the Institute of Genetics and Cytology. Based on our proposed prototype within the framework of State scientific-technical program "Standards and Scientific Instruments", "Planar" Corporation has created an automated video system "Tsitomir" capable of providing multiple computer photographing of many (up to several hundreds) different parts of the cell culture growth surface within two-three months.

We have shown the anti-cancer effect of the DNA extracted from chicken erythrocytes by the video system "Tsitomir". In recent years the effect of DNA oligonucleotides (derinat – immunomodulator isolated from sturgeon milt) and transgenic proteins (human lactoferrin, obtained from milk of transgenic goats) on proliferation of human and animal cells was studied. The proposed technology of computer video microscopy is promising for studying the long-term GMP effects at the cell level.

УДК 65.59.03

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПЕСТИЦИДОВ МЕТОДОМ ПОЛЯРИЗАЦИОННОГО ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ИММУНОАНАЛИЗА

Бородулева А.Ю.[1], Еремин С.А.[1,2]
[1]*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Химический факультет, Москва, Россия*
119991, Москва, Ленинские Горы, дом 1, стр. 3
E-mail: saeremin@gmail.com
[2]*Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия*
119071, Москва, Ленинский проспект, д. 33, стр. 2

Для быстрого и количественного определения пестицидов в продуктах питания предложена методика поляризационный флуоресцентный иммуноанализ. Получены иммунореагенты для определения хлорорганических и фосфорорганических пестицидов на уровне нг/мл.

Ключевые слова: пестициды; поляризационный флуоресцентный иммуноанализ

В настоящее время в сельском хозяйстве применяются пестициды различной структуры, причем наиболее широко – фосфорорганические и хлорорганические соединения. Негативное воздействие пестицидов на окружающую среду проявляется спустя десятилетия после их использования, так как эти соединения очень устойчивы. Эти вещества высокотоксичны, поэтому обязательным является их отсутствие в продовольственных культурах и продуктах питания. Законодательством РФ («Гигиенические нормативы содержания пестицидов в объектах окружающей среды» ГН 1.2.3111–13) установлены предельно допустимые концентрации в зерне хлебных злаков 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д) – 2000 нг/г, триазофоса – 50 нг/г. Таким образом, необходимо разрабатывать быстрые и надежные методы контроля пестицидов в объектах окружающей среды и пищевых продуктах.

Были разработаны методики поляризационного флуоресцентного иммуноанализа для определения хлорорганического пестицида 2,4-Д, и фосфорорганических пестицидов паратиона и триазофоса, причем определение проводилось в параллельных пробах в течение нескольких минут. Для оптимизации метода ПФИА были синтезированы трейсеры (соединения, меченные флуоресцентной меткой) различной структуры. При разработке ПФИА использовали два прибора: TDx (Abbott Lab, США) и Sentry 200 (Illie, США), и сравнивали аналитические характеристики методик. С помощью прибора: TDx оптимизирована тест-система для определения триазофоса в диапазоне от 18 до 206 нг/мл (IC_{50} = 61 нг/мл), для определения 2,4-Д в диапазоне от 6,1 до 169 нг/мл (IC_{50} = 32 нг/мл). Sentry 200 позволил проводить определение триазофоса в диапазоне от 1,5 до 11 нг/мл (IC_{50} = 4,1 нг/мл), а 2,4-Д в диапазоне от 6,1 до 51 нг/мл (IC_{50}=18 нг/мл).

Работа выполнена при поддержке ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014-2020 годы» (соглашение о предоставлении субсидии № 14.613.21.0028 от 28.11.2014; уникальный идентификатор: RFMEFI61314X0028).

UDK 65.59.03

DETECTION OF PESTICIDE BY FLUORESCENCE POLARIZATION IMMUNOASSAY

Boroduleva A.Y.[1], **Eremin S.A.**[1,2]
[1]*Faculty of Chemistry, M.V.Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*
119991, Moscow, Leninsky Gory 1, building 3
E-mail: saeremin@gmail.com
[2]*A.N. Bach Institute of Biochemistry, Federal Research Centre «Fundamentals of Biotechnology» of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*
119071, Moscow, Leninsky prospect 33/2

The fluorescence polarization immunoassay for detection of an organochlorine pesticide 2,4-D and organophosphate pesticides parathion and triazophos in parallel assay were developed The efficiency of this FPIA method for food and environmental control is demonstrated.

Keywords: pesticide, fluorescence polarization immunoassay

Currently, a lot of different pesticides are used in agricultural area, the most widely – organophosphorus and organochlorine compounds. The negative impact of pesticides on the environment is manifested decades after their use, since these compounds are very stable. These substances are highly toxic, so it is obligatory to their lack of food crops and foods. The legislation of the Russian Federation (“Hygienic standards of pesticides in the environment” GN 1.2.3111–13) set the maximum

permission level in cereal grains at 2000 ng/g for 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and at 50 ng/g –for triazophos. Thus, the rapid and reliable methods of monitoring pesticides in the environment and food samples must be developed.

The fluorescence polarization immunoassay for determination of an organochlorine pesticide 2,4-D and organophosphate pesticides parathion and triazophos were developed, the determination carried out in parallel assays in a few minutes. To optimise the FPIA method the tracers (fluorescent labeled compounds) with different structures were synthesised. The FPIA methods using two instruments: TDx (Abbott Lab, USA) and Sentry-200 (Illie, USA) were applied and compared to analytical performance. The FPIA using TDx instrument is optimized for detection of triazophos ranges from 18 to 206 ng/ml (IC50 = 61 ng/ml) and for detection of 2,4-D in the range from 6.1 to 169 ng/ml (IC50 = 32 ng/ml). The FPIA using Sentry-200 instrument allowed to detect triazophos in the range from 1.5 to 11 ng/ml (IC50 = 4,1 ng/ml) and 2,4-D in the range from 6.1 to 51 ng/ml (IC50 = 18 ng/ml).

This work was supported by the Federal Target Program "Research and development in priority areas of scientific and technological complex of Russia for 2014-2020" (grant agreement № 14.613.21.0028 from 28.11.2014; unique identifier: RFMEFI61314X0028).

БИОЛОГИЧЕСКИЕ И ФИЗИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИННОВАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ПРОДУКТОВ ДЕТСКОГО, ГЕРОДИЕТИЧЕСКОГО, ФУНКЦИОНАЛЬНОГО И ОЗДОРОВИТЕЛЬНОГО ПИТАНИЯ

Исаев В.А.[1], **Симоненко С.В.**[2]

[1]*д.б.н., профессор, зам. директора ФГБНУ «НИИ Детского питания»*

[2]*д.т.н., профессор, директор ФГБНУ «НИИ Детского питания»*

Ключевые слова: инновационные технологии, атеросклероз, микроэмульсия, микркапсулы, ПНЖК ω-3, гомеостаз, оздоровительное питание, функциональные продукты.

На нынешнем этапе развития страны, в условиях действия положений ВТО и таможенного союза очень важным становится создание совершенной концепции здорового питания и, особенно социально незащищенных категорий населения. В этой концепции должны найти место придание этим продуктам оздоровительных факторов питания, без которых поддержание гомеостаза организма невозможно.

Институт детского питания со своими партнерами разработали инновационные технологии производства хлебобулочных изделий функционального назначения, молочно – кислых продуктов оздоровительного действия. Базовой основой этих технологий стали физические и биотехнологические приемы микроэмульгирования и микрокапсулирования ПНЖК ω-3 и обогащение массовых продуктов питания остродефицитными для природных пищевых источников витаминами, микроэлементами, докозагексаеновой и эйкозапентаеновой жирными кислотами. У этих технологий большие перспективы и реальные возможности в решении демографических проблем страны, да и в мире, в целом.

BIOLOGICAL AND PHYSICAL ASPECTS OF INNOVATIVE TECHNOLOGIES OF PRODUCTS OF BABY, GERODIYETICHESKY, FUNCTIONAL AND IMPROVING FOOD

Isaev V.A.[1], Simonenko S.V.[2]
[1]*Doctor of Biological Science, professor, deputy director of scientific research institute of baby food of Russian Academy of Agrarian Sciences*
[2]*Dr. Sci. Tech., professor, director of scientific research institute of baby food of Russian Academy of Agrarian Sciences*

Keywords: innovative technologies, atherosclerosis, microemulsion, mikrkapsula, PNZhK ω-3, homeostasis, improving food, functional products.

At a present stage of development of the country, in the conditions of action of provisions of the WTO and the Customs union very important is a creation of the perfect concept of healthy food and, especially socially unprotected categories of the population. Have to find a place in this concept giving to these products of improving factors of food without which maintenance of a homeostasis of an organism is impossible.

The institute of baby food with the partners was developed by innovative production technologies of bakery products of a functional purpose, dairy – sour products of improving action. Physical and bioprocessing methods of microemulsification and microencapsulation of PNZhK ω-3 and enrichment of mass food vitamins, microcells, dokozageksayenovy and eykozapentayenovy fatty acids, extremely scarce for natural food sources, became a basic basis of these technologies. At these technologies big prospects and real opportunities in the solution of demographic problems of the country and in the world, in general.

УДК 543.544:547.913

ВЛИЯНИЕ ПРИРОДНЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ НА СТРУКТУРНОЕ СОСТОЯНИЕ И ФОРМУ ЛИПОСОМ ФОСФАТИДИЛХОЛИНА, СВОБОДНЫХ И ИНКАПСУЛИРОВАННЫХ БИОПОЛИМЕРАМИ

Пальмина Н.П., Мальцева Е.Л., Бинюков В.И., Каспаров В.В., Антипова А.С., Семёнова М.Г.
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимической физики имени Н.М.Эмануэля РАН (ИБХФ РАН);
119 334 Москва ул. Косыгина д.4, npalm@sky.chph.ras.ru

Методами ЭПР и атомно-силовой микроскопии исследованы липосомы, приготовленные из соевого фосфатидилхолина в присутствии антиоксидантов растительного происхождения и инкапсулированные биополимерамии. Показано, что изученные антиоксиданты существенно изменяют объём и уменьшают микровязкость глубоко лежащих слоёв липосом (на 15–20%), а биополимеры нивелируют эти изменения.

Ключевые слова: растительные антиоксиданты; биополимеры; микровязкость липидов, размеры липосом

В работе в качестве антиоксидантов исследованы эфирное масло (ЭМ) гвоздики, экстракты имбиря, черного и душистого перца, которые включали в липосомы из соевого фосфатидилхолина (ФХ). Методом ЭПР с использованием доксильного стабильного радикала 16-доксилстеариновой кислоты было показано, что все экстракты существенно (на 15–20%) снижают микровязкость глубоко лежащих слоёв липосом, наибольшим эффектом обладал экстракт имбиря (24%). Введение в липосомы биополимеров: казеината натрия, казеината натрия с маль-

тодекстрином (декстрозный эквивалент, ДЭ = 2 и 10) увеличивало микровязкость глубоко лежащих слоёв липосом и по отношению к свободным липосомам и по отношения к липосомам с антиоксидантами (30–35%).

Методом атомно-силовой микроскопии (АСМ) установлено, что введение указанных веществ значительно меняет и размеры каждой липосомы: экстракты антиоксидантов увеличивают площадь сечения и объём липосомы, а биополимеры нивелируют эти изменения.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант 14-16-00102, Бинюков В.И.и Каспаров В.В.выполняли исследования как операторы в Центре атомно-силовой микроскопии и ЭПР, соответственно, в рамках работ по госбюджетному финансированию.

UDK 543.544:547.913

EFFECT OF NATURAL PLANT ANTIOXIDANTS ON THE STRUCTURE AND FORM OF PHOSPHATIDYLCHOLINE LIPOSOMES, FREE AND ENCAPSULATED BY BIOPOLYMERS

Palmina N. P., Maltseva E.L., Binyukov V.I., Kasparov V.V., Antipova A.S., Semenova M.G.
N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics of Russian Academy of Sciences,
Kosygin str., 4, 119334 Moscow, Russian Federation. E-mail: npalm@sky.chph.ras.ru; npalm@mail.ru

Using ESR and atomic force spectroscopy methods we have studied the liposomes prepared form plant phosphatidylcholine (PC) in the presence of plant antioxidant and encapsulated by biopolymers. We have found that all of studied antioxidants significantly increased the volume of liposomes (In 2–3 times) and decreased the lipid microviscosity of deep layer of liposome lipid (at 15–20%), biopolymers neutralized these changes.

Keywords: plant antioxidants, biopolymers, microviscosity of lipids, liposome size.

We have investigated such plant antioxidants as ether oil of clove as well as extracts of ginger, black and sweet pepper, which have been introduced into liposomes from soy phosphatidylcholine (PC). With ESR method using 16-doxyl-stearic acid as a spine-probe we have found that all of the studied antioxidants decreased significantly the lipid microviscosity of a deep layer of the PC liposomes. Ginger had the highest effect (24%). The introduction into liposomes of the biopolymers (sodium caseinate, sodium caseinate with maltodextrine (dextrose equivalent, DE = 2 or 10) resulted in the microviscosity increase in relation to both the control PC liposomes and the liposomes incorporated antioxidants (30–35%).

With method of the atomic force spectroscopy we have found that the introduction of the enumerated substances into the liposomes changed significantly their volume and height: antioxidants increased them, whereas biopolymers graded these changes.

The work was performed under the financial support of the Russian Science Foundation (Grant № 14-16-00102). Binyukov V.I and Kasparov V.V.have carried out research as operators in the Center atomic force microscopy and ESR, respectively, in the framework of the state budget financing.

УДК 544.3.03: 544.032: 544.77

СИНЕРГИЗМ ДЕЙСТВИЯ ФОСФОЛИПИДОВ И КОВАЛЕНТНЫХ КОНЬЮГАТОВ КАЗЕИНАТА НАТРИЯ С МАЛЬТОДЕКСТРИНАМИ В ЗАЩИТЕ ЛЬНЯНОГО МАСЛА ОТ ОКИСЛЕНИЯ

Семёнова М.Г., Зеликина Д.В., Антипова А.С., Мартиросова Е.И., Григорович Н.В., Обушаева Р.А., Шумилина Е.А., Озерова Н.С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук (ИБХФ),
119334 Москва, ул. Косыгина, д. 4. E-mail: mariagersem@mail.ru

Липосомы соевого фосфатидилхолина (ФХ)/мицеллы соевого лизофосфатидилхолина (ЛФХ) и ковалентные коньюгаты казеината натрия с мальтодекстринами действовали вместе более эффективно, чем по отдельности, в защите льняного масла, содержащего около 57% линоленовой кислоты, от окисления.

Ключевые слова: защита от окисления, фосфатидилхолин, лизофосфатидилхолин, ковалентные коньюгаты, казеинат натрия, мальтодекстрины

В выбранных для разработки функциональных продуктов питания соотношениях полиненасыщенных липидов (композиций липосом соевого фосфатидилхолина (ФХ) или мицелл соевого лизофосфатидилхолина (ЛФХ) с льняным маслом (ЛМ)), были найдены синергетические эффекты при использовании фосфолипидов и ковалентных коньюгатов казеината натрия с мальтодекстринами в защите льняного масла от окисления кислородом воздуха. При этом обнаруженные синергетические эффекты наблюдались в широком диапазоне pH водной среды, включающем изоэлектрическую точку белка (pH = 4.8). Для объяснения наблюдаемых синергетических эффектов, прежде всего, были оценены инкапсулирующие способности фосфолипидов и ковалентных коньюгатов по отношению к триглицеридам льняного масла в водной среде, а также исследованы структурные параметры (распределение по размерам) и стабильность во времени формирующихся наноэмульсий льняного масла, стабилизированных фосфолипидами и ковалентными коньюгатами.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 14-16-00102.

UDK 544.3.03: 544.032: 544.77

SYNERGISM OF THE ACTION OF PHOSPHOLIPIDS AND COVALENT CONJUGATES OF SODIUM CASEINATE WITH MALTODEXTRINS IN THE PROTECTION OF FLAXSEED OIL AGAINST OXIDATION

Semenova M.G., Zelikina D.V., Antipova A.S., Martirosova E.I., Grigorovich N.V., Obushaeva R.A., Shumilina E.A., Ozerova N.S.

N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics of Russian Academy of Sciences, Kosygin str., 4, 119334 Moscow, Russian Federation. E-mail: mariagersem@mail.ru

Liposomes of soy phosphatidylcholine (PC)/micells of soy lysophosphatidylcholine (LPC) and covalent conjugates of sodium caseinate with maltodextrins act in the combination more effectively than separately in the protection of a flaxseed oil, containing about 57% of linolenic acid, against oxidation.

Keywords: protection against oxidation, phosphatidylcholine, lysophosphatidylcholine, covalent conjugates, sodium caseinate, maltodextrins

In the right for the functional food ratio of the polyunsaturated lipids (a combination of either liposomes of soy phosphatidylcholine (PC) or micelles of soy lysophosphatidylcholine (LPC) with flaxseed oil (FO)), we have found the synergistic effects under sharing of the phospholipids and covalent conjugates of sodium caseinate with maltodextrins in the protection of the flaxseed oil against oxidation by the air oxygen. As this took place, the revealed synergistic effects were observed in the wide range of pH of an aqueous medium, including the protein isoelectric point (pH = 4.8). In order to account these synergistic effects, we have estimated first of all the encapsulating abilities of both phospholipids and covalent conjugates in relation to the triglycerides of the flaxseed oil in an aqueous medium. In addition we have investigated both the structural parameters (a size distribution) and stability under the storage of the formed nanoemulsions of the flaxseed oil, stabilized by the phospholipids and the covalent conjugates.

This work was financially supported by the Russian Science Foundation, grant № 14-16-00102.

УДК 579.67

ИДЕНТИФИКАЦИЯ БИФИДОБАКТЕРИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КОМПЛЕКСНОГО ПОДХОДА

Сидоренко А.В., Пасцьяк М., Гамьян А., Новик Г.И.
Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь
220141, г. Минск, ул. акад. В.Ф. Купревича, 2
e-mail: a_sidarenka@mbio.bas-net.by

Проведена идентификация 40 штаммов бифидобактерий с использованием комплексного подхода. Проанализирована перспективность применения молекулярно-генетических, биохимических и хемотаксономических методов для определения видовой принадлежности данных микроорганизмов.

Ключевые слова: бифидобактерии, идентификация.

Бифидобактерии, называемые «классическими пробиотиками», широко используются в составе лечебно-профилактических препаратов и продуктов функционального питания. Обеспечение микробиологической безопасности и надлежащего качества бифидосодержащих продуктов, пользующихся повышенным спросом потребителей, актуализирует необходимость точной видовой идентификации данных микроорганизмов.

Проведена идентификация 40 штаммов бактерий рода *Bifidobacterium* с использованием современных молекулярно-генетических, биохимических и хемотаксономических методов. Результаты анализа нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК подтвердили видовую принадлежность 16 (64%) коллекционных и 6 (100%)выделенных из природных источников-штаммов бифидобактерий,9 (100%) штаммов, изолированных из пробиотических препаратов и кисломолочных продуктов, были отнесены к другим видам. Аналогичные данные о видовой принадлежности исследуемых культур бифидобактерий получены с помощью анализа профилей клеточных белков методом MALDI-TOFMS. Выявлены белковые маркеры для идентификации бифидобактерий, определено влияние условий культивирования на достоверность получаемых результатов. Биохимическая идентификация бифидобактерий, основанная на изучении спектра ферментируемых углеводов и продуцируемых ферментов, не позволила точно определить ви-

довую принадлежность анализируемых штаммов, однако оказалась удобным методом для их дифференциации и индивидуальной характеристики.

UDC579.67

IDENTIFICATION OF BIFIDOBACTERIA USING COMPLEX APPROACH

Sidarenka A.V., Pasciak M., Gamian A., Novik G.I.
Institute of Microbiology, Belarus National Academy of Sciences
KuprevichStr. 2, Minsk 220141
e-mail: a_sidarenka@mbio.bas-net.by

Identification of 40 strains of bifidobacteria using complex approachwas performed. The advantages and shortcomingsof application of molecular-genetic, biochemical and chemotaxonomic methods for speciation of these microorganisms were analyzed.

Keywords: bifidobacteria, identification.

Bifidobacteria, known as “classical probiotics”, are widely used in therapeutic preparations and functional food products. To guarantee microbiological safety and proper quality of “bifidus” products gaining consumer popularity, accurate species identification of these microorganisms is required.

We identified 40 bacterial strains belonging to genus *Bifidobacterium* using up-to-date molecular-genetic, biochemical and chemotaxonomic methods. Results of 16S rRNA gene sequence analysis confirmed species affiliation of 16 (64%) collection and 6 (100%) isolated from adult feces strains of bifidobacteria, 9 (100%) strains, isolated from probiotics and dairy products, were identified as representatives of another species. Similar data concerning bifidobacteria speciation was obtained by MALDI-TOF MS protein profiling. Protein biomarkers for bifidobacteria identification were defined and the effect of cultivation conditions on reliability and reproducibility of taxonomic findings was determined. Biochemical identification, based on evaluation of carbohydrate fermentation and enzymatic activity, did not provide accurate bifidobacteria speciation, but was useful for differentiation and characterization of individual strains.

УДК 615.664.54:06

ЭКСПРЕССНЫЕ ИММУНОФЕРМЕНТНЫЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МИКОТОКСИНОВ

Урусов А.Е., Петракова А.В., Возняк М.В.[1], Жердев А.В., Дзантиев Б.Б.
Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва, Россия
119071, Москва, Ленинский проспект 33
e-mail: urusov.alexandr@gmail.com
[1]*ООО «ИЛ Тест-Пущино», Пущино, Московская область, Россия*

Для мониторинга контаминации пищевых продуктов микотоксинами разработаны экспрессные форматы иммуноферментного анализа (ИФА). Предложен кинетический ИФАафлатоксина B1, охратоксина А и зеараленона с пределами обнаружения 0,02, 8 и 0,25 нг/мл, соответственно, при продолжительности анализа 25 минут. Проведена апробация в ИФА магнитных иммуносорбентов, позволяющих проводить высокочувствительное (до 20 пг/мл) определение афлатоксина B1 в средах с содержанием метанола до 60%.

Ключевые слова: микотоксины, иммуноанализ, охратоксин, афлатоксин, зеараленон.

Микотоксины, низкомолекулярные метаболиты плесневых грибов, являются одними из приоритетных токсичных контаминант пищевой продукции, что обусловливает необходимость в средствах их производительного мониторинга. Нами разработаны новые форматы иммуноферментного анализа (ИФА) микотоксинов, сочетающие экспрессность, высокую чувствительность и пригодность для тестирования экстрактов проб с минимальными разведениями.

Проведение ИФА в кинетическом режиме, без достижения равновесия иммунохимической реакцией дает возможность сократить продолжительность взаимодействия с 60 до 5–10минут. При этом использование в ИФА мечения иммунных комплексов с помощью биотина с длинным – $(CH_2)_{14}$ – мостиковым участком и конъюгата стрептавидина с полипероксидазой обеспечивает сохранение высокой амплитуды сигнала, несмотря на переход в кинетический режим. Пределы обнаружения афлатоксина B1, охратоксина A и зеараленона составили 0,02,8 и 0,25 нг/мл, соответственно, при продолжительности анализа 25 минут. Кинетический ИФА был успешно применен для контроля пищевой продукции; для проведения анализа достаточно двукратного разведения исходных экстрактов (конечное содержание метанола в реакционной смеси–до 25%).

Другим методическим решением было использование иммобилизации антител на частицах магнетита, диспергированных в растворе, обеспечивающеепри проведении ИФА экспрессность (за счет перехода от гетерогенных к гомогенным взаимодействиям), высокую чувствительнос ть(концентрирование детектируемых комплексов с помощью магнитного поля) и возможность тестирования неразбавленных экстрактов (стабилизация антител при иммобилизации). Данный подход позволил сократить продолжительность иммунного взаимодействия до 5 минут и обеспечить выявление афлатоксина B1 в концентрациях до 20 пг/мл, а в варианте с магнитной сепарацией – до 2 пг/мл. Проведена апробация ИФА для контроля афлатоксина B1 в препаратах ячменя, кукурузы; показана возможность проводить измерения в экстрактахбез дополнительных разведений(содержание метанола в реакционной смеси – 60%).

Работа выполнена при поддержке ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014-2020 годы»(соглашение о предоставлении субсидии № 14.607.21.0015 от 05.06.2014; уникальный идентификатор: RFMEFI57714X0034).

EXPRESS IMMUNOENZYMETECHNIQUES FOR MYCOTOXIN DETECTION

Urusov A.E., Petrakova A.V., Vozniak M.V[1]., Zherdev A.V., Dzantiev B.B.
A.N. Bach Institute of Biochemistry of the Russian Acad. Sci., Moscow, Russia
119071 Moscow, Leninsky prospect 33
e-mail: urusov.alexandr@gmail.com
[1]*IL Test-Pushchino Ltd., Pushchino, Moscow Region, Russia*

For the monitoring of food contamination by mycotoxins express formats of immunoenzyme assay (ELISA) have been developed. A kinetic ELISA of aflatoxin B1, ochratoxin A and zearalenone has been proposed with detection limits of 0.02, 0.25 and 8 ng/mL, respectively, andduration of 25 min. Magnetic immunosorbents were approbated in the ELISAs; they allow to carry out highly-sensitive (up to 20 pg/mL) determination of aflatoxin B1 in media containing 60%.of methanol.

Keywords: mycotoxins, immunoassay, ochratoxin, aflatoxin, zearalenone.

Mycotoxins, low molecular weight metabolites of fungi are among the priorities of toxic contaminants of food products, thus necessitatingproductive tools fortheir monitoring. We have developed

new formats of enzyme immunoassay (ELISA) for mycotoxins, combining rapidity, high sensitivity and suitability for testing extracts of samples with minimal dilutions.

Carrying out the ELISA in kinetic regime, without reaching equilibrium by immunochemical reaction allows to reduce the duration of the interaction from 60 to 5–10 min. The use of biotin with an extended spacer, $-(CH_2)_{14}-$, together with a streptavidin–polyperoxidase conjugate provided high levels of signals, despite these interactions occurring under non-equilibrium conditions. Limits of detection of aflatoxin B1, ochratoxin A and zearalenone were 0.02, 0.25 and 8 ng/mL, respectively, with 25 min duration of the assay. The kinetic ELISA has been successfully applied for the control of food products; double dilutions of original extracts (final content of methanol in the reaction mixture –up to 25%)are sufficient for the analysis.

Another proposed approachwas to use a immobilization of antibodies on the magnetite particles dispersed in a solution. It provides rapidity during the ELISA (due to the transition from homogeneous interactions to heterogeneous ones), high sensitivity (of detected complexes are concentrated by a magnetic field), and the possibility to test undiluted extracts (stabilization of the antibodies after their immobilization). The given approach reduces the duration of immune interactions to 5 min and ensures detection of aflatoxin B1 in concentrations up to 20 pg/mL, and in the variant with the magnetic separation – upto 2 pg/mL. The ELISA was applied for the control of aflatoxin B1 in preparations of barley and maize. The possibility to perform measurements without additional dilutions of the extracts (the content of methanol in the reaction mixture – 60%) was demonstrated.

This work was supported by the Russian State Target Program «Research and Development in Priority Areas of Development of the Russian Scientific and Technological Complex for 2014–2020» (contract 14.607.21.0015 from June 05, 2014; unique identifier of applied research: RFMEFI57714X0034),

УДК 579.674: 615.272: 612.392.9

ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРОДУКЦИИ СОВРЕМЕННЫХ МИКРОБНЫХ БИОТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ ПОДДЕРЖАНИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО ГОМЕОСТАЗА ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ СПОРТСМЕНОВ

Яшин Т.А.[1], **Суворов А.Н.**[2], **Алехина Г.Г.**[2], **Сергеев В.Н.**[3], **Калюжин О.В.**[4]

[1]*Федеральный научно-клинический центр спортивной медицины и реабилитации Федерального медико-биологического агентства России, Москва, Россия*
121059, г. Москва, ул .Большая Дорогомиловская, дом 5
e-mail: yatim79@mail.ru
[2]*Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины Северо-Западного отделения Российской академии медицинских наук, Санкт-Петербург, Россия*
[3]*Российский научный центр медицинской реабилитации и курортологии Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия*
[4]*Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия*

Выделены три основные группы средств повышения метаболического гомеостаза спортсменов на основе микробных биотехнологий и показана их эффективность в качестве средств повышения работоспособности спортсменов и профилактики нарушений здоровья, связанных с обменом веществ.

Ключевые слова: микробные биотехнологии; пробиотики; метаболизм; спортсмены; адаптация.

Использование различных продуктов на основе современных микробных биотехнологий является перспективным способом повышения общей и специальной работоспособности, а также защиты от метаболически-обусловленных заболеваний профессиональных спортсменов.

Можно выделить 3 самостоятельные группы продуктов на основе современных микробных биотехнологий для использования в спорте высших достижений:

1. Классические пробиотики на основе лакто- и бифидобактерий.
2. Специализированные микробные («пробиотические») продукты на основе непатогенных микроорганизмов, не способных к значительной колонизации ЖКТ.
3. Продукты на основе интактных микроорганизмов или их отдельных компонентов.

Пробиотические продукты, относящиеся к первой группе («Биовестин-лакто», «Бифидумбактерин») эффективно используются в качестве средств улучшения пищеварения, профилактики диарей и повышения общего уровня адаптации у профессиональных спортсменов.

Исследования продуктов, относящихся ко второй группе («БИЛАКТИН», «Ламинолакт») показали их эффективность в отношении повышения общей и специальной работоспособности, нормализации липидного обмена и структуры массы тела, улучшения функции отдельных систем организма спортсменов.

Продукты третьей категории («Гитагамп-PGN») возможно эффективно применять в качестве средств повышения иммунной активности и профилактики сезонных заболеваний у спортсменов на фоне предельных нагрузок на организм.

THE POSSIBILITIES FOR USE OF PRODUCTS OF MODERN MICROBIAL BIOTECHNOLOGY FOR MAINTAINING METABOLIC HOMEOSTASIS PROFESSIONAL ATHLETES

Yashin T.A.[1], **Suvorov A.N.**[2], **Aljokhina G.G..**[2], **Sergeev V.N.**[3], **Kaljuzhin O.V.**[4]

[1]*Center of physical therapy and sports medicine of the Federal medical-biological Agency of the Russian Federation*

Federal center of sports medicine and rehabilitation of the Federal medical-biological Agency of Russia, Moscow, Russia

Address: Bolshaya Dorogomilovskaya St., 5, Moscow, Russia, 121059

e-mail: yatim79@mail.ru

[2]*Institute of Experimental Medicine of the North-West Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, Saint Petersburg, Russia*

[3]*Russian Scientific Center of Medical Rehabilitation and Balneology of the Russian Federation's Ministry of health, Moscow, Russia*

[4]*I.M. Sechenov's First Moscow State Medical University, Moscow, Russia*

Three main product's groups to improve athlete's metabolic homeostasis that based on microbial biotechnology had identified. The effectiveness of these products as a means of improving the performance of athletes and prevention of metabolic-related diseases had shown.

Keywords: microbial biotechnology; probiotics; metabolism; athletes; adaptation.

Using a variety of products based on modern microbial biotechnology is a promising way to improve the general and special performance, as well as protection against metabolic-related diseases of professional athletes.

There are 3 separate groups of products on the basis of modern microbial biotechnology for use in elite sport:

1. Classic probiotics based on lacto-and bifidobacteria.
2. Specialized microbial («probiotic») products, based on non-pathogenic microorganisms, not capable of significant gastrointestinal colonization.
3. The products based on intact microorganisms or their individual components.

Probiotic products belonging to the first group («Biovestin-lacto», «Bifidumbacterin») is effectively used as a means of improving digestion, preventing diarrhea and improve the overall level of adaptation among professional athletes.

Research products belonging to the second group («BILACTIN», «Laminolakt») have shown their effectiveness in relation to improving the general and special performance, normalization of lipid metabolism and body weight of the structure, improve the functions of the individual systems of the body athletes.

Products of the third category («Gitagamp-PGN») are effectively to use as a means of enhancing the immune activity and prevention of seasonal diseases in athletes against the background of extreme stress on the body.

УДК 65.59.03

РАЗРАБОТКА ИММУНОФЕРМЕНТНОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ НА ТРОПОНИН I И ЕЕ ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ХАРАКТЕРИСТИКИ СОДЕРЖАНИЯ МЫШЕЧНЫХ ТКАНЕЙ МЛЕКОПИТАЮЩИХ В МЯСНЫХ ПРОДУКТАХ

Зверева Е.А., Жердев А.В., Пташник И.В., Ковалев Л.И., Иванов А.В., Шишкин С.С., Дзантиев Б.Б., Чернуха И.М.[1], Лисицын А.Б.[1]

Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия

119071, Москва, Ленинский проспект, д.33, стр. 2

e-mail: zverevaea@yandex.ru

[1]*Всероссийский научно-исследовательский институт мясной промышленности Москва, Россия*

Для оценки состава мясных продуктов предложена методика иммуноопределения высокостабильного маркера – мышечной изоформытропонина I, включающая пробоподготовку (экстракцию 0,5 М KCl в сочетании с термообработкой), и иммуноферментный анализ в сэндвич-формате. Показана эффективность методики для выявления содержания в мясных продуктах мышечных тканей млекопитающих.

Ключевые слова: мясо, мясопродукты; иммуноферментный анализ, тропонин I.

Для эффективного контролякачества потребительских мясопродуктов и предотвращения фальсификаций необходимы достоверные и производительные методы, которые позволят идентифицировать содержание разных видов сырья.В работе показана возможность использования скелетно-мышечного белка тропонина I (TnI) в качестве термостабильного и специфичного биомаркера для характеристики содержаниямышечных тканей в мясных продуктах. Для детекцииTnI предложена методика, включающая пробоподготовку (экстракцию белков 0,5 М KCl в сочетании с термообработкой) и иммуноферментный анализ в сэндвич-формате. Методика характеризуется пределом обнаружения TnI 4,8 нг/мл придиапазоне определяемых концентраций 8,7–52 нг/мл. Специфичность используемых антител позволяет отличать продукты из мяса млекопитающих (говядина, свинина, баранина, конина) от продуктов из мяса птиц (курица,

индейка, утка). Методика апробирована для характеристики проб мяса и мясопродуктов (сосиски). Результаты иммуноферментного определения TnI подтверждены данными двумерного электрофореза. Разработанная методика представляется эффективным средством контроля аутентичности и качества мясных продуктов.

Работа выполнена в рамках гранта 14-16-00149 Российского научного фонда.

UDK 65.59.03

DEVELOPMENT OF ENZYME IMMUNOASSAY SYSTEM FOR TROPONIN I AND ITS APPLICATION TO CONTROL CONTENT OF MAMMALIAN MUSCLE TISSUES IN MEAT PRODUCTS

Zvereva E.A., Zherdev A.V., Ptashnik I.V., Kovalev L.I., Ivanov A.V., Shishkin S.S., Dzantiev B.B., Chernukha I.M.[1], Lisitsyn A.B.[1]

A.N. Bach Institute of Biochemistry, Federal Research Centre «Fundamentals of Biotechnology»of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

119071, Moscow, Leninsky prospect 33/2

e-mail: zverevaea@yandex.ru

[1]*The Gorbatov's All-Russian Meat Research Institute, Moscow, Russia*

Technique of the immune detection of highly stable marker, skeletal muscle protein troponin I, is proposedfor evaluation of the meat productscomposition. The procedure includes sample preparation (extraction by 0.5 M KClcombined with heat treatment) and sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The efficiency of this technique in the assessment of mammalian muscle tissues in various meat products is demonstrated.

Keywords: meat, meat products, ELISA, troponin I.

For effective control of the quality of meat products and consumer fraud prevention reliable and efficient analytical methods are necessary that allow to quantify content of different types of raw materials. In the presented study, skeletal muscle protein troponin I (TnI) has been characterized as a potential thermally stable and species-specific biomarker of mammalian muscle tissues in raw meat and meat products. A technique for the quantification of TnI is proposed. It includes sample preparation (extraction by 0.5 M KCl combined with heat treatment) and sandwich enzyme-linked immunosorbent assay. The technique is characterized by TnI detection limit equal to 4.8 ng/ml, with quantifiable concentrations ranging from 8.7 to 52 ng/ml. The specificity of the used antibodies allows distinguishing products from mammalian meat (beef, pork, lamb, and horse) from poultryproducts (chicken, turkey, and duck).The developed protocol was used to characterize meat and meat-based products, including various kinds of sausages. The TnI estimations obtained for pork and beef samples by ELISA were comparable with the results of proteomic analysis. Thus, the quantitative study of TnI may be considered as a convenient way to assess the content of mammalian muscle tissues in various meat products.

This investigation was financially supported by the Russian Scientific Foundation (project No 14-16-00149).

ПОСТЕРЫ
POSTERS

УДК 633.1

К ОПРЕДЕЛЕНИЮ ОБЩЕГО СОДЕРЖАНИЯ АНТОЦИАНОВ В ПЛОДАХ ЗЕМЛЯНИКИ САДОВОЙ (Fragaria x ananassa Duch.)

Чупахина Н.Ю.[1], **Тынутаре Т.** [2], **Моор У.**[2]

[1]*Калининградский государственный технический университет, кафедра Зоотехнии, г. Калининград 236022, просп. Советский 1.*
E-mail: tchupakhina.nataliya@ya.ru
[2]*Эстонский Университет Естественных Наук, Институт Садоводства, Эстония, г. Тарту 51014, ул. Кресчевальди 1. E-mail: tonu.tonutare@gmail.com*

Определение содержания антоцианов в ягодах различных сортов земляники садовой (Fragaria x ananassa Duch.) несколькими методами позволяет утверждать, что при выборе спектрофотометрического метода следует использовать величину молярного коэффициента поглощения ε, равную 15600.

Ключевые слова: антоцианы, земляника садовая, пеларгонидин-3-глюкозид.

Объектом исследования послужило суммарное содержание антоцианов в плодах земляники садовой (Fragaria x ananassa Duch.) (клубники), наибольший вклад в которое вносит пеларгонидин-3-глюкозид. Для вычисления результатов его спектроскопического определения важнейшую роль играет выбор молярного коэффициента поглощения ε. Значение молярного коэффициента поглощения зависит от pH фактора, полярности растворителей и других условий определения. В литературе можно встретить несколько различных значений ε пеларгонидин-3-глюкозида, широко используемых при вычислений общего содержания антоцианов в клубнике /1/. Это означает, что при использование различных величин ε, мы можем получить результаты суммарного содержания антоцианов, различающиеся между собой более, чем в два раза. Эксперименты, связанные с определением антоцианов в различных сортах клубники, как хроматографическим, так и спектрофотометрическим методами, позволяют утверждать, что самое реалистическое значение суммарного содержания антоцианов может быть получено при использовании величины ε = 15600 для пересчёта результатов, полученных спектрофотометрическим методом.

1. T. Tõnutare, U. Moor, L Szajdak. Strawberry anthocyanin determination by pH differential spectroscopic method – how get true results? // Acta Sci. Pol. / Hortorum Cultus. 2014. Vol. 13. No 3. P. 35-47.

UDK 633.1

ASSESMENT OF THE TOTAL ANTHOCYANINS CONTENT IN STRAWBERRY (Fragaria x ananassa Duch.)

Tchoupakhina N.J.[1], **Tõnutare T.**[2], **Moor U.**[2]
[1]*Kaliningrad State Technical University, Zooengineering Department,*
Kaliningrad 236022, ave. Sovetskiy pr. 1. e-mail: tchupakhina.nataliya@yandex.ru
[2]*Estonian University of Life Sciences, Department of Horticulture,*
Estonia, Tartu, 51014, Kreutzwaldi 1. e-mail: tonu.tonutare@gmail.com

The most important role in calculations of the results of spectroscopic determinations of anthocyanins plays the choice of molar absorption coeficient ε. The most realistic results is obtained when it is used for calculations as ε = 15600

Keywords: strawberry, anthocyanins, pelargonidin 3 glycoside

The anthocyanins are one of the most abundant health promoting phenolic compounds in plant world. The important sources of anthocyanins is berries: strawberry, blueberry, grape, and etc. The estimation of total intake of anthocyanins by human is compromised due to large number individual anthocyanins. In the strawberries found up to 27 anthocyanins, which content can vary in wide range depending from cultivar and agricultural conditions. For the determination of anthocyanins content can be used chromatographic or spectrometric method. The main anthocyanin in strawberries (Fragaria x ananassa) is pelargonidin 3 glycoside. The most important role in calculations of results spectroscopic determinations plays the choice of molar absorption coeficient ε. The molar absorption coefficient value of anthocyanins is depending from environmental conditions, like pH, polarity of solvents etc. In literature we can find several diferent values for strawberry main anthocyanin pelargonidin 3 glycoside: ε = 36000, 27300, 22400, 15600 and others /1/. It means, that using the diferent ε values we can get the contents of anthocyanins which diferents more than two times. The experiments of determination anthocyanins in different strawberry varities by chromatographic and spectrometic method provided in Estonian University of Life Sciences shows clearly, that the most realistic content of anthocyanins is obtained when for calcuations is used ε = 15600.

1. Tõnutare T., Moor U., Szajdak L. Strawberry anthocyanin determination by pH differential spectroscopic method – how get true results? // Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus. 2014. Vol. 13. No 3. P. 35-47.

УДК 637.136: 663.051

СУХАЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНАЯ ДОБАВКА ИЗ ВЕРБЛЮЖЬЕГО МОЛОКА

Дудикова Г.Н., Чижаева А.В., Сагындыков У.З
Казахский научно-исследовательский институт перерабатывающей и пищевой промышленности, Алматы, Казахстан
050060, Алматы, пр. Гагарина 238 Г
e-mail: G_niipp@mail.ru

Разработана биотехнология получения сухой таблетированной биологически активной добавки (СБАД) на основе верблюжьего молока с использованием консорциума молочнокислых и бифидо-бактерий и инулина из топинамбура.

Ключевые слова: биологически активные добавки (БАД), консорциум, молочнокислые бактерии, бифидобактерии

Юго-Западный регион остается крупнейшим в Казахстане производителем верблюдоводческой продукции мяса, молока, шерсти. Здесь сосредоточено 90% от общего количества верблюдов в республике. Верблюжье молоко и шубат занимают значительное место в питании населения Казахстана. Верблюжье молоко отличается высокой сбалансированностью аминокислотного состава, высоким содержанием коротко- и средне цепочных жирных кислот и способностью в процессе брожения образовывать мелкие и рыхлые сгустки, что обуславливает его высокую усвояемость. Разработанная нами технология получения СБАД, включает ферментацию верблюжьего молока консорциумом культур *Lb. acidophilus KM-2: Lc. cremoris TM-5: B. bifidum*, в оптимальном соотношении 1:1:1 с добавлением инулина из топинамбура, сублимационную сушку и таблетирование готового продукта. Установлено, что культуры молочнокислых и бифидо- бактерий продуцируют экзополисахариды и синтезируют биологически активные низкомолекулярные пептиды с Мм 50,0; 10,0; 5,0 и ниже 5,0 кДа. Пищевая ценность СБАД (г/100г) составляет : белки – 25,56, жиры – 21,10, углеводы – 36,82; витамины в 100г: РР – 0,66мг, С – 3,78мг. Содержание основных компонентов обеспечивает энергетическую ценность – 439 ккал/100г. СБАД можно рекомендовать в качестве пробиотического препарата и профилактического средства, а также в комплексной терапии при различных заболеваниях, связанных с нарушениями микробиоценоза.

УДК 65.59.03

РАЗРАБОТКА ИММУНОФЕРМЕНТНОГО И ПОЛЯРИЗАЦИОННОГО ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ИММУНОАНАЛИЗА ПИЩЕВОГО КРАСИТЕЛЯ СУДАН-I

Еремин С.А.[1,2], **Шанин И.А.**[1], **Жердев А.В.**[2], **Дзантиев Б.Б.**[2]

[1]*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Химический факультет, Москва, Россия*

119991, Москва, Ленинские Горы, дом 1, стр. 3

E-mail: saeremin@gmail.com

[2]*Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия*

119071, Москва, Ленинский проспект, д.33, стр. 2

Для быстрого и количественного определения азо-красителя Судан-I в продуктах питания получены иммунореагенты и предложены методики ИФА и поляризационный флуоресцентный иммуноанализа.

Ключевые слова: ИФА, поляризационный флуоресцентный иммуноанализ, азо-краситель Судан-I

Судан-I – синтетический азо-краситель красного цвета, используемый для подкрашивания пищевых продуктов. Этот краситель производится и широко используется в России. Используемые методы высокоэффективной жидкостной хроматографии позволяют определять Судан-I на уровне 0,1 мг/кг (диодноматричный детектор) и 0,5 мг/кг (масс-детектор). Однако хроматографические методы довольно длительные, сложные и дорогие. В последнее время для определения загрязнителей пищевых продуктов все чаще применяют иммунохимические методы, эффективные прежде всего для высопроизводительного массового скрининга и мониторинга пищевых продуктов.

Получены иммунореагенты (конъюгаты производных судана с белками и поликлональные антитела) и разработаны методики иммуноферментного (ИФА) и поляризационного флуоресцент-

ного иммуноанализа (ПФИА) Судана-I. В обоих форматах анализа реализуется конкурентное связывание с антителами аналита в тестируемой пробе и соединений судана с меткой – пероксидазой (для ИФА) или флуоресцеином (для ПФИА). В зависимости от структуры меченых соединений (место и длина соединительного мостика между меткой и аналитом) разработаны различные по чувствительности и специфичности методики, позволяющие определять Судан-I в диапазоне концентраций мкг/мл за 1 мин (ПФИА) или нг/мл за 2 ч (ИФА), что соответствует практическим потребностям контроля качества и безопасности пищевых продуктов.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 14-03-00753_а.

UDK 65.59.03

DEVELOPMENT OF FLUORESCENCE POLARIZATION IMMUNOASSAY FOR DETECTION OF FOOD DYE SUDAN-I

Eremin S.A.[1,2], **Shanin I.A.**[1], **Zherdev A.V.**[2], **Dzantiev B.B.**[2]

[1]*Faculty of Chemistry, M.V.Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*
119991, Moscow, Leninsky Gory 1, building 3
E-mail: saeremin@gmail.com
[2]*A.N. Bach Institute of Biochemistry, Federal Research Centre «Fundamentals of Biotechnology» of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*
119071, Moscow, Leninsky prospect 33/2

The immunoreagents were prepared and methods ELISA and fluorescence polarization immunoassay were developed for rapid and quantitative determination of azo-dye Sudan-I in foods samples.

Keywords: ELISA, fluorescence polarization immunoassay, azo-dye Sudan-I

Sudan-I is synthetic red azo-dye used for coloring foods. This dye is produced and widely distributed in Russia. The HPLC methods are used for detection of Sudan-I at level 0.1 mg/kg (diode detector) and 0.5 mg/kg (mass detector). However, chromatographic methods are quite time-consuming, complicated and expensive. Recently, for the determination of contaminants in food is increasingly used immunochemical methods, above all for efficient high-throughput mass screening and monitoring of food.

The immunoreagents (conjugates with proteins derived Sudan-I and polyclonal antibodies) were obtained and the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and fluorescence polarization immunoassay (FPIA) methods have been developed. In both formats, the analysis is implemented competitive binding to antibodies of the analyte in the test sample and labeled compounds Sudan-I – peroxidase (ELISA) or fluorescein (for FPIA). Depending on the structure of the labeled compounds (location and length of the connecting bridge between the analyte and the label), are designed for high sensitivity and specificity techniques to determine the concentration Sudan-I in range ug/ml for 1 min (FPIA) or ng/ml for 2 hours (ELISA) that meets the practical needs of quality control and food safety.

This work was supported by the Russian Scientific Foundation (project No 14-03-00753_a).

УДК 577.19.591.21

ВЛИЯНИЕ МАЛЫХ ДОЗ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ МЫШЕЙ

Фаткуллина Л.Д., Мишарина Т.А., Голощапов А.Н., Бурлакова Е.Б.
ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия
119334, Москва, ул. Косыгина, 4.
e-mail: bcp-lfat@mail.ru

Изучена биологическая активность эфирных масел в опытах *in vivo*. Установлено, что эфирные масла орегано и чабера обладают антиоксидантным, геропротекторным и противоопухолевым действием и их систематический прием в малых дозах можно рекомендовать для профилактики различных заболеваний.

Ключевые слова: эфирные масла, антиоксиданты, ПОЛ, старение, лейкоз, мыши

Более полувека назад академиком Н.М. Эмануэлем было доказано геропротекторное действие синтетических антиоксидантов (АО). Натуральными АО являются эфирные масла (ЭМ) пряно-ароматических растений. Цель работы – изучение АО и геропротекторного действия ЭМ в моделях *in vivo*. Здоровые мыши линии Balb/c, получавшие на протяжении всей жизни питьевую воду, содержавшую 150 нг/мл ЭМ орегано, жили дольше, чем мыши контрольной группы: средняя и максимальная продолжительность жизни была больше на 120 и на 141 день, латентный период – на 99 дней, а скорость гибели мышей была на 14% меньше. При этом ЭМ орегано проявляло свойства биоантиоксиданта *in vivo*, обусловленное присутствием в нем карвакрола.

Карвакрол является основным компонентом и в ЭМ чабера, его действие изучено на мышах со спонтанным лейкозом линии AKR. Найдено, что ЭМ чабера при приеме малых доз с питьевой водой (150 нг/мл) в течение всей жизни оказывалл противолейкозное действие – снижало на 37% число заболевших мышей. ЭМ чабера увеличивало среднюю ПЖ на 26%, максимальную – на 12% и латентный период на 82 дня по сравнению с контролем.

Полученные в работе результаты доказывают, что карвакол-содержащие ЭМ орегано и чабера перспективны в качестве натуральных препаратов с биоантиоксидантными свойствами, обладают геропротекторным и противоопухолевым действием и их систематический прием в малых дозах можно рекомендовать для профилактики различных заболеваний.

UDK 577.19.591.21

THE INFLUENCE OF SMALL DOSES OF ESSENTIAL OILS ON THE LIFESPAN OF MICE

Fatkullina L.D., Misharina T.A., Goloschapov A.N., Burlakova E.B.
Emanuel Institute of Biochemical Physics RAS, Moscow, Russia
4, Kosygin Street, Moscow, 119334
e-mail: bcp-lfat@mail.ru

Studied biological activity of essential oils in experiments *in vivo*. Found that essential oils oregano and savory have antioxidant, *geroprotective and* anti-*tumor activity*. A *systematic method* EO *in small doses can be recommended for the* prevention *of various* diseases.

Keywords: *essential oils*; antioxidant; *lipid leukemia*; *mouse peroxidation*; aging; mouse

More than half a century ago by academician N.M. Emanuel been proven geroprotective effect of synthetic antioxidants (AO). Natural AO are essential oils (EO) of aromatic plants. The aim of this

work is the study of the antioxidant and geroprotective action in the EO models *in vivo*. Healthy mice of Balb/c treated throughout life drinking water containing 150 ng/ml EO oregano, lived longer than mice in the control group: mice was 14% less average and maximum lifespan was greater than 120 and 141 day latent period of 99 days, and the rate of death of mice was 14% less. While EO oregano showed properties of bioantioxidants *in vivo*, due to the presence of carvacrol. Carvacrol is the main component in EO savory, its effect was studied on mice with spontaneous leukemia of AKR. Found EO savory when receiving low doses in drinking water (150 ng/ml) during the entire life had anti-leukemia effect is reduced by 37% the number of infected mice. EO savory increased the average mud by 26%, maximum 12% and the latent period for 82 days compared with the control. The obtained results prove that karwakol-containing EO oregano and savory promising natural products with bio-antioxidant properties have geroprotective and anti-tumor activity and a systematic method in small doses can be recommended for the prevention of various diseases.

УДК 577.151

ЭНЗИМАТИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ ДУШИСТЫХ ВЕЩЕСТВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФРАКЦИИ СИВУШНОГО МАСЛА

Гамаюрова В.С., Зиновьева М.Е., Шнайдер К.Л.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Казанский национальный исследовательский технологический университет» (ФГБОУ ВПО «КНИТУ»), г. Казань, Россия

420015, г. Казань, ул. К. Маркса 68, тел.: (843)2-314-165, e-mail: zino-mari@yandex.ru

Показана возможность ферментативного синтеза ряда душистых веществ с использованием в качестве источника изоамилового спирта фракции сивушного масла.

Широкое применение душистых веществ диктует необходимость поиска новых методов их получения. В связи с увеличением требований к экологической безопасности процессов перспективным является применение природных биокатализаторов – ферментов. Показана возможность синтеза ряда душистых веществ из класса сложных эфиров (изоамилсалицилата, изоамилбензоата, изоамилпропионата) при применении биокатализаторов – липаз различного происхождения (панкреатической липазы из поджелудочной железы свиньи и липазы из *Candida rugosa*) с использованием фракции сивушного масла (tкип = 120 – 200°C) в качестве источника изоамилового спирта. Установлено, что и панкреатическая липаза и липаза из *Candida rugosa* осуществляют этерификацию пропионовой кислоты эффективнее, чем бензойной кислоты. Подобраны оптимальные условия ферментативного синтеза изоамилбензоата. Липаза из *Candida rugosa* может быть рекомендована для синтеза изоамилбензоата, так как выход целевого эфира почти в два раза выше, чем при применении панкреатической липазы. Сравнительный анализ двух видов биокатализаторов показал, что при синтезе изоамилпропионата в подобранных оптимальных условиях, используемые ферментные препараты способны синтезировать душистый эфир с высоким выходом, более 90% за 24 ч. Однако, при этом использование препарата липазы из *Candida rugosa* более выгодно, так как расход данного ферментного препарата в три раза меньше, чем при использовании препарата панкреатической липазы.

УДК 577.151

ENZYMATIC SYNTHESIS OF FLAVOR ESTERS FROM FRACTION OF FUSEL OIL

Gamaurova V.S., Shnayder K.L., Zinoveva M.E.
Federal State Educational Institution of Higher Professional Education
"The Kazan National Research Technological University" (KNRTU), Kazan, Russia
420015, Kazan, K. Marx street 68, tel.: (843)2-314-165, e-mail: zino-mari@yandex.ru

The possibility of enzymatic synthesis of flavor esters from fraction of fusel oil as source of isoamyl alcohol has been shown.

The need to find new methods of obtaining of flavor esters is due to their wide application. The application of enzymes is ecologically safe. The possibility of synthesis a number of flavor esters (of propionic acid isoamyl ester, benzoic acid isoamyl ester, salicylic acid isoamyl ester) when using biocatalysts – lipases of different origins (pancreatic lipase from porcine pancreas and lipase from *Candida rugosa*) using fusel oil fraction (bp = 120–200°C) as a source of isoamyl alcohol was demonstrated. It was found that pancreatic lipase and lipase from *Candida rugosa* is carried out esterification of propionic acid more efficiently than benzoic acid. The optimum conditions for synthesis of benzoic acid isoamyl ester were determined. Lipase from *Candida rugosa* may be recommended for the synthesis of benzoic acid isoamyl ester because the yield of the desired ester is in two times higher than that with pancreatic lipase. In these conditions the yield propionic acid isoamyl ester was 91-92% per 24 h with both enzyms. However, the use of preparation from the yeast *Candida rugosa* is more profitable as the enzyme flow rate is in three times smaller than that with pancreatic lipase.

УДК 577.19.591.21

ИЗМЕНЕНИЯ СОСТАВА ЖИРНЫХ КИСЛОТ В МОЗГЕ СТАРЕЮЩИХ МЫШЕЙ

Мишарина Т.А., Фаткуллина Л.Д., Бурлакова Е.Б.
ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия
119334, Москва, ул. Косыгина, 4.
e-mail: tmish@rambler.ru

Установлены возрастные изменения в составе жирных кислот мозга мышей. Систематический прием малых доз ЭМ орегано значительно снижал интенсивность ПОЛ, улучшал состав ЖК мозга стареющих мышей, обогащая его жизненно важными полиненасыщенными ЖК, что защищает мозг от старения

Ключевые слова: жирные кислоты; антиоксиданты; эфирные масла; ПОЛ; старение; мозг; мыши

Структура клеточных мембран мозга и его функциональные свойства определяются соотношением насыщенных (НЖК) и полиненасыщенных (ПНЖК) жирных кислот. Цель работы – изучение влияния ЭМ орегано на состав ЖК мозга мышей. Найдено, что по мере старения в мозге интактных мышей линии Balb/c содержание НЖК и ПНЖК снижалось, а мононенасыщенных (МНЖК) – увеличивалось. Ежедневный прием ЭМ орегано с питьевой водой снижал долю МНЖК и увеличивал содержание ПНЖК в мозге мышей по сравнению с возрастным контролем. При этом увеличивался уровень ди-, три- и тетраеновых кислот, а также докозагексаеновой кислоты, что крайне важно для поддержания электрофизиологических функций мозга, всей нервной системы, а также для обеспечивания функций обучения, памяти, поведения. Таким образом, систематический прием малых доз ЭМ орегано значительно снижал интенсивность

ПОЛ, улучшал состав ЖК мозга стареющих мышей, уменьшая количество НЖК и обогащая его жизненно важными ПНЖК, уровень которых в процессе старения снижался. Это позволяет рассматривать ЭМ как новый класс натуральных биологически активных соединений с профилактическим и геропротекторным действием, способным существенно влиять на изменения, происходящие в мозге при старении.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант 14-16-00102. Часть исследований выполнены Фаткуллиной Л.Д.и Бурлаковой Е.Б.в рамках работ по госбюджетному финансированию.

UDK 577.19.591.21

CHANGES IN THE COMPOSITION OF FATTY ACIDS IN BRAIN AGING MICE

Misharina T.A., Fatkullina L.D., Burlakova E.B.
Emanuel Institute of Biochemical Physics RAS, Moscow;
4, Kosygin Street, Moscow, 119334
E-mail: tmish@rambler.ru

Established age-related changes in fatty acid composition of the brain of mice. Systematic reception of small doses of essential oil oregano significantly reduced the intensity lipid peroxidation, improved the structure of the fatty acids of brain aging mice, enriched its vital polyunsaturated fatty acids, protected the brain from aging.

Keywords: fatty acids, antioxidants, essential oils, lipid peroxidation, aging, brain, mouse

The structure of the cell membranes of the brain and its functional properties are determined by the ratio of saturated and polyunsaturated fatty acids. The aim of the study – to investigate the effect of essential oils (EO) oregano on the composition of the fatty acid of mouse brain. It was found that as aging in the brain of intact mice of Balb/c content of saturated and polyunsaturated fatty acids decreased, monounsaturated – increased. A daily intake of EO oregano with drinking water reduced the proportion of monounsaturated fatty acids, increased content of polyunsaturated fatty acids in the brain of mice compared with age-control. Levels of di-, tri – and tetraenoic acids increased and content of docosahexaenoic acid, which is extremely important to maintain the electrophysiological functions of the brain, increased. Thus, regular intake of small doses of EO oregano significantly reduced the intensity of the lipid peroxidation, improved the structure of the fatty acids of brain aging mice, reduce the number of saturated fatty acids, enriches its vital polyunsaturated fatty acids, the level of which in the process of aging decreased. This allows to consider EO as a new class of natural biologically active compounds with preventive and geroprotective action, which can significantly affect changes in the brain during aging.

The work was financially supported by the Russian science Foundation, grant 14-16-00102. Part of the research is done by Fatkullina L.D.and Burlakova E.B.in the framework of the state budget financing.

УДК 543.544:547.913

ВЛИЯНИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ И ЭКСТРАКТОВ НА УСТОЙЧИВОСТЬ ЛЬНЯНОГО МАСЛА К ОКИСЛЕНИЮ

Семенова М.Г., Мишарина Т.А., Алинкина Е.С., Теренина М.Б., Крикунова Н.И.
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук (ИБХФ), 119334 Москва, ул. Косыгина, д. 4. E-mail: mariagersem@mail.ru

Исследованы антиоксидантые способности эфирного масла (ЭМ) гвоздики, экстрактов имбиря, черного и душистого перца, а также аскорбилпальмитата по отношению к льняному маслу, содержащему 57% линоленовой кислоты (омега -3). Самыми эффективными антиоксидантами были эфирное масло гвоздики и аскорбилпальмитат.

Ключевые слова: растительные антиоксиданты; льняное масло; защита от окисления; полиненасыщенные жирные кислоты

В работе в качестве антиоксидантов исследованы эфирное масло (ЭМ) гвоздики, экстракты имбиря, черного и душистого перца, а также аскорбилпальмитат, которые добавляли к льняному маслу и проводили его автоокисление при комнатной температуре. Через 50 суток автоокисления определили содержание жирных кислот и летучих веществ в газовой фазе над образцами льняного масла, содержащего и не содержащего антиоксиданты. Газохроматографически найдено, что все антиоксиданты снижали содержание летучих веществ по сравнению с контрольным образцом. Самыми эффективными антиоксидантами были эфирное масло гвоздики и аскорбилпальмитат. Установлено, что ЭМ гвоздики сохраняло 88% линоленовой кислоты, тогда как в контроле ее оставалось только 60%. Кроме того, было установлено, что компоненты экстрактов при взаимодействии с реактивными кислородными радикалами давали продукты окисления, имевшие характеристики, близкие с характеристиками продуктов окисления ПНЖК в льняном масле.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант 14-16-00102. Метилированные производные жирных кислот, использованные в работе по гранту, были получены М.Б. Терениной и Н.И. Крикуновой в рамках работ по госбюджетному финансированию.

UDK 543.544:547.913

EFFECT OF PLANT ETHER OILS AND EXTRACTS ON THE FLAXSEED OIL STABILITY AGAINST OXIDATION

Semenova M.G., Misharina T.A., Alinkina E.S., Terenina M.B., Krikunova N.I.
N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics of Russian Academy of Sciences, Kosygin str., 4, 119334 Moscow, Russian Federation. E-mail: mariagersem@mail.ru

We have investigated the antioxidant abilities of ether oil (EO) of clove, extracts of ginger, black and sweet pepper, as well as ascorbil palmitate to protect a flaxseed oil, containing 57% linolenic acid (w-3), against oxidation. Both the ether oil of clove and ascorbil palmitate were found to be the most effective antioxidants.

Keywords: plant antioxidants; a flaxseed oil; protection against oxidation; polyunsaturated fatty acids

In our experimental work we have studied such plant antioxidant as ether oil (EO) of clove, extracts of ginger, black and sweet pepper, as well as ascorbil palmitate, which were added to a flaxseed oil and its autooxidation was carried out at room temperature. The content of both fatty acids and volatile substances in the gas phase in the head space over the flaxseed oil was determined after 50 days of the storage of the samples. It was found gas-chromatographically that all plant antioxidants decreased the content of the volatile substances as compared with the control one. Both the ether oil of clove and ascorbil palmitate were found to be the most effective antioxidants. It was established that the ether oil of clove preserved 88% of the linolenic acid, whereas there was only 60% of it in the control sample. In addition, it was found that the components of the extracts gave the same oxidation products as the flaxseed oil gave as a result of the interactions with the oxygen radicals.

The work was performed under the financial support of the Russian Science Foundation (Grant № 14-16-00102). Methylene derivatives of the fatty acids, used in the work under the Grant, were synthesized by M.B. Terenina and N.I. Krikunova in the framework of the national budget financial support.

УДК 637.074, 637.047, 579.676

ИЗУЧЕНИЕ ХАРАКТЕРА ФЕРМЕНТОЛИЗА ГОВЯЖЬИХ СУБПРОДУКТОВ II КАТЕГОРИИ В ПРОЦЕССЕ ИХ МОЛОЧНОКИСЛОЙ ФЕРМЕНТАЦИИ

Жакслыкова С.А., Хабибуллин Р.Э., Решетник О.А.

ФГБОУ ВПО Казанский национальный исследовательский технологический университет, г. Казань, Россия

420015, г. Казань, ул. К. Маркса, 68, e-mail: saniyushka@inbox.ru

Был изучен характер протеолитических изменений в составе тканей говяжьих субпродуктов 2 категории под действием индивидуальных и комбинированных заквасок микроорганизмов *Lactobacillus plantarum 8P-A3* и *Bifidobacterium bifidum*. Показана целесообразность использования выбранных микроорганизмов в качестве агентов биотрансформации.

Ключевые слова: говяжьи субпродукты 2 категории, экзогенная молочнокислая ферментация, степень гидролиза, аминный азот, денатурирующий SDS-электрофорез, антиоксидантная емкость.

Проблема изучения свойств вторичного мясного сырья в процессе его трансформации пробиотическими микроорганизмами по-прежнему остается актуальной [1]. В связи с этим авторским коллективом ведутся исследования по изучению влияния экзогенной молочнокислой ферментации на изменение качественных характеристик говяжьих субпродуктов второй категории.

Оценку биохимической активности индивидуальных и комбинированных молочнокислых заквасок по отношению к белкам соединительной ткани субпродуктов проводили по динамике следующих показателей в процессе ферментации: степень гидролиза, содержание аминного азота и содержание общего белка. Изучение изменения молекулярно массового распределения экстрагированных фракций белков проводили методом денатурирующего SDS-электрофореза. Также в ходе работы была изучена биологическая активность пептидных фракций посредством анализа антиоксидантной емкости.

Исследования показали наличие протеолитической активности у бактерий в отношении соединительнотканных белков.

Список литературы:

1. Королева О.В., Машенцева Н.Г., Митасева Л.Ф., Семенышева А.И., Николаев И.В.Биот рансформированное мясное сырье в качестве белкового композита в производстве паштетов// Fleisch Wirtschaft. – 2012. – №.2. – С.62-66.

УДК 637.074, 637.047, 579.676

THE STUDY OF THE ENZYMATIC HYDROLYSIS NATURE OF BOVINE OFFAL DURING EXOGENOUS LACTIC ACID FERMENTATION

Zhakslykova S.A., Khabibullin R.E., Reshetnik O.A.

Kazan national research technological university, Kazan, Russia

420015, Kazan, Karl Marx str., 68, e-mail: saniyushka@inbox.ru

The nature of proteolytic changes bovine offal tissues under the pressure mono- and poly- starters microorganisms *Lactobacillus plantarum 8P-A3* and *Bifidobacterium bifidum* was researched. Benefit of usage of chosen microorganisms as agents of biotransformation was shown.

Keywords: bovine offal, exogenous lactic acid fermentation, degree of hydrolysis, amine nitrogen, SDS-PAGE analysis, antioxidant activity.

The problem of studying the meat byproducts properties during modification of probiotic microorganisms is still actual [1]. For this reason group of authors had conducted a research the effect of change the qualitative characteristics of bovine offal during exogenous lactic acid fermentation.

Evaluation of biochemical activity of mono- and poly- lactic starter cultures towards proteins of the byproducts connective tissues explored within the dynamics of next index: the degree of hydrolysis, the content of amino nitrogen and total protein content.

Study of changes in the molecular weight distribution of the extracted protein fractions was performed by SDS-PAGE analysis. Also in the process the biological activity of peptide fractions was examined by analysis antioxidant capacity.

Studies have shown the proteolytic activity of bacteria in relation to connective tissue proteins.

References

1. Koroleva O.V., Mashentseva N.G., Mitaseva L.Ph., Semenysheva A.I., Nikolaev I.V.Biotransformed raw meat as a protein in the manufacture of composite pastes// Fleisch Wirtschaft. 2012. №.2. P.62-66.

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

УДК 663.5:006.354

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ЛИКЕРОВОДОЧНЫХ ИЗДЕЛИЙ В ПРОЦЕССЕ ПРОИЗВОДСТВА И ХРАНЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПРОДУКЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОГО МЕТОДА АНАЛИЗА

Абрамова И.М., Поляков В.А., Савельева В.Б., Сурин Н.М., Воробьева Т.Г., Приёмухова Н.В.
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии», Москва, Россия, 111033, Москва, Самокатная ул., 4-б
e-mail: tehnohimkontrol@mail.ru

Разработан спектрофотометрический метод определения цветности ликероводочных изделий и создана открытая цифровая база данных спектральных распределений десятичного коэффициента ослабления света для настоек горьких, настоек сладких, настоек полусладких, аперитивов, наливок, ликеров и бальзамов.

Ключевые слова: цветность, спектрофотометрический метод анализа, ликероводочные изделия, спектр поглощения, десятичный коэффициент ослабления света, цифровая база данных.

Для определения качества и безопасности выпускаемых промышленностью ликероводочных изделий разработан спектрофотометрический метод определения цветности настоек горьких, настоек полусладких, настоек сладких, аперитивов, наливок, ликеров и бальзамов. Разработанный метод позволит обеспечить достоверность измерений и контролировать качество продукции как в процессе их производства, так и хранения, а также идентифицировать готовые изделия в соответствии с рецептурой их приготовления.

Метод основан на получении спектра поглощения анализируемого образца изделия в УФ-, видимой и ближней ИК- областях спектра электромагнитного излучения с последующим вычислением характеризующих цветность исследуемого изделия значений десятичного коэффициента ослабления света при характеристических длинах волн.

На основании полученных экспериментальных данных создана открытая цифровая база данных спектральных распределений десятичного коэффициента ослабления света для данных видов продукции.

UDK 663.5:006.354

QUALITY CONTROL OF LIQUORS IN THE PRODUCTION PROCESS AND STORAGE AND PRODUCT IDENTIFICATION USING A SPECTROPHOTOMETRIC METHOD OF ANALYSIS

Abramova I.M., Polyakov V.A., Savelyeva V.B., Surin N.M., Vorobyova T.G., Priyomukhova N.V.

Russian Research Institute of Food Biotechnology, Moscow, Russia, 111033, Moscow, Samokatnaya str., 4-b, e-mail: tehnohimkontrol@mail.ru

There was a spectrophotometric determination of color liquors developed and an open digital database of spectral distributions decimal attenuation coefficient for light bitter tinctures, infusions of sweet, semi-sweet liqueurs, aperitifs, liqueurs, liquors and balms created.

Keywords: color, spectrophotometric analysis, alcoholic beverages, the absorption spectrum, decimal attenuation coefficient of light, digital database.

To determine the quality and safety of commercial liquors a spectrophotometric method of determining the color of bitter liqueurs, bitters semi-sweet, sweet liqueurs, aperitifs, liqueurs, liquors and balsams was developed. The developed method will ensure accuracy of measurements and control the product quality in the process of their production and storage, as well as finished products identified according to the recipe of making them. The method is based on obtaining the absorption spectrum of the test sample products in the UV, visible and near infrared regions of the electromagnetic spectrum with subsequent calculation of characterizing the color of the test items decimal values of the attenuation coefficient of light at characteristic wavelengths. Based on the experimental data an open digital database of spectral distributions decimal attenuation coefficient of light for these types of products is established.

УДК 101.1:316

ЭТИКО-ПРАВОВОЙ АСПЕКТ ГМО

Агеева Н.А.
Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия
344022, Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29
e-mail: nataliya.ageeva@mail.ru

Современный человек и окружающая среда нуждаются в этико-правовой защите от пагубного воздействия и нерационального использования ГМО. Этике новых технологий необходимы актуализация законодательства и постоянный поток научно-практической информации, расширяющей поле прогнозирования рисков в сферах генной инженерии, нанотехнологий и биотехнологий.

Ключевые слова: генно-модифицированные организмы; риск; внутренний самоконтроль.

В условиях инновационного общества актуализируется вопрос биоэтического измерения научно-исследовательской деятельности специалистов, работающих в сфере разработки и производства ГМО. Аксиологический подход к сфере познания обоснован, так как «биоэтическое измерение инновационной деятельности состоит из двух основных параметров: 1) внешний контроль общества за процессом разработки, гуманитарной экспертизы и внедрения в практику новой технологии; 2) внутренний самоконтроль всех участников инновационной деятельности» [1, с. 199]. Поскольку прогресс науки и техники опережает этико-правовое осмысление рисков, связанных с применением новых технологий, то внутренний самоконтроль участников инновационной деятельности приобретает первостепенную роль. Таким образом, от нравственных императивов ученых и специалистов, от их умения синтезировать науку и гуманизм зависят не только качество жизни и здоровье граждан конкретной страны, но и выживание всего человечества.

На данный момент полностью защитить свою страну от растений и продуктов ГМО невозможно, так как генетически модифицированные семена постоянно распространяются по миру естественным путем, а производители продуктов питания имеют возможность скрыть информацию о ГМО от потребителя. Проблем, связанных с генно-модифицированными организмами, много, но самая страшная опасность таится в том, что на данный момент нет клинически подтвержденных данных о том, что употребление продуктов ГМО безопасно для жизни и здоровья человека. По сути, люди всего мира принимают участие в эксперименте, разрешение на который не давали [2, с. 107].

Литература:

1.Агеева Н.А.Биоэтическое измерение инновационной деятельности // Инновации в науке. – 2013. – № 28. – С. 199–203.

2.Агеева Н.А.Биоэтическое измерение ГМО в контексте продовольственной безопасности России // Современная медицина: актуальные вопросы. – 2014. – № 30. – С. 105–111.

УДК 101.1:316

ETHICAL AND LEGAL ASPECTS OF GMO

Ageeva N.A.
The Rostov State Medical University
Rostov-on-Don, Russia
344022, Rostov-on-Don, 29 Nakhichevansky Avenue
e-mail: nataliya.ageeva@mail.ru

Both a modern human and the environment are in need of ethical and legal protection from harmful influence and irrational use of GMO. Ethics of new technologies needs not only a constant flow of research and practical information, which broadens the field of risk forecasting in the spheres of gene engineering, nanotechnologies and biotechnologies, but also legislation updating.

Keywords: genetically modified organisms; risk; inner self-control.

In the conditions of the innovative society the problem concerning bioethical measurement of activity of specialists working in the sphere of developing and producing of GMO is actualized. An axiological approach to the sphere of cognition is well founded because "bioethical measurement of innovative activity consists of two characteristics – outer control of the society for the process of working out, humanitarian expertise and putting into practice of some new technology 2. inner control of all the participants of the innovative activity [1, p. 199]. As the progress of science and technology surpasses a legal-ethic comprehension of risks, connected with the use of new technologies, inner self control of participants of the innovative activity gets a leading role. We can conclude that moral imperatives of scientists and specialists and their ability to synthesize science and humanism determine not only quality of life and health of citizens of a particular country but also survival of the whole mankind.

Nowadays it is impossible to protect any country from GMO plants and products as GMO seeds are naturally spreading all over the world and foodstuff producers have an opportunity to keep the GMO information from consumers. There are many problems connected with genetically modified organisms but the most dangerous one is in the fact that nowadays there are no clinically proved data concerning safety of consumption of GMO products. In fact the whole mankind unwillingly takes part in the experiment [2, p. 107].

LITERATURE

1. Ageeva N.A.Bioethical measurement of innovative activity// Innovations in science. – 2013. – № 28. – P. 199–203.

2. Ageeva N.A.Bioethical measurement of GMO in the context of food security in Russia. // Modern medicine: burning questions. – 2014. – № 30. – P. 105–111.

ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ И ХОЛЕСТЕРИН В МЕТАБОЛИЗМЕ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА

Драчева Л.В., канд. хим. наук
Международная академия информатизации, Москва, Россия

Сейчас во всем мире и, в первую очередь, в развитых странах атеросклероз считается болезнью № 1. Известно, что холестерин является необходимым веществом для нормальной работы нашего организма, но если его образуется много, то он начинает откладываться на внутренней поверхности кровеносных сосудов в виде бляшек («плохой» холестерин), провоцируя развитие сердечно-сосудистых заболеваний. Поэтому высокий уровень холестерина в крови называют «тихим убийцей».

Как известно, холестерин (холестерол) – это циклический одноатомный спирт животного происхождения, так как клетки растений его не синтезируют. Без сомнения, холестерин достоин уважения, так как в процессе развития человека он неоднократно был задействован в становлении различных биологических функций.

Основная же роль такого спирта, как холестерин в многоклеточном организме, состоит в переносе в крови и межклеточной жидкости жирных кислот, поступающих в организм человека с пищей. Это основной субстрат для получения энергии и пластического материала для образования клеточных мембран.

В зависимости от физико-химических свойств жирные кислоты подразделяют на насыщенные, ненасыщенные и эссенциальные полиеновые, содержащие четыре, пять, шесть двойных связей.

В силу физико-химических различий в клетках кишечника вначале происходит реакция взаимодействия насыщенных и ненасыщенных жирных кислот с образованием триглицеридов, а только затем в крови протекает процесс этерификации эссенциальных жирных кислот с холестерином. Пищевые жирные кислоты, потребление которых является необходимым условием жизни человека, являются гидрофобными. Поэтому перенос их через водное пространство организма, например кровь или лимфу, представляет большие трудности. В силу этого, в клетках тонкого кишечника происходит связывание жирных кислот со спиртами – холестерином и глицерином и при этом образуются различные липиды – фосфолипиды, триглицериды и эфиры холестерина.

В норме в молекуле триглицеридов этерифицирована одна молекула пальмитиновой и две молекулы олеиновой жирных кислот. И именно такие триглицериды активно поглощаются клетками. Как известно, дефицит в клетках организма эссенциальных жирных кислот нарушает активность всех клеточных мембран, а также и белков, которые встроены в эти мембраны.

Сегодня для идентификации жирных кислот широко используют метод высокоэффективной жидкостной хроматографии в тандеме с масс-спектрометрией, что позволяет получить достаточно полное представление о функциональной роли в организме человека такого соединения, как холестерин.

УДК: 573.6.086.83:577.15

ОЦЕНКА СПЕЦИФИЧНОСТИ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТНОГО ПРЕПАРАТА ЛИПАЗА М10-10 Г20Х

Гаскарова Е.Ф., Иванова Л.А., Строева С.С., Фадякина Н.В.

Московский государственный университет пищевых производств, Москва, Россия
125080, Волоколамское ш., д. 11, Московский государственный университет пищевых производств, кафедра «Биотехнология и технология продуктов биоорганического синтеза»
e-mail: gaslena@ya.ru

Исследована жирнокислотная специфичность нового ферментного препарата липазы М10–10 Г20х. Показана возможность обогащения готовых пищевых изделий полиненасыщенными жирными кислотами омега-3 и омега-6.

Ключевые слова: гидролиз, липаза, омега-3, омега-6

Применение ферментов в технологии продуктов питания позволяет повысить их качество, сократить сроки производства, а также повысить выход готовой продукции [1]. Наряду с наиболее часто используемыми растительными, животным и микробными протеазами, амилазами, пектиназами широкое применение находят ферменты липолитического действия [2,3].

Результатом реакции гидролиза растительных масел с участием липаз является образование липидного продукта [4], обогащенного полиненасыщенными жирными кислотами (ПНЖК) – линолевой (омега-6) и линоленовой (омега-3).

Для выяснения жирнокислотной специфичности ферментного препарата липазы М10–10 Г20х, продуцент которого был получен в результате скрининга, проведенного в ФГБОУ ВПО «МГУПП» на кафедре «Биотехнология и технология органического синтеза» [5], был исследован гидролиз растительных масел наиболее часто используемых в пищевом производстве. Максимальный выход свободных ЖК после гидролиза оливкового масла в присутствии катализатора липаза М10–10 Г20х составил 32,74%, подсолнечного – 36,03%, горчичного – 32,52%, льняного – 29,17%, кокосового – 41,76% от общего содержания кислот в маслах.

Изучение жирнокислотного состава липидных продуктов после отделения свободных ЖК методом холодной рафинации проводили методом ГЖХ. Гидролиз липазой М10–10 Г20х и последующая рафинация оливкового, подсолнечного, горчичного, льняного и кокосового масел позволили снизить относительное содержание насыщенных ЖК на 58, 66, 78, 55 и 32% соответственно, а относительное содержание незаменимые ПНЖК увеличить на 54, 12, 26, 24% и в 12 раз соответственно. В результате было установлено, что ферментный препарат липазы М10–10 Г20х преимущественно отделяет в ацилглицеридах остатки насыщенных ЖК. Таким образом, модификация растительных масел ФП липаза М10–10 Г20х в системе масло/вода в отсутствии эмульгатора позволяет получить липидные продукты обогащенные ценными омега-3 и омега-6 ПНЖК.

Исходя из полученных результатов, можно сделать вывод, что замена растительных масел на модифицированные липидные продукты на их основе позволяет увеличить биологическую ценность готовых пищевых изделий.

Список литературы:

1. Иванова Л.А., Войно Л.И., Иванова И.С.Пищевая биотехнология: учебное пособие для студентов вузов, обучающихся по специальности 240902 «Пищевая биотехнология» – Книга 2: Переработка растительного сырья – М: КолосС, 2008. – с. 471

2. Vakhlu J., KourA. Yeast lipases: enzyme purification, biochemical properties and gene cloning // Electronic Journal of Biotechnology ISSN: 0717–3458.2006.Vol.9 No.1.p. 69–85.

3. Тутельян В.А., Нечаев А.П.Пищевые ингредиенты в создании современных продуктов питания. -М.: ДеЛи плюс. 2014. – с.483

4. Razanka T., SiglerK.Odd- numberedvery-long-chainfattyacids from microbial, animalandplant-kingdoms // Progress in Lipid research.2009. Vol. 48.p. 206–238.

5. Гаскарова Е.Ф., Иванова Л.А., Филатова Г.Л., Краевская Ю.А.Скрининг нового дрожжевого штамма – продуцента липазы // Естественные и технические науки. – 2014. – №2 (70). – с. 257 – 259.

THE RATING OF SPECIFICITY THE LIPASE ENZYME PREPARATION M10-10 G20X

Gaskarova E.F., Ivanova L.A., Stroeva S.S., Fadyakina N.V.
Moscow State University of Food Production, Moscow, Russia
125080, Volokolamskoye., D. 11, Moscow State University of Food Production, Department of "Biotechnology and Technology of bioorganic synthesis"
e-mail: gaslena@ya.ru

Studied the fatty acid specificity of the new enzyme lipase preparation G20x M10–10.Demonstrated the possibility enrichment of finished food products in polyunsaturated fatty acids omega-3 and omega-6.

Keywords: hydrolysis lipase, omega-3, omega-6

The application of enzymes in food technology can improve their quality, reduce terms of production and increase the yield of the finished product [1]. Along with the most commonly used plant, animal and microbial protease, amylase, pectinase enzymes are widely used enzymes with lipolytic action [2,3].

The result of the reaction of hydrolysis oils with lipase is education of lipid products [4], enriched with polyunsaturated fatty acids – linoleic (omega-6) and linolenic (omega-3)fatty acids.

In order to determine the fatty acid specificity of the enzyme lipase preparation M10–10 G20x, producer which was obtained by screening which was carried out in the Moscow State University of Food Production at the Department of "Biotechnology and technology of organic synthesis" [5], was investigated the hydrolysis oils commonly used in the food production. The maximum yield of free fatty acids after hydrolysis of olive oil with a catalyst lipase M10–10 G20x was 32.74%, sunflower – 36.03%, mustard – 32.52%, linseed – 29.17%, coconut – 41.76% of the total acid content in oils.

The study of the fatty acid composition of lipid products after separation of free fatty acid with cold refining performed by GL-Chromatography. Hydrolysis with lipase M10–10 G20x and subsequent refining of olive, sunflower, mustard, flax and coconut oils helped to reduce the relative content of saturated fatty acids of 58, 66, 78, 55 and 32%, respectively, and the relative content of essential polyunsaturated fatty acids increased by 54, 12, 26 24% and 12 times, respectively. As a result, it was found that the enzyme preparation of lipase M10–10 G20x mainly hydrolyses residues of saturated fatty acids in acyl glycerides. Thus, modification of oils with lipase M10–10 G20x in the system oil/water without emulsifier allows to get rich in omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids lipid product.

Based on these results, we conclude that substitution of oils on the modified lipid products can increase the bioavailability of food products.

References:

1. Иванова Л.А., Войно Л.И., Иванова И.С. Пищевая биотехнология: учебное пособие для студентов вузов, обучающихся по специальности 240902 «Пищевая биотехнология» – Книга 2: Переработка растительного сырья – М: КолосС, 2008. – с. 471

2. Vakhlu J., KourA. Yeast lipases: enzyme purification, biochemical properties and gene cloning // Electronic Journal of Biotechnology ISSN: 0717–3458. 2006. Vol.9 No.1.p. 69–85.

3. Тутельян В.А., Нечаев А.П. Пищевые ингредиенты в создании современных продуктов питания. – М.: ДеЛи плюс. 2014. – с.483

4. Razanka T., Sigler K. Odd- numbered very-long-chain fatty acids from microbial, animal and plant kingdoms // Progress in Lipid research. 2009. Vol. 48.p. 206–238.

5. Гаскарова Е.Ф., Иванова Л.А., Филатова Г.Л., Краевская Ю.А. Скрининг нового дрожжевого штамма – продуцента липазы // Естественные и технические науки. – 2014. – №2 (70). – с. 257 – 259.

УДК 579.864.1

ПОДБОР АССОЦИАЦИИ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ ДЛЯ СБРАЖИВАНИЯ СВЕКОЛЬНОГО СОКА И УЛУЧШЕНИЯ ЕГО СВОЙСТВ КАК ПРОДУКТА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО И ЛЕЧЕБНОГО ПИТАНИЯ

Гаврилова Н.Н., Ратникова И.А., Саданов А.К.

Республиканское государственное предприятие «Институт микробиологии и вирусологии» Комитета науки, Министерства образования Республики Казахстан, Алматы

050100, Алматы, ул. Богенбай батыра, д. 103

e-mail: iratnikova@list.ru

Подобрана ассоциация молочнокислых бактерий для производства обогащенного биологически активными веществами ферментированного свекольного сока в качестве продукта функционального и лечебного питания.

Ключевые слова: молочнокислые бактерии, свекольный сок, ферментация, технология, лечебно-диетический продукт.

В результате проведенных исследований отобраны штаммы молочнокислых бактерий, способствующие получению ферментированного свекольного сока с приятным вкусом и ароматом, являющиеся продуцентами витаминов С, B_5, B_{12}, B_1, B_2, PP, незаменимых аминокислот, гидролитических ферментов, антагонистами в отношении *B. subtilis*, *B. mesentericus*, *E. coli*. Особое внимание при отборе штаммов бактерий уделено сохранению в соке исходного содержания антоциана бетанидина, придающего продукту характерную для свеклы окраску и, кроме того, обладающего Р-витаминной активностью, совместно с витамином С регулирующего проницаемость и хрупкость сосудов, являющегося акцептором свободных радикалов и ингибитором цепных реакций. Для производства обогащенного ферментированного свекольного сока рекомендована ассоциация из культур *L. fermentum* 27 и *L. plantarum* 22. Разработан способ получения сока из столовой свеклы, заключающийся в ее очистке, измельчении, сбраживании мезги ассоциацией бактерий при температуре 37°С в течение 18–20 ч или 18–20°С в течение 1,5–2 суток до достижения pH сока величины 3,8–4,2, отделении сока от мезги прессованием, розливе и стерилизации. По сравнению с известными технологиями разработанный способ позволяет повысить выход и срок хранения сока, обогатить его такими ценными биологически активными веществами, как витамины группы В, незамеменимые аминокислоты. Показана высокая эффективность сброженного свекольного сока при лечении больных с дисбактериозами кишечника.

UDC 579.864.1

SELECTING AN ASSOCIATION OF LACTIC ACID BACTERIA FOR FERMENTING BEET JUICE AND IMPROVING ITS PROPERTIES AS A PRODUCT OF THE FUNCTIONAL AND CLINICAL NUTRITION

Gavrilova N.N., Ratnikova I.A., Sadanov A.K.
Republican State-Owned Enterprise "Institute of Microbiology and Virology", Committee of Science, Ministry of Education of the Republic of Kazakhstan, Almaty
050100, Almaty, Bogenbai batyr str., 103
e-mail: iratnikova@list.ru

An association of lactic acid bacteria has been selected to prepare the enriched with biologically active substances fermented beet juice and improve its properties as a product of functional and clinical nutrition.

Keywords: lactic acid bacteria, beet juice, fermentation, technology, medical-dietary product.

As a result of the studies, the strains of lactic acid bacteria have been selected, assisting in obtaining the fermented beet juice with a pleasant taste and aroma, being the producers of vitamins C, B_5, B_{12}, B_1, B_2, PP, essential amino acids, hydrolytic enzymes, and antagonists against *B. subtilis*, *B. mesentericus*, *E. coli*. Particular attention in the selection of bacterial strains was paid to preserving the original content of the anthocyanin betanidin in the juice, giving the product a characteristic beet color and, in addition, possessing vitamin P activity, regulating together with vitamin C vascular permeability and fragility, and being an acceptor of free radicals and inhibitor of chain reactions. The association made from the cultures *L. fermentum* 27 and *L. plantarum* 22 is recommended to produce the enriched fermented beet juice A method for preparing juice from the red beet has been worked out, which comprises its purification, grinding, pulp fermentation by the association of bacteria at 37°C for 18–20 hours or 18–20°C within 1.5–2 days until a pH value of 3.8–4.2, juice separation from the pulp by pressing, bottling and sterilization. In comparison with known technologies, the developed method allows to increases the yield and storage period of the juice, enriches it with such valuable biologically active substances as B-group vitamins, essential amino acids.

High efficiency of the fermented beet juice has been shown in the treatment for patients with intestinal dysbacterioses.

ПИЩЕВЫЕ ИНГРЕДИЕНТЫ, СОДЕРЖАЩИЕ НЕРАСТВОРИМЫЕ ПИЩЕВЫЕ ВОЛОКНА ИЗ ВТОРИЧНЫХ ПРОДУКТОВ ПЕРЕРАБОТКИ ПШЕНИЦЫ И ОВСА, С ФУНКЦИОНАЛЬНЫМИ И ТЕХНОЛОГИЧЕСКИМИ СВОЙСТВАМИ ДЛЯ ХЛЕБОПЕЧЕНИЯ

Игорянова Н.А.
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт зерна и продуктов его переработки» Москва, Россия
127434, Москва, Дмитровское ш., д.11
e-mail: vniizbiohim@yandex.ru

Современная пищевая индустрия направлена на реализацию концепции здорового образа жизни, что стимулируется увеличением спроса на полезные органические ингредиенты. В производстве пищевых продуктов широко применяются функциональные ингредиенты, являющи-

еся одновременно технологическими добавками, изменяющими свойства пищевых продуктов. Важное место среди них занимают пищевые волокна. Однако развитие российского рынка тормозит импортозависимость, в том числе, на рынке исходного сырья для производства пищевых ингредиентов.

В ФГБНУ «ВНИЗ» из вторичных ресурсов мукомольного производства (пшеничные отруби) и крупяного производства (овсяная мучка) с применением биохимических методов получены дисперсии, содержащие нерастворимые пищевые волокна (нПВ).

Исследования на этапе определения реологических свойств теста с внесенными при замесе дисперсиями [1] показали, что размер частиц компонентов дисперсий и природа источника нПВ оказывают существенное влияние на показатели, определяющие консистенцию теста. Дисперсии, полученные из пшеничных отрубей, с более высокой степенью полимеризации нПВ, проявляли в тесте большую водопоглотительную способность, чем дисперсии, полученные из овсяной мучки, с меньшей степенью полимеризации нПВ.

Показано, что дисперсии, содержащие нПВ, проявили свойства загустителей продукта, в который их вносят (теста). Причем дисперсии, полученные из пшеничных отрубей, обладали свойством разжижения теста при сдвиге, тогда как дисперсии из овсяной мучки – независимости вязкости от сдвига.

Используя дисперсии, оказывающие влияние на реологические свойства теста в нужном направлении, можно регулировать консистенцию теста, обеспечивая его заданное качество.

В ФГБНУ «ВНИИЗ» одновременно с решением технологических задач решаются вопросы применения вторичных ресурсов мукомольно-крупяного производства для получения пищевых ингредиентов функционального назначения с технологическими свойствами, а также новых зерновых продуктов высокой пищевой ценности [2].

Литература

1.Игорянова Н.А., Коломиец С.Н., Коваль А.И., Кириллова Е.В.Технологические свойства пищевых ингредиентов, содержащих нерастворимые пищевые волокна из побочных продуктов переработки пшеницы и овса // Импортозамещение продуктов глубокой переработки зерна и картофеля: сборник материалов международной научно-практической конференции (Московская область, пос. Красково, ФГБНУ ВНИИ крахмалопродуктов, 24 декабря 2014 г.) – с. 87–90.

2.Сокол Е.Н., Приезжева Л.Г., Чиркова Л.В., Игорянова Н.А.Новая крупа быстрого приготовления на базе дробленого ядра овса // Хлебопродукты.- 2011.- №2.- С.56-58.

УДК 544.77.032.16:664

ВЛИЯНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ ОБРАБОТКИ НА СВОЙСТВА ГИДРОКОЛЛОИДОВ

Ивлева А.Р., Бадретдинова З.А., Михайлова О.С., Крякунова Е.В., Канарская З.А., Канарский А.В.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Казанский национальный исследовательский технологический университет» (ФГБОУ ВПО «КНИТУ»).

Казань, Россия, 420015, ул. Л. Толстого, д.8/31, e-mail: alla1987-87@mail.ru

Показана целесообразность ферментативной обработки гидроколлоидов выделенных из растительного сырья для повышения их адсорбционных свойств и увеличения деформационных свойств волокнистых материалов.

Ключевые слова: клетчатка, пектин, инулин, крахмал, ферментатирование, гидроколлоиды.

Изучена адсорбционная способность целлюлозы однолетних и многолетних растений по отношению к воде и жирам. Показана перспективность применения в качестве пищевых волокон клетчатку древесины лиственных пород, предварительно обработанных ферментами. Установлена, высокая истинная адсорбционная способность пищевой клетчатки полученной из лиственных пород древесины, соломы, пектинов по отношению к Т-2 микотоксинам.

Исследовано влияние крахмала картофельного на механические и реологические свойства волокнистых материалов на основе целлюлозы. Установлено, что обработка картофельного крахмала ферментами приводит к улучшению деформационных свойств волокнистых материалов. Показана целесообразность применения пластификаторов при получении пленочных волокнистых материалов на основе клетчатки и ферментативно обработанного крахмала.

Показано влияние температуры и гидромодуля на эффективность извлечения инулина из цикория и его молекулярную массу. Установлена взаимосвязь молекулярной массы инулина с параметрами ферментативной обработки.

УДК 544.77.032.16:664

INFLUENCE ENZYMATIC TREATMENT ON THE PROPERTIES OF HYDROCOLLOIDS

Ivleva A.R., Badretdinova Z.A., Mikhailova O.S., Kryakunova E.V., Kanarskaya Z.A., Kanarsky A.V.

Federal State Educational Institution of Higher Professional Education "Kazan State Technological University" (VPO "KNRTU").

Kazan, Russia, 420015, st. Tolstoy, 8/31, e-mail: alla1987-87@mail.ru

The expediency of enzymatic treatment hydrocolloids extracted from vegetable raw materials to increase their adsorption properties and increase the deformation properties of fibrous materials.

Keywords: cellulose, pectin, inulin, starch, fermentatirovanie hydrocolloids.

Studied the adsorption capacity of the pulp of annual and perennial plants with respect to water and fats. The prospects use as dietary fiber fiber hardwood pretreated with enzymes. Set, true high adsorption capacity of dietary fiber derived from hardwood, straw, pectins with respect to the T-2 mycotoxins.

Investigated the effect of potato starch on the mechanical and rheological properties of fibrous materials based on cellulose. Found that potato starch processing enzymes results in improved deformation properties of the fibrous materials. The expediency of use of plasticizers in the preparation of film materials based on fibrous cellulose and starch treated enzymatically.

Shows the effect of temperature on the extraction efficiency hydronic inulin from chicory and its molecular weight. The interrelation between the molecular weight of inulin with the parameters of the enzymatic treatment.

УДК 637.514.92

БИОЛОГИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ С ЦЕЛЬЮ ПОВЫШЕНИЯ БИОДОСТУПНЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПРОДУКТОВ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОГО ПИТАНИЯ

Каленик Т.К., Косенко Т.А., Шлыкова А.Г., Ли Н.Г.

ФГАОУ ВПО «Дальневосточный Федеральный Университет» Школа биомедицины, Владивосток, Россия

690091, Владивосток, Суханова, д. 8

e-mail: kaleniktk@ramler.ru

Разработаны новые высокобелковые структурированные продукты функциональной направленности. Проведены исследования биомодификации семян сои. Проведены исследования по безопасности разработанных продуктов. Проведён анализ аминокислотного высокобелкового печеночного паштета.

Ключевые слова: высокобелковый продукт, функциональный продукт, соя, кукумария, куриная печень.

Дефицит белка в рационе питания россиян очень велик. Одним из путей ликвидации это проблемы является использование белоксодержащего сырья растительного происхождения при производстве различных пищевых продуктов. К наиболее используемым источникам белка мировая практика относит бобовые культуры и, в первую очередь, сою. По биологической ценности белки сои занимают промежуточное положение между белками растительного и животного происхождения [1].

Потребность человека в белке может быть частично удовлетворена с помощью растительных и животных белков, однако, общим для них является недостаток отдельных аминокислот, таких как лизин, триптофан, метионин, изолейцин, тирозин. Также в рационе человека не соблюдается необходимый баланс белков и углеводов, низко содержание витаминов, минеральных веществ и пищевых волокон [1].

Поэтому существует необходимость создания комплексных обогатителей пищи, обладающих высокой питательной ценностью, функциональными и лечебно-профилактическими свойствами [3].

В качестве объекта исследования был изучен весовой печёночный паштет с растительными компонентами и кукумарией «Сила».

Состав печеночного паштета соответствует стандартной рецептуре. Оригинальность заключается в добавлении различных функциональных ингредиентов с добавлением древесного чёрного гриба, кукумарии, проростков сои и тыквы сорта «Японка».

С целью повышения содержания белка, а также в связи с тем, что наилучшими источниками белка является соя, в состав рецептур печеночного паштета специального назначения для питания людей, испытывающих повышенные физические нагрузки, были введены соевые проростки [2].

Метод биомодификациисемян сои. Процесс биомодификации семя сои лучше в контролируемых оптимальных условиях ив дальнейшем готовить из них новые биологически ценные продукты питания. Биомодификацию проводили при комнатной температуре (22°C). Вначале семена промывали и замачивали 8 часов в избытке воды. Затем воду сливали, семена промывали ежедневно утром и вечером, накрывали мокрой тканью, отбирали часть прорастающих семян на анализ. Результаты анализов показали, что по массе проростков и величине ростков изучаемые сорта различаются существенно.

Исследование провели на двух современных пищевых сортах. Результаты анализов показали, что по массе проростков и величине ростков изучаемые сорта различаются существенно. Так, масса проростков из сорта Рось во все дни прорастания была в полтора-два раза, а величина ростков в два-четыре раза больше, чем у Валенты.

Химический состав проростков имел сортовые различия. В семенах и проростках сои сорта Валента в любой день проращивания было больше белка и меньше антипитательных веществ – ингибиторов трипсина, чем у сорта Рось. У обоих сортов через сутки после начала проращивания содержание белкавозрастает более резко, чем в последующие дни. Видимо, это происходит за счет экзоинверсии из семян ряда веществ небелковой природы при их замачивании в воде. Затем идет постепенное нарастание содержания белка в проростках за счет синтеза новых белков растущего организма. При проращивании содержание жира уменьшается.

В оптимальной фазе прорастания масса проростков превосходит массу исходных семян в два с половиной раза у обоих сортов сои. В фазе, когда проростки имеют наилучшие товарные качества, их питательная ценность выше, чем у исходных семян обоих сортов. Особенно важно, что проростки имеют на 3–10% больше белка.

Все это позволяет считать их более ценным пищевым продуктом, чем исходные семена и делает их привлекательными для производства полноценных продуктов. В практической деятельности следует обратить внимание на сорт Валента, который имеет небольшую массу семян и одновременно позволяет получить проростки с высоким содержанием биологически ценных компонентов.

Проведено исследование аминокислотного состава разработанного высокобелкового печеночно паштета «Сила», результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Аминокислотный состав паштета «Сила»

Аминокислоты	Норма потребления, г	Массовая доля аминокислот в паштете, г	Удовлетворение паштетом «Сила» физиологической суточной потребности,
Валин	2,5	2,84±1,3	113,6
Изолейцин	2,0	1,70±1,0	85
Лейцин	4,6	5,41±1,2	117,6
Лизин	4,1	3,98±1,0	97,0
Метионин + цистин	1,8	0,55±0,7	30,5
Треонин	2,4	2,37±1,3	98,75
Фенилаланин + тирозин	4,4	2,06±1,3	46,8
Аланин	6,6	2,84±1,2	43,0
Аспарагиновая кислота	12,2	4,13±1,3	33,9
Гистидин	2,1	1,18±1,4	56,19
Глицин	3,5	2,28±1,3	65,1
Пролин	4,5	2,27±1,0	50,4
Серин	8,3	2,3±1,1	28,3
Глютаминовая кислота	13,6	6,72±1,6	49,4
Аргинин	6,1	2,09±1,3	34,5

Из таблицы 1 можно сделать вывод, что паштет «Сила» по незаменимым аминокислотам удовлетворяет ФСП от 30% до 117%.

В заключении можно сделать вывод, что весовые паштеты являются полезным и необходимым продуктом для человека в условиях проживания Дальнего востока. Паштеты соответ-

ствуют физико-химическим и органолептическим показателям, отвечают требованиям ГОСТ Р 55334–2012 Паштеты мясные и мясосодержащие. Технические условия. Отклонений от требований ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции» по гигиенической безопасности не обнаружены.

Список использованных источников:

1. Княжев, В.А. Актуальные проблемы улучшения структуры питания и здоровья населения России: Концепция государственной политики в области здорового питания // В.А. Княжев, Г.Г. Онищенко, О.В. Большаков и др. // Вопросы питания. – 2008. – № 1. – С. 3–7.
2. Петибская В.С.Соя: химический состав и использование // Под редакцией академика РАМН, д-ра с.-х. наук В.М. Лукомца // – Майкоп: ОАО «Полиграф-ЮГ», 2012. – 432с
3. Каленик, Т.К. Обоснование подходов к разработке технологии мясорастительных композиций для создания весовых паштетов функциональной направленности / Т.К. Каленик, С.М. Доценко, Д.В. Купчак // Вестник КрасГАУ. – 2012. – № 10. – С. 188-192.

BIOLOGICAL MODIFICATION PLANT MATERIAL IN ORDER TO INCREASE THE BIOAVAILABILITY OF FUNCTIONAL PRODUCTS BY POWER

T.K. Kalenik, T.A. Kosenko, A.G. Shlykova, N.G. Li

Developed new high-protein functional orientation structured products. Researches biomodifikatsii soybean seeds. Studies on the safety of the developed products. The analysis of the amino acid protein rich liver pate.

Keywords: high-protein product, functional product, soy, sea cucumber, chicken liver.

Deficiency of protein in the diet of Russians is very large. One way to eliminate this problem is the use of protein-containing raw materials of vegetable origin in the manufacture of various food products. The most commonly used sources of protein worldwide practice relates legumes and, primarily soybeans. The biological value of soy proteins occupy an intermediate position between the proteins of plant and animal origin [1].

Requirement human protein may be partially satisfied by using animal and vegetable proteins, but common to them is the lack of certain amino acids such as lysine, tryptophan, methionine, isoleucine, tyrosine. Also in the human diet is not observed the necessary balance of protein and carbohydrates, low in vitamins, minerals and dietary fiber. [1]

There is therefore a need to establish a comprehensive dresser food with high nutritional value, functional and curative properties [3].

The object of investigation was studied weight hepatic pate with botanicals and sea cucumber «Force».

The composition of liver pate corresponds to the standard recipe. Originality is the addition of various functional ingredients with the addition of charcoal black fungus, soybean and squash varieties of «Japanese».

In order to increase the protein content, and also due to the fact that the best source of protein is soy formulations of the liver pate special-purpose power for people experiencing increased physical load, soybean seedlings were introduced [2].

Method biomodifikatsii soybean seeds. Process biomodifikatsii soybean seed is better controlled optimum conditions and further prepare them to new biologically valuable food. Biomodifikatsiyu performed at room temperature (22°C). Initially, seeds were washed and soaked in 8:00 excess water.

Then the water is drained, the seeds were washed every morning and evening, nakry¬vali wet cloth, part of germinating seeds were selected for analysis. The analysis results showed that the weight and size of the germs sprouts varieties differ significantly studied.

Study was conducted in two modern varieties of food. The analysis results showed that the weight and size of the germs sprouts varieties differ significantly studied. Thus, the mass of varieties of seedlings Ros all the days of germination was a half to two times, and the amount of germs in two to four times greater than that of Valens.

The chemical composition of seedlings had varietal differences. In seeds and seedlings of soybean varieties Valenta any day of germination was more protein and less antinutrients – trypsin inhibitors than Ros variety. Both varieties day after the start of germination protein content increased more sharply than in the days that followed. Apparently, this is due to ekzoinversii seed a number of substances in their non-protein nature soaking in water. Then there is a gradual increase in the protein content of seedlings due to the synthesis of new proteins of the growing organism. When the fat content is reduced germination.

In the optimal phase of germination of seedlings mass exceeds the mass of the original seed in two and a half times in both soybean varieties. In the phase when the seedlings are best quality commodities, their nutritional value is higher than that of the original seed of both varieties. It is particularly important that the seedlings are 3–10% more protein.

All this allows us to consider them more valuable food product than the original seeds and makes them attractive for the production of high-grade products. In practice, one should pay attention to the variety of Valens, which has a small mass of seeds and seedlings at the same time provides a high content of biologically valuable components.

A study of the amino acid composition of protein rich developed liver pate «Force», the results are presented in Table 1.

Table 1 - The amino acid composition of pate «Force»

Amino acid	Consumption rate, g	Mass fraction of amino acids in the pate, pate g	Satisfaction «Force» physiological daily requirement,
Valine	2,5	2,84±1,3	113,6
Isoleucine	2,0	1,70±1,0	85
Leucine	4,6	5,41±1,2	117,6
Lysine	4,1	3,98±1,0	97,0
Methionine + cystine	1,8	0,55±0,7	30,5
Threonine	2,4	2,37±1,3	98,75
Phenylalanine + tyrosine	4,4	2,06±1,3	46,8
Alanine	6,6	2,84±1,2	43,0
Aspartic acid	12,2	4,13±1,3	33,9
Histidine	2,1	1,18±1,4	56,19
Glycine	3,5	2,28±1,3	65,1
Proline	4,5	2,27±1,0	50,4
Serine	8,3	2,3±1,1	28,3
Glutamicacid	13,6	6,72±1,6	49,4
Arginine	6,1	2,09±1,3	34,5

From Table 1 it can be concluded that the pate «strength» by the indispensable amino acids of FAK satisfies 30% to 117%.

In conclusion, it can be concluded that the weight pates are useful and necessary product for human living conditions in the Far East. Pies physico-chemical and organoleptic characteristics, meet the requirements of GOST R 55334–2012 Canned meat and meat-containing. Technical conditions. Deviations from the requirements of TR CU 021/2011 «On food safety» for hygienic safety were detected.

List of references:

1. The prince, VA Actual problems of improving the structure of the nutrition and health of the Russian population: The concept of the state policy in the field of healthy eating // VA Prince, GG Onishchenko, OV Bolshakov et al. // Nutrition. – 2008. – № 1. – S. 3–7.

2. Petibskaya VS Soybeans: chemical composition and use // Edited by academician, Dr. agricultural Sciences VM Lukomtsa // – Maikop: JSC "Polygraph-South", 2012. – 432s

3. Kalenik, TK Justification of the approaches to the development of technology to create meat and cereal compositions weight pates functional orientation / TK Kalenik, SM Dotsenko, DV Cupcake // Bulletin KrasGAU. – 2012. – № 10. – S. 188-192.

УДК 637.1

ОСОБЕННОСТИ ТРАНСФОРМАЦИИ БИОПОЛИМЕРОВ ЭМУЛЬСИОННЫХ СИСТЕМ ПРИ ИХ НАПРАВЛЕННОЙ БИОКАТАЛИТИЧЕСКОЙ КОНВЕРСИИ И ДВУСТАДИЙНОЙ МЕМБРАННОЙ ФИЛЬТРАЦИИ

Харитонов В.Д., Агаркова Е.Ю., Кручинин А.Г., Рязанцева К.А., Королева О.В., Федорова Т.В., Пономарева Н.В., Мельникова Е.И.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности»

г. Москва, Россия, ул. Люсиновская, д. 35, корп.7, e-mail: vnimi5@rambler.ru.

Ферментативный гидролиз препаратами Alcalase и Protamex, и двухстадийная ультрафильтрация приводит к снижению остаточной антигенности полученных гидролизатов с сохранением привлекательных органолептических характеристик.

Ключевые слова: гидролиз, ферменты, двухстадийная фильтрация, антигенность.

Исследования последних лет показывают, что для придания молочным продуктам функциональных свойств, в частности снижения аллергенности, наиболее перспективным подходом представляется биокаталитическая конверсия белков молока, направленная на получение гидролизатов с заданным молекулярно-массовым распределением и остаточной антигенностью.

Подобрана ферментная композиция из ферментных препаратов Protamex и Alcalase. Установлены параметры биокаталитической конверсии белков молочной сыворотки: массовая доля белка в смеси не более 1%, начальная кислотность реакционной смеси pH=7, температура процесса (50±2°C и продолжительность гидролиза 90 минут.

Исследована возможность использования двухстадийного концентрирования гидролизатов и определены рациональные режимы: 1-я стадия- мембранный элемент с отсечкой 20 кДа, рабочая температура концентрируемой среды 20°C, объемный фактор концентрирования 19, скорость фильтрации 37,5 – 28,8 дм^3/м^{2}ч, при давлении на входе в мембранный аппарат 0,51 МПа; 2-я стадия- мембранный элемент с отсечкой 5 кДа, рабочая температура концентрируемой среды 20°C, объемный фактор концентрирования 6, удельная скорость фильтрации 30–16,3 дм^3/м^{2}ч, при давлении на входе в мембранный аппарат 0,55 МПа.

Ферментативная конверсия белков молочной сыворотки при данных условиях позволяет получить белковый гидролизат с пониженной не менее чем на порядок остаточной антигенностью и привлекательными органолептическими характеристиками.

THE PECULIARITIES OF BIOPOLYMERS EMULSIVE SYSTEMS TANSFORMATION UNDER THEIR SYSTEMATIC BIOCATALYTIC CONVERSION AND TWO-STAGE MEMBRANE FILTRATION

Kharitonov V.D., Agarkova E.Yu, Kruchinin A.G.. Riazantseva K.A., Koroleva O.V., Federova T.V., Ponomareva N.V., Melnikova E.I.
Federal State Budgetary Scientific Institution "All-Russian Research Institute of Dairy Industry", 115093, Russia, Moscow, Lusinovskaya str., 35, Bld. 7

Fermentative hydrolysis by Alcalase and Protemax preparations and two stage ultrafiltration will result in reduction of residual antigenicity of the derived hydrolysates with preservation of attractive organoleptic properties

Keywords: hydrolyze, enzymes, two-stage concentration, antigenicity.

The research works of the last years show that in order to impart functional properties to dairy products, particularly allergy reduction, the most perspective approach is biocatalytic conversion of milk proteins aimed at production of hydrolyzates with the specified molecular-mass distribution and residual antigenicity.

The similar enzyme composition composing the enzyme preparations – Promatex and Alcalase has been selected The parameters of biocatalytic conversion of milk whey proteins have been determined: mass fraction of protein in the mixture – at most 1%, initial acidity of the reaction mixture – pH = 7, the process temperature (50 ±2) o C and hydrolysis time – 90 min.

The possibility to use two-stage hydrolyzates concentration has been investigated and the efficient regimes have been determined: 1-st stage – membrane element with 20 kDa cutoff, operating temperature of the concentrating medium – 20°C, concentration volumetric factor 19, filtration rate – 37,5 – 28,8 dm ^{3}/m ^{2}/h at membrane apparatus inlet pressure – 0,51 MPa; 2-nd stage – membrane element with 5 kDa cutoff, operating temperature of the concentrating medium – 20°C, concentration volumetric factor – 6; specific filtration rate – 30–16,3 dm ^{3}/m ^{2}/h at membrane apparatus inlet pressure – 0,55 MPa.

Milk whey proteins fermentation conversion under the specified conditions makes it possible to produce protein hydrolyzate with reduced by not less than tenfold of the residual antigenecity and favorable organoleptic characteristics.

УДК 579.674; 663.15

РАЗРАБОТКА ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ МОДЕЛИ АССОЦИАТИВНОЙ КУЛЬТУРЫ МИКРООРГАНИЗМОВ КЕФИРНЫХ ГРИБКОВ

Хохлачева А.А., Градова Н.Б.
Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева,
Москва, Россия, 125047, Миусская пл. д. 9
e-mail: sasha-88888@yandex.ru

При сравнительной оценке микробного профиля кефирных грибков из разных техногенных ниш не выявлено принципиальных различий. Показано участие индуцибельного фермента β-галактозидазы молочнокислых бактерий в стабилизации сообщества.

Ключевые слова: кефирные грибки, микробный профиль, трофические закономерности функционирования.

Исследование механизмов формирования структуры и функционирования ассоциативных культур микроорганизмов, как основной формы их существования в природе, является важным для познания стабильности природных биологических систем и является основой для разработки технологий создания и управления практически ценными ассоциативными культурами. Несмотря на возможные различные взаимоотношения микроорганизмов в сообществах, трофические взаимоотношения обеспечивают развитие кооперации клеток с комплексной моделью роста. С целью построения функциональной модели эволюционно сложившейся ассоциативной культуры кефирных грибков был исследован микробный профиль кефирных грибков и взаимоотношения между его микробными компонентами. При использовании классических микробиологических методов и современных молекулярно биологических методов, 16S рРНК и DGGE, не было выявлено принципиальных различий микробных профилей исследованных образцов кефирных грибков из разных техногенных ниш. При исследовании функциональной активности и физиолого-биохимических свойств молочнокислых бактерий кефирных грибков показано присутствие двух физиологических групп бактерий, отличающиеся способностью использовать лактозу для молочнокислого брожения, а также значение индуцибельного фермента β-галактозидазы в стабилизации функциональности данного сообщества. Данные результаты явились основой для построения функциональной модели микробного сообщества кефирных грибков.

DEVELOPMENT OF A FUNCTIONAL MODEL OF ASSOCIATIVE CULTURE OF MICROORGANISMS OF KEFIR GRAINS

Khokhlacheva A.A., Gradova N.B.
D. Mendeleyev University of Chemical Technology of Russia,
Moscow, Russia, 125047, Miusskaya Ploshchad, 9
e-mail: sasha-88888@yandex.ru

During comparative evaluation of the microbial profile of kefir grains from different technological niches no fundamental differences were revealed. Also the importance of the inducible β- galactosidase enzyme in the stabilization of the functionality of the community was shown.

Keywords: kefir grains, microbial profile, trophic patterns of functioning.

Study of the mechanisms of the structure formation and functioning of associative cultures of microorganisms as the main form of their existence in nature is crucial for understanding the stability of natural biological systems. It is also is the basis for the development of technologies for creating and managing industrially important associative cultures. As it was shown before there are different mechanisms of relationships in the communities of microorganisms, but trophic relationships ensure the development of cooperation with the complex cell growth model. Microbial profile of kefir grains and the relationship between its microbial components was studied in order to build a functional model of the evolutionary developed associative culture of kefir grains. The results of classic microbiological methods and modern molecular biological techniques, such as 16S rRNA and DGGE, showed no fundamental differences of microbial profiles of the studied kefir grains samples from different technological niches. Functional activity and physiological and biochemical properties of lactic acid bacteria kefir grains were studied and the results showed the presence of two physiological groups of bacteria that are characterized by the ability to use lactose in the process of lactic acid fermentation. Also the importance of an inducible enzyme β-galactosidase in the process of stabilization of this community's functionality was revealed. Based on these results the functional model of kefir grains microbial community was constructed.

УДК 678.048

АНАЛИЗ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ СОСТАВЛЯЮЩИХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВОК, ПРИМЕНЯЕМЫХ ПРИ СИНДРОМЕ ХРОНИЧЕСКОЙ УСТАЛОСТИ

Козлова З.Г.
ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия
119334, Москва, ул. Косыгина, д. 4, e-mail: zg-kozlova@mail.ru

На количественном уровне определена антиоксидантная активность ряда лекарственных трав – адаптогенов, входящих в состав БАД для лечения нервной системы.

Ключевые слова: антиоксиданты, антиоксидантная активность (АОА), биологически активные добавки (БАД).

В работе были исследованы давно известные в народной медицине лекарственные травы – адаптогены, увеличивающие сопротивление организма стрессовым нагрузкам, а также травы, обладающие успокаивающим действием, облегчающие последствия воздействия стресса.

Целью данной работы стало изучение и количественная оценка АОА ряда лекарственных трав с помощью модельной реакции окисления изопропилбензола. Количественные данные для суммарного содержания жиро- и водорастворимых АО в них колеблются в пределах от $4{,}3 \times 10^{-3}$ до $4{,}0 \times 10^{-1}$ М/кг.

Исследованные травы по содержанию АО можно расположить в следующей последовательности: Шишки хмеля > Гинкго двулопастный > Валериана > Ландыш > Элеутерококк > Зверобой > Мелисса > Левзея.

В основном, содержание АО в образцах более $1{,}0 \times 10^{-3}$ М/кг является высоким показателем и обусловливает позитивный эффект при их использовании для решения конкретных практических задач (в медицине, пищевой промышленности и т.д.).

На основе этих трав созданы БАДы как седативные, снотворные, успокаивающие средства для лечения нервной системы: «Сонник» (Россия), «Формула сна» (Россия), «Ново-пассит» (Чешская Республика), «Антистресс» (США), «Спокойная ночь» (Канада), «Дормиплант»

(Германия), «Валемидин» (Россия). Эти комплексы могут быть использованы для оздоровления не только нервной системы, но и всего организма в целом в качестве источника природных АО.

Литература

1. Цепалов В.Ф.Метод количественного анализа антиоксидантов с помощью модельной реакции инициированного окисления // Исследование синтетических и природных антиоксидантов *in vitro* и *in vivo*. М.: Наука, 1992. – С.16-26.

UDC 678.048

AN ANALYSIS OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF COMPONENTS OF BIOLOGICALLY ACTIVE ADDITIVES USED IN THE THERAPY OF CHRONIC TIREDNESS SYNDROME

Z.G. Kozlova

Emanuel Institute of Biochemical Physics of the Russian Academy of Sciences (RAS), Moscow, Russia 119334, 4 Kosygin St., Moscow, e-mail: zg-kozlova@mail.ru

The quantitative characteristics of the antioxidant activity of several medicinal herbs – adaptogens – that are components of BAAs used for a therapy of nervous system deceases were determined.

Keywords: antioxidants, antioxidant activity (AOA), biologically active additives (BAAs).

In this work several medicinal herbs – adaptogens – that are well known in traditional medicine as having sedative effect and used for increasing stress resistance were investigated.

The main aim was to study and quantitatively evaluate AOA of the medicinal herbs using a model reaction of initiated oxidation of isopropyl benzene. Quantitative data for the total content of fat- and water- soluble AO vary from 4.3×10^{-3} to 4.0×10^{-1} mole/kg.

The investigated herbs with relatively high content of AO could be placed in the following gradation: Hop cone > Ginkgo biloba > Valerian > Lily of the valley > Siberian ginseng > St.-John's wort > Lemon-balm > Leuzea.

In general, more than 10^{-3} M/kg AO content in the samples shows high value and determine positive effect when they are used for solving concrete practical tasks (in medicine, food industry etc.)

On the basis of these herbs, sedative and soporific BAAs were created for nervous system therapy: "Sonnic" (Russia), "Sleep formula" (Russia), "Novo passit" (Czech Republic), "Antistress" (USA), "Quiet night" (Canada), "Dormiplant" (Germany), "Valemidin" (Russia) etc. These complexes could be used for invigorating not only the nervous system but the whole organism as a source of natural AO.

References

1. Tsepalov V.F.: A Method of Quantitative Analysis of Antioxidants by means of a Model Reaction of Initiated Oxidation //Investigation of Synthetic and Natural Antioxidants *in vitro* and *in vivo*, Moscow. Nauka. 1992. P. 16-26 (in Russian).

УДК 664.2; 628.1

ПРИНЦИПЫ СОЗДАНИЯ МАЛОТОННАЖНЫХ БИОПРЕДПРИЯТИЙ НА ОСНОВЕ ВТОРИЧНОГО СЫРЬЯ И МЕМБРАННЫХ ПРОЦЕССОВ

Кудряшов В.Л.
ФГБНУ Всероссийский НИИ пищевой биотехнологии, Москва, Россия
111033, Москва, ул. Самокатная, 4б
e-mail: vera_vikir@mail.ru

Описаны принципы создания при пищевых предприятиях импортозамещающих безотходных производств биопрепаратов с использованием вторичного сырья и полупроницаемых мембран.

Ключевые слова: полупроницаемые мембраны; вторичное сырье; субстрат; импортозамещение.

Так как в сложившихся экономических условиях создание крупных биопредприятий маловероятно, то для импортозамещения биопрепаратов следует создавать малотоннажные конкурентоспособные цеха с учетом следующих принципов:

1.В качестве основы субстратов целесообразно использовать нативный пермеат кукурузного экстракта, картофельного сока, барды, коричневого сока, сыворотки и др. вторичного сырья (ВС), состав которого оптимизируется применительно к требованиям конкретного штамма-продуцента за счет подбора ультрафильтрационной полупроницаемой мембраны (ПМ) с соответствующим диаметром пор.

Так как пермеаты не требуют дополнительной стерилизации и не содержат в культуральной жидкости (к.ж.) взвешенных веществ мешающих растворению кислорода, то при этом экономится электроэнергия на сжатие и подачу воздуха.

2.Сами цеха следует создавать на заводах, имеющих перечисленное ВС.

3.Для отделения биомассы продуцента необходимо использовать микрофильтрационные ПМ из керамики, позволяющие одновременно и стерилизовать к.ж.

4. Концентрирование БАВ содержащихся в к ж. следует осуществлять на нанофильтрационных и обратноосмотических ПМ обеспечивающих низкие энергозатраты и очистку до уровня позволяющего использовать пермеат в рецикле.

5.Использовать биомассу в комбикормах и субстратах базидиальных грибов.

6.Для исключения влияния сезонного колебания загрузки цехов они должны быть универсальными и легко перестраиваться на переработку различного ВС.

PRINCIPLES OF DEVELOPMENT OF LOW-TONNAGE BIOENTERPRISES BASED ON SECONDARY RAW MATERIALS AND MEMBRANE PROCESSES

Kudryashov V.L.
All-Russian Research Institute of Food Biotechnology,
4b Samokantanya St., Moscow, 111033, Russia
e-mail: vera_vikir@mail.ru

The principles to develop import substitution non-waste production of biological production using secondary raw materials and semi-permeable membranes were described.

Keywords: semi-permeable membranes, secondary raw materials, substrate, import substitution

Since the current economic conditions, the development of large bioenterprises is unlikely, then for the import substation of bio-products small low-tonnage competitive plants should be built considering the following principles:

1. As a basis of substrates it is better to use native permeate of corn extract, potato juice, DDGS, brown juice, whey and another raw materials, which content is optimized applicable to requirements of certain producer strain by selection of ultrafiltration semi-permeable membrane with corresponding diameter of pores.

Since permeates do not require additional sterilization and do not contain cultural liquid of suspended solids interfering the dissolution of oxygen, thus saving energy for compressing and supplying air.

2. The workshops should be built at plant with all mentioned secondary raw materials.
3. In order to separate biomass of producer it is necessary to use microfiltration semi-permeable membranes for ceramics allowing to sterilize culture liquid simultaneously.
4. Concentration of biologically active substances containing in culture liquid should be performed at nanofiltration and reverse osmosis semi-permeable membranes providing low energy consumption and purification up to level for usage of permeate in recycle.
5. To use biomass in compound feed and substrates of basidiomycetes.
6. To eliminate the influence of seasonal variation of plant load they should be universal and easily rearrange to process different secondary raw materials.

УДК 663.05:663.1

НАУЧНЫЕ ПРИНЦИПЫ КОНСТРУИРОВАНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ НА ОСНОВЕ ФЕРМЕНТОЛИЗАТОВ РАСТИТЕЛЬНОГО И МИКРОБНОГО СЫРЬЯ

Курбатова Е.И., Соколова Е.Н., Давыдкина В.Е., Борщева Ю.А., Римарева Л.В.
ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии, 111033, Россия, Москва, Самокатная ул., д.4 б, e-mail: Lrimareva@mail.ru

По результатам исследований научно обоснованы и экспериментально подтверждены принципы конструирования функциональных продуктов, получаемых на основе ферментолизатов растительного и микробного сырья, что позволит корректировать рацион питания в зависимости от физиологических потребностей населения.

Ключевые слова: микробная биомасса, биокатализ, ферментолизаты, функциональные продукты

Одним из актуальных направлений пищевой биотехнологии является использование растительного и микробного сырья как источников биологически активных соединений. Подобраны оптимальные ферментативные системы для деструкции биополимеров плодово-ягодного, зернового и микробного сырья с целью получения ферментолизатов заданного состава с повышенной биологической активностью. Исследовано содержание в них органических кислот, незаменимых аминокислот, микроэлементов, витаминов, каротиноидов и антоцианов. С применением приема пищевой комбинаторики и данных по нормам физиологических потребностей сконструированы рецептуры функциональных напитков для различных групп населения. Употребление напитков, обогащенных биологически ценными компонентами, позволит устранить дефицит эссенциальных нутриентов и оказывать лечебно-профилактическое действие на организм. Таким образом, научно обоснованы и экспериментально подтверждены принципы

создания продуктов функционального назначения посредством комбинирования источников пищевых и биологически активных компонентов различного происхождения.

Исследования выполнены по гранту Президента РФ для Государственной поддержки молодых российских ученых-кандидатов наук МК-575.2014.4.

УДК663.05:663.1

SCIENTIFIC PRINCIPLES OF BALANCED FUNCTIONAL FOOD CONSTRUCTION BASEDON PLANT AND MICROBIAL FERMENTOLIZATES

Kurbatova E.I., Rimareva L.V., Sokolova E.N., Davydkina V.E., Borscheva Y.A.
Russian Scientific-Research Institute of Food Biotechnology,
111033, Russia, Moscow, Samokatnayast., 4b, e-mail: Lrimareva@mail.ru

By results of researches the principles of designing of the functional products received on the basis of fermentolizates of plant and microbic raw materials that will allow to correct a food allowance depending on physiological requirements of the population are evidence-based and experimentally confirmed.

Keywords: microbial biomass, biocatalysis, fermentolizate, functional food

One of the priority areas of food biotechnology is the use of plant and microbial materials as sources of biologically active compounds. Optimal enzymatic system for the degradation of biopolymers fruit, grain and microbial raw materials for the purpose of obtaining fermentolizate specified composition with high biological activity. Investigated the content of organic acids, amino acids, minerals, vitamins, carotenoids and anthocyanins. Using nutritional combinatorics and data standards physiological needs designed recipes functional beverages for different population groups. The use of the beverages enriched with biologically valuable components will eliminatethe deficiency of essential nutrients and have a therapeutic effect on the body. Thus, scientifically substantiated and experimentally confirmed the principles of creating functional products by combining sources of food and biologically active components of different origin.

Researches are executed on the Russian President's grant for the State support of young Russian scientists-candidates of science of MK-575.2014.4.

УДК 581:612.017.1:615.272

РАЗРАБОТКА КОМПОНЕНТОВ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ПИТАНИЯ НА ОСНОВЕ БИОФЛАВОНОИДОВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Ломтева Н.А., Кондратенко Е.И., Касимова С.К., Яковенкова Л.А., Сороколетова Н.Е., Уркумбаева С.К., Петрякова Ю.А.
ФГБОУ ВПО «Астраханский государственный университет»,
Астрахань, Россия
414000, Астрахань, пл. Шаумяна,1
molecula01@yandex.ru

В работе изучали растительные экстракты, полученные из лекарственно-ценных нетоксичных растений–эндемиков Астраханской области: лоха узколистного, шелковицы, татарника колючего, тамарикса на содержание биофлавоноидов для обогащения компонентов функционального питания.

Ключевые слова: биофлавоноиды, антиокисданты, компоненты функционального питания.

Воздействие научно-технического прогресса и негативное действие социально обусловленного стресса приводят к сбою в механизмах адаптации к экстремальным факторам среды и формированию дезадаптивных нарушений, ухудшающих здоровье. В связи с этим в последние годы все актуальнее становится проблема повышения биологической надежности организма человека путем поиска средств и методов расширения диапазона физиологических резервов организма. Адекватным направлением является отвечающее всем перечисленным условиям оздоровительное питание. Цель работы – получения растительного экстракта с высоким содержанием биофлавоноидов и антиоксидантов, пригодного для обогащения хлебобулочных изделий, напитков, джемов физиологически ценными компонентами. Изучались растительные экстракты, полученные из лекарственно-ценных нетоксичных растений–эндемиков Астраханской области: лоха узколистного, шелковицы, татарника колючего, тамарикса на содержание биофлавоноидов для обогащения компонентов функционального питания. Экстракты, получаемые из листьев, цветков, корней и других частей растений обладают оптимальным содержанием активных компонентов. Придание новых, функциональных свойств продуктам питания, будет осуществляться благодаря введению нового пищевого ингредиента, богатого флавоноидами и антиоксидантами, инулином, танином, органическими кислотами. Новые функциональные свойства заключаются в: оптимизации липидного и углеводного обмена, улучшению сна, памяти, регуляции иммунитета, защите печени от химических повреждений, защите организма от радиации и мутагенов, усилении выведении токсикантов, повышении противоопухолевой защиты.

UDC 581: 612.017.1: 615,272

THE DESIGN OF COMPONENTS OF FUNCTIONAL NUTRITION BASED ON PLANT BIOFLAVONOIDS

Lomteva N.A., Kondratenko E.I., Kasimov S.K., Yakovenkova L.A., Sorokoletova N.E., Urkumbaeva S.K., Petryakova Yu.A.
Astrakhan State University, Astrakhan, Russia
414000, Astrakhan, pl. Shaumyana 1
molecula01@yandex.ru

In this paper we studied plant extracts, which derived from drug non-toxic endemic plants of the Astrakhan region: Elaeagnus angustifolia, Morus, Onopordum acanthium, tamarix on the content of bioflavonoids to enrich the components of functional nutrition.

Keywords: bioflavonoids, antioxidants, components of functional nutrition.

The influence of scientific and technological progress and the negative effects of social stress crashes in the mechanisms of adaptation to extreme environmental factors and the formation of disadaptive disorders and impair health. So in recent years the problem of increasing the biological safety of the human organism through searching tools and methods to expand the range of physiological reserves is actual. The healthy nutrition is a good direction of this. The purpose of the research is to get plant extracts with a high content of bioflavonoids and antioxidants for enriching the bakery products, beverages, jams witch physiologically valuable components.

We studied plant extracts from drug non-toxic endemic plants of the Astrakhan region: Elaeagnus angustifolia, Morus, Onopordum acanthium, tamarix on the content of bioflavonoids to enrich the

components of functional nutrition. The extracts from leaves, flowers, roots and other plant parts have an optimum content of active ingredients. The food products get new functional properties by introducing a new food ingredients witch flavonoids and antioxidants, inulin, tannins, organic acids. New functional properties consist of: optimization of lipid and carbohydrate metabolism, improve of sleep, memory and regulation of immunity, protect the liver from chemical damage, protecting the body from radiation and mutagens, increased elimination of toxicants, enhanced anti-tumor protection.

УДК 573.6.086.83.001, 573.6.086.83:582.28

ВЛИЯНИЕ КОЛИЧЕСТВА ИНОКУЛЯТА НА СИНТЕЗ БИОМАССЫ *FUSARIUM SAMBUCINUM* ШТ. D-104 – ПРОДУЦЕНТОМ МИКОПРОТЕИНА

Неманова Е.О., Горшина Е.С., Русинова Т.В., Бирюков В.В.
Университет машиностроения, Москва, Россия
107023, Москва, улица Большая Семеновская, 38
e-mail: neo_kate@inbox.ru

Определено оптимальное количество инокулята *Fusarium sambucinum* шт. D-104 в условиях жидкофазного глубинного культивирования – от 5 до 10% (v/v), обеспечивающее наиболее эффективный синтез высокобелковой биомассы штаммом.

Ключевые слова: микопротеин; *Fusarium sambucinum*; жидкофазное глубинное культивирование; инокулят.

Актуальным направлением современной биотехнологии является получение широкого спектра пищевых и биологический активных добавок, а также продуктов здорового питания на основе различных штаммов-продуцентов. Одним из таких продуктов является микопротеин (высокобелковая пищевая биомасса мицелиального грибного штамма-продуцента, полученная методом жидкофазного глубинного культивирования) на основе *Fusarium sambucinum* шт.D-104 (ВКПМ F-1161) (заявка на патент РФ № 2012138568).

Существенное влияние на эффективность получения микопротеина и качество конечного продукта в процессе жидкофазного глубинного культивирования оказывает количество посевного материала.

Экспериментальную работу по изучению влияния этого показателя проводили в глубинных условиях в аппарате BioFlo 110 (производитель New Brunswick Scientific, США) геометрическим объемом 1,3 л, с двухъярусной турбинной мешалкой открытого типа диаметром 0,055м на питательной среде с гидролизованным крахмалов в качестве основного источника углерода при температуре 27±0,5°С, в режиме pH-статирования 4,0±0,2, перемешивании 700об·мин$^{-1}$, аэрации 1,2об·об$^{-1}$·мин$^{-1}$. Время культивирования составляло 24ч. Количество вносимого посевного материала, полученного глубинным методом, варьировали в диапазоне от 0,1% до 20% (v/v).

Показано, что концентрация посевного материала 0,2% (v/v) является минимально допустимой для обеспечения глубинного роста культуры продуцента. Наиболее эффективно синтез биомассы штаммом-продуцентом идет в диапазоне концентраций инокулята от 5 до 10% (v/v). Увеличение концентрации до 20% (v/v) не приводит к существенному повышению интенсивности биосинтеза и, кроме того, ухудшает качество конечного продукта за счет значительного преобладания в культуре продуцента гиф в поздних возрастных фазах.

Таким образом, определено оптимальное количество инокулята *Fusarium sambucinum* шт.D-104 в условиях жидкофазного глубинного культивирования – от 5 до 10% (v/v), обеспечивающее наиболее эффективный синтез высокобелковой биомассы продуцентом.

EFFECT OF INOCULUM VOLUME ON BIOMASS SYNTHESIS BY MYCOPROTEIN STRAIN *FUSARIUM SAMBUCINUM* D-104

E.O. Nemanova, E.S. Gorshina, T.V. Rusinova, V.V. Biryukov
Moscow State University of Mechanical Engineering, Moscow, Russia
38, Bolshaya Semenovskaya str., Moscow, 105066
E-mail: neo_kate@inbox.ru

The inoculum volume of *Fusarium sambucinum* D-104 has been found to be from 5 to 10% (v/v), providing the most effective synthesis of high protein biomass.

Keywords: mycoprotein; *Fusarium sambucinum*; liquid submerged cultivation; inoculum volume.

The production of wide range of food and biological active substances and healthy food products on the base of different producers is the actual direction of modern biotechnology. Mycoprotein (high protein food mycelia biomass of filamentous fungi in submerged culture) on the base of *Fusarium sambucinum* D-104 (All-Russian collection of industrial microorganisms F-1161) (patent application RU № 2012138568) is one of the perspective healthy food products.

Inoculum volume has a significant effect on the quality of mycoprotein and the effectiveness of the production process in submerged culture.

All the trials were carried out in the 1,3 l stirred-tank fermenter BioFlo 110 (New Brunswick Scientific, USA) in submerged culture. The liquid medium contained hydrolyzed starch as the main carbon source. The trials were carried out under the following conditions: at temperature 27±0,5°C, at constant pH 4,0±0,2, 700 rpm, aeration rate $1{,}2 v \cdot v^{-1} \cdot m^{-1}$ for 24h, under different inoculum volume ranging from 0,1% to 20% (v/v).

It has been shown that the minimal inoculum volume for liquid submerged cultivation is 0,2% (v/v). The optimal inoculum volume for biomass synthesis has been found to be from 5 to 10% (v/v). The increase of inoculum volume to 20% (v/v) does not lead to significant biosynthesis growth, but contributes to impairment of mycoprotein quality because of high amount of hyphae in the later growth phases.

Thus, the optimal inoculum volume of *Fusarium sambucinum* D-104 has been found to be from 5 to 10% (v/v), providing the most effective synthesis of high protein biomass.

УДК 664.849

СПОСОБ СУШКИ С СОХРАНЕНИЕМ БИОЛОГИЧЕСКИ – АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В СОСТАВЕ ПЛОДОВ ШИПОВНИКА

Норкулова К.Т., Сафаров Ж.Э., Жумаев Б.М.
Ташкентский государственный технический университет им. Абу Райхана Беруни, Ташкент, Узбекистан
100095, Ташкент, ул. Университетская, 2.
e-mail: jasursafarov@mail.ru

В статье рассматриваются характеристики плодов шиповника и способы их переработки. Представлены результаты исследований способов сушки в виде применения вакуумной инфракрасной сушильной установки, а также результаты проведенных экспериментов по этим способам. Показаны полученные результаты с сохранением биологически – активных веществ в составе плодов шиповника.

Ключевые слова: сушка, плодов шиповника, биологически – активные веществ, вакуум, инфракрасный нагрев.

Шиповник как источник биоактивных веществ имеет ряд преимуществ перед синтетической аскорбиновой кислотой. Аскорбиновая кислота, применяемая в органических препаратах, в частности, растительных, осложнений не вызывает, в то время как дозы синтетической аскорбиновой кислоты в количестве 50 мг/кг, в экспериментах на животных, оказывают гемолизирующее действие на кровь, вызывая анемию и подавляют сопротивляемость организма, понижая фагоцитарную активность лейкоцитов.

Плоды шиповника должны сохранять витамины при сушке. Существуют различные способы сушки. Например, в ленточных сушилках, конвективная, теневая, гелиосушка, естественным способом, радиационным, вакуум-инфракрасная сушка. Но, у каждого из этих способов есть какие-либо свои недостатки и преимущества: продолжительное время сушки, сохранность состава витаминов, других ценных ингредиентов и т.д.

Учеными ТашГТУ разработана вакуумная инфракрасная сушильная установка. Сушильная система состоит – из вакуум-камеры, энергетической системы для ИК-облучения и контрольно-измерительных приборов. Проводились эксперименты по сушке плодов шиповника в вакууме с помощью инфракрасного нагрева. В процесс сушки имели рабочую температуру 70°С, давление внутри камеры -0,8 атм и время сушки 4 часа. С этими параметрами плоды шиповника хорошо сушатся и их качество подтверждено Аккредитованным испытательным центром, хорошо сохраняются в составе плодов биологически – активные вещества.

UDC 664.849

THE METHOD OF DRYING THE CONSERVATION OF BIOLOGICAL -ACTIVE SUBSTANCES IN ROSE HIPS

Narkulova K.T., Safarov J.E., Jumaev B.M.
Tashkent state technical university after named Abu Raykhana Beruni, Tashkent, Uzbekistan
100095, Tashkent, st. University, 2.
e-mail: jasursafarov@mail.ru

This article discusses the characteristics of hips and methods of processing. The results of studies of ways of employing drying infrared vacuum drying apparatus, and the results of the experiments conducted on these methods. Shows the results obtained with the conservation of biological – active substances in the hips.

Keywords: drying, hips, biologically – active substances, vacuum infrared heating.

Rosehip as a source of bioactive substances has several advantages over synthetic ascorbic acid. Ascorbic acid used in organic preparations, in particular plant, does not cause complications, while doses of synthetic ascorbic acid in an amount of 50 mg/kg, animal experiments have hemolysing effect on the blood, causing anemia and suppress the resistance of the organism, decreasing phagocytic activity of leukocytes.

Hips should retain vitamins during drying. There are various methods of drying. For example, a belt dryers, convection, shadow, helio-drying, naturally, radiation, vacuum infrared drying. However, each of these methods have any advantages and disadvantages: long drying time, the safety of vitamins and other valuable ingredients, etc.

Tashkent State Technical University scientists developed a vacuum infrared drying unit. Drying system is – from the vacuum chamber, the energy system for IR radiation and instrumentation. Experiments were conducted by drying in vacuo rosehips using infrared heating. In the drying process were temperature of 70°C, the pressure inside the chamber and -0.8 atm drying time of 4 hours. With these parameters, hips well dried and their quality is confirmed by an accredited test center, well preserved as part of the fruits of biologically – active substances.

УДК 57.083.132:663.1

ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ФЕРМЕНТОЛИЗАТОВ ВСР БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДСТВ КАК КОМПОНЕНТОВ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ

Поляков В.А., Римарева Л.В., Серба Е.М., Погоржельская Н.С., Рачков К.В.
ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии, 111033, Россия, г. Москва, Самокатная ул., д.4б, E-mail: Lrimareva@mail.ru

Проведена направленная биокаталитическая деструкция субклеточных структур дрожжевой и грибной биомассы. Исследован спектральный составбелковых веществ ферментолизатов. Показана взаимосвязь биохимического, спектрального и фракционного составаферментолизатовс функциональными свойствами.

Ключевые слова: ферментолизаты, микробная биомасса, пищевые добавки, функциональные свойства

Проблема полноценного обеспечения пищевых потребностей населения может быть решена на основе использования биотехнологических методов с привлечением биомассы микроорганизмов– вторичных биоресурсов перерабатывающих производств. Интерес к этой проблеме обусловлен способностью микроорганизмов синтезировать вещества, имеющие промышленное значение, а также возможностью использовать их биомассу в качестве субстрата для получения пищевых добавок.

Микробная биомасса богата белковыми веществами с высоким скором незаменимых аминокислот, нуклеиновыми кислотами, полисахаридами, витаминами и микроэлементами. Установлены различия в аминокислотном составе микробных белков, а также в содержании полисахаридов грибной и дрожжевой биомассы, что влияет на биологические функции создаваемых продуктов. Разработаны процессы направленной биокаталитической деструкции субклеточных структур дрожжей *Saccharomycescerevisiae* и мицелиальных грибов для получения пищевых и биологически активных добавок. Установлено, что в зависимости от степени гидролиза полимеров микробной биомассы возможно получить ферментолизаты с заданным составом и свойствами. Функциональные свойства ферментолизатов зависят от специфичности ферментов, используемых для деструкции, длительности катализа и происхождения микробной биомассы.

Исследования выполнены при поддержке гранта Президента РФ НШ-3732.2014.4.

UDC 57.083.132: 663.1

THE STUDY OF STRUCTURAL-FUNCTIONAL PROPERTIES OF FERMENTOLIZATE RECYCLABLE MATERIALS OF BIOTECHNOLOGY INDUSTRIES AS COMPONENTS OF FUNCTIONAL FOODS

Polyakov V.A., Rimareva L.V., Serba E.M., Pogorgelskaya N.S., RachkovK.V.
Russian Scientific-Research Institute of Food Biotechnology,
111033, Russia, Moscow, Samokatnayast., 4b, e-mail: Lrimareva@mail.ru

Conducted aimed biocatalytic degradation of subcellular structures of yeast and fungal biomass. The spectral composition of proteins of fermentolizate. Shows the relationship of biochemical, spectral and fractional composition of fermentolizate with functional properties.

Keywords: fermentolizate, microbial biomass, food additives, functional properties

The problem fully ensure the food needs of the population can be solved through the use of biotechnological methods involving biomass microorganism – secondary bioresources processing industries. Interest in this problem is due to the ability of microorganisms to synthesize substances that has commercial value, as well as the ability to use biomass as a substrate for the production of dietary supplements.

Microbial biomass rich in protein with a high near essential amino acids, nucleic acids, polysaccharides, vitamins and trace elements. The differences in amino acid composition of microbial proteins, as well as in the content of polysaccharides, fungal and yeast biomass, which affects the biological function of the created products. Developed processes aimed biocatalytic degradation of subcellular structures of the yeast Saccharomyces cerevisiae and filamentous fungi to produce food and biologically active additives. It is established that depending on the degree of hydrolysis of the polymers of microbial biomass it is possible to obtain fermentolizate with a given composition and properties. Functional properties of fermentolizate depend on the specificity of the enzymes used for the destruction, duration of catalysis and the origin of the microbial biomass.

The study was supported by Russian President's grant for leading scientific schools НШ-3732.2014.4.

УДК 579.676:663.18

БИОКОНСЕРВАНТЫ НА ОСНОВЕ ПРОБИОТИЧЕСКИХ КУЛЬТУР В ТЕХНОЛОГИЯХ ПЕРЕРАБОТКИ И ХРАНЕНИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ПРОДУКЦИИ

Поляков В.А., Волкова Г.С., Куксова Е.В.
ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии, 111033, Москва, Россия, ул. Самокатная, 4 б, e-mail: galina.volkova@bk.ru

Разработаны натуральные биоконсерванты на основе органических кислот для использования в технологиях хранения и переработки сельхозпродукции.

Ключевые слова: биоконсерванты, смешанное брожение, органические кислоты.

В условиях сезонности производства сельскохозяйственной продукции необходимо использование эффективных методов ее хранениях использованием современных защитных препаратов биологического происхождения, таких как натуральные биоконсерванты на основе органических кислот, полученныепутем микробной конверсии вторичных сырьевых ресурсов, которые позволяют обеспечить длительное хранение продукции и сохранение ее полезных свойств.

Натуральные биоконсерванты представляют собой жидкие препараты, полученные в результате смешанного брожения, содержащие органические кислоты и биомассу бактерий AcetobacteracetiB-4548, Lactobacillusacidophilus B-1660 (T), Lactobacillusplantarum B-578/2, Propionibacterium freudenreichiisubsp. shermanii Ac-103/12. Благодаря наличию в культуральных жидкостях органических кислот, бактериоцинов, антиоксидантных и ферментных комплексов и биомассы биоконсерванты обеспечивают антиокислительный и пробиотический эффекты.

Характерными особенностями используемых биоконсервантов является их органическое происхождение, безвредность, отсутствие влияния на вкусовые качества сырья, минимальное время воздействия для достижения защитного эффекта. Обработка сырья биоконсервантами была опробована при закладке на хранение свежих ягод и корнеплодов и показала высокую эффективность, что дает возможность отказаться от синтетических и химических консервантов.

UDC 579.676:663.18

BIOPRESERVATIVES ON THE BASIS OF PRO-BIOTIC CULTURES IN TECHNOLOGIES OF PROCESSING AND STORAGE OF AGRICULTURAL PRODUCTION

Polyakov V.A., Volkova G.S., Kuksova E.V.
Russian research institute of food biotechnology,
111033, Moscow, Russia, Samokatnaya St., 4, e-mail: galina.volkova@bk.ru

Natural biopreservativeson the basis of organic acids are developed for use in technologies of storage and processing of agricultural products.

Keywords: biopreservatives, the mixed fermentation, organic acids.

In the conditions of seasonality of production of agricultural production use of effective methods of its storage with use of modern protective preparations of a biological origin, such as the natural biopreservatives on the basis of organic acids received by microbic conversion of secondary raw material resources which allow to provide long storage of production and preservation of its useful properties is necessary.

Natural biopreservatives represent the liquid preparations received as a result of the mixed fermentation, containing organic acids and biomass of bacteria of Acetobacteraceti V-4548, Lactobacillus acidophilus V-1660 (T), Lactobacillus plantarum B-578/2, Propionibacterium freudenreichii subsp. shermanii As-103/12. Thanks to existence in cultural liquids of organic acids, bakteriotsin, antioxidant and fermental complexes and biomass biopreservatives provide anti-oxidizing and pro-biotic effects.

Characteristics of the used biopreservatives is their organic origin, harmlessness, lack of influence on raw materials tastes, the minimum time of influence for achievement of protective effect. Processing of raw materials biopreservativeswas tested at a bookmark for storage of fresh berries and root crops and showed high efficiency that gives the chance to refuse synthetic and chemical preservatives.

УДК 621.039.75

МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ПОДСЛАСТИТЕЛЕЙ В ВОДКАХ С ПРИМЕНЕНИЕМ ИОННОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Поляков В.А., Абрамова И.М., Медриш М.Э., Павленко С.В., Сняткова Д.А.
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии», Москва, Россия, 111033, Москва, ул. Самокатная, д. 4-б,
e-mail: medrishm@mail.ru

Разработана методика определения массовой концентрации подсластителей в водках с применением метода ионной хроматографии. Диапазон измерений массовой концентрации сорбита 0,01–0,05 мг/дм^3, стевиозида 0,05–10 мг/дм^3, сукралозы 0,001–0,004 мг/дм^3.

Ключевые слова: ионная хроматография; водки; водки особые; подсластители; сорбит; стевиозид; сукралоза

В настоящее время в рецептурах водочной продукции достаточно часто применяются различные заменители сахара, такие как сорбит, стевиозид, сукралоза, что позволяет расширить ассортимент водок с уменьшенной калорийностью и повысить органолептические качества водки. Поэтому количественное определение подсластителей (сорбита, стевиозида, сукралозы) в водках и водках особых является актуальной аналитической задачей.

Реализация мер по повышению качества испытаний алкогольной продукции и сырья для ее производства включает применение и внедрение современных инструментальных методов.

Использование хроматографии с применением импульсного амперометри-ческого детектирования позволяет провести высокочувствительный анализ сорбита, стевиозида и сукралозы.

Метод основан на ионообменных процессах, приводящих к разделению сорбита, стевиозида и сукралозы на разделительной хроматографической колонке и их последующем импульсно-амперометрическом детектировании.

Новая методика обеспечивает высокочувствительное и точное определение сорбита, стевиозида, сукралозы. И может применяться для идентификации водочной продукции на соответствие её рецептуре приготовления.

UDK 621.039.75

METHOD OF DETERMINATION OF SWEETENERS IN VODKA USING ION CHROMATOGRAPHY

Polyakov V.A., Abramova I.M., Medrish M.E., Pavlenko S.V., Snyatkova D.A.
Russian Research Institute of Food Biotechnology, Moscow, Russia
111033, Moscow, Samokatnaya st., 4-b, e-mail: medrishm@mail.ru

This work presents the method used for the determination of mass concentration of sweeteners in vodka using the method of ion chromatography. Mass concentration of sorbitol was ranged 0.01–0.05 mg /dm^3, stevioside – 0.05–10 mg/dm^3, sucralose – 0,001–0,004 mg/dm^3.

Keywords: ion chromatography; vodkas; special vodkas: sweeteners; sorbitol; stevioside; sucralose

Currently in recipes of beverages often use different sweeteners such as sorbitol, stevioside, sucralose. It allows expanding the range of vodkas with a reduced-calorie and improving the organoleptic

quality of vodka. Therefore, quantification of sweeteners (sorbitol, stevioside, sucralose) in vodkas and special vodkas is relevant analytical task.

Realization of measures to improve the quality test of alcoholic beverages and raw materials for its production involves the use and introduction of modern instrumental methods.

Using ion chromatography with pulsed amperometric detection allows to carry out highly sensitive analysis of sorbitol, stevioside and sucralose.

The method is based on ion-exchange processes that lead to the separation of sorbitol, stevioside and sucralose on a separation chromatographic column and subsequent pulsed amperometric detection.

The new technique provides a highly sensitive and accurate determination of sorbitol, stevioside, sucralose. And can be used to identify beverages for compliance with recipes of vodka preparation.

УДК 57.083.3:577.182.46:637.143

ИММУНОФЕРМЕНТНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ХЛОРАМФЕНИКОЛА В КАЗЕИНЕ: СПОСОБЫ ПРОБОПОДГОТОВКИ И АНАЛИТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ

Позняк Т.А., Вашкевич И.И., Свиридов О.В.
Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь
Белорусский государственный ветеринарный центр, Минск, Беларусь
e-mail: vashkevich@iboch.bas-net.by

Разработана методика подготовки проб казеина для контроля содержания остаточных количеств токсичного антибиотика хлорамфеникола с использованием набора реагентов «ИФА-ХЛОРАМФЕНИКОЛ», производимого Институтом биоорганической химии НАН Беларуси.

Ключевые слова: казеин, хлорамфеникол, иммуноферментный анализ.

Исследованы несколько способов подготовки проб для иммуноферментного анализа (ИФА) хлорамфеникола в казеине, которые включали раздельно или в комбинациях растворение белка в щелочных средах, добавление денатурирующего агента, протеолиз, иммуноадсорбцию и экстракцию. Критериями эффективности использованных подходов служили растворимость белка и вязкость его растворов, а также матрикс-эффект (фон), извлечение (открытие) хлорамфеникола и повторяемость результатов измерений при ИФА. Найдено, что методика, включающая иммуноадсорбцию хлорамфеникола из раствора казеина в лунках микропланшета для ИФА, может использоваться для обнаружения (полуколичественного определения) антибиотика. В то же время показано, что методика, основанная на экстракции хлорамфеникола этилацетатом из раствора казеина в 0,5 М NaOH, удовлетворяет ветеринарным требованиям к методам измерения содержания остаточных количеств хлорамфеникола в продукции животного происхождения и обеспечивает количественное определение данного антибиотика в казеине в диапазоне концентраций от 0,1 до 5,0 мкг/кг (фактор разведения – 2; матрикс-эффект – 0,1 мкг/кг, извлечение – 85%, повторяемость – 5%).

A CHLORAMPHENICOL ENZYME IMMUNOASSAY IN KASEIN: METHODS FOR SAMPLE PREPARATION AND ANALYTICAL PARAMETERS

Poznyak, T.A., Vashkevich, I.I., Sviridov, O.V.
Institute of Bioorganic Chemistry of National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus
Belorussian State Veterinary Centre, Minsk, Belarus
e-mail: vashkevich@iboch.bas-net.by

A technique of casein sample preparation has been developed for the control of residual amounts of toxic antibiotic chloramphenicol using the reagent kit EIA-CHLORAMPHENICOL manufactured by the Institute of Bioorganic Chemistry of National Academy of Sciences of Belarus.

Keywords: casein, chloramphenicol, enzyme immunoassay.

Several methods of sample preparation for a chloramphenicol enzyme immunoassay in casein have been studied. The methods comprised separately or collectively the steps of protein dissolution in alkaline media, denaturing agent addition, proteolysis, immunoadsorption or extraction. Protein solubility and the viscosity of the solutions as well as a matrix effect (background), chloramphenicol recovery and enzyme immunoassay data repeatability served as the efficiency criteria of the approaches used. It was found that a procedure which included the immunoadsorption of chloramphenicol from casein solution in microplate wells could be used for detection (semi-quantitative determination) of the antibiotics. At the same time, it was shown that a technique based on the extraction of chloramphenicol with ethyl acetate from a solution of casein in 0.5 M NaOH met the veterinary medicine requirements to the methods of measurement of residual chloramphenicol in products of animal origin and provided the quantitative determination of this antibiotic in an approximate range of 0,1 to 5,0 μg/kg (dilution factor – 2; matrix effect – 0,1 μg/kg, recovery – 85%, repeatability – 5%).

УДК 579.23; 579.22

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛОЧНОКИСЛЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ С ПРОТИВОГРИБКОВОЙ АКТИВНОСТЬЮ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ПРОДУКТОВ ЗДОРОВОГО ПИТАНИЯ

Саубенова М.Г., Кузнецова Т.В., Халымбетова А.Е., Айтжанова А.А.
Республиканское государственное предприятие «Институт микробиологии и вирусологии»
Комитет науки Министерства образования и науки Республики Казахстан, Алматы, Казахстан
050010, Алматы, ул. Богенбай батыра, 103
e-mail: raduga.30@mail.ru

Разработаны закваски для производства молочнокислых продуктов лечебно-профилактического назначения.

Ключевые слова: молочнокислые микроорганизмы, ассоциации, противогрибковая активность.

Наиболее перспективным и экологически обоснованным направлением предотвращения стремительного распространения патогенов грибковой природы представляется традиционное привлечение молочнокислых бактерий. Между тем, использование молочнокислых продуктов в большинстве случаев неприемлемо в диете больных микозами, в частности кандидомикозами, поскольку, по нашим данным, молочнокислые бактерии вступают с дрожжами рода Candida в симбиотические взаимоотношения, способствую их размножению [1]. Из национальных ка-

захских продуктов (кумыс, шубат, айран) нами были выделены новые штаммы молочнокислых микроорганизмов, с использованием которых получены ассоциации, активно подавляющие рост дрожжей рода Candidaи ряда плесневых грибов. На основе полученных данных разработаны закваски для производства молочнокислых продуктов [2]. В плане разработки рецептур продуктов здорового питания рассматриваются пути повышения пищевой и биологической ценности молочнокислых напитков.

Литература

1.Саубенова М.Г., Олейникова Е.А., Саданов А.К.Противогрибковый потенциал молочнокислых микроорганизмов // Lambertacademicpublishing г. Саарбрюкен, Германия. 2014. – С. 76.

2.Кузнецова Т.В., Саубенова М.Г., Халымбетова А.Е.и др. Влияние растительных добавок на антагонистическую активность ассоциации КГ молочнокислых микроорганизмов // Вестник КазНУ. Сер. биол. – Алматы, 2014. – №1/2(60). – С 279-282.

UDC 579.23; 579.22

USAGE OF LACTIC ACID MICROORGANISMS WITH ANTIFUNGAL ACTIVITY TO PRODUCE A HEALTHY FOOD

Saubenova M.G., Kuznetsova T.V., Khalymbetova A.E., Aytzhanova A.A.

The Republican State Enterprise"Instituteof Microbiology and Virology" Committeeof Science, Education and ScienceMinistry of the Republic ofKazakhstan, Almaty, Kazakhstan

050010, Almaty, st. Bogenbaybatyr,103

e-mail: raduga.30@mail.ru

Created starters for the production of fermented products of therapeutic and prophylactic purposes.

Keywords: lactic acidbacteria, associations, antifungal activity.

The most promising and ecologically substantiated direction to prevent the rapid spread of fungal pathogensseems to attracttraditionallactic acid bacteria. Mean while, the use of milk products in the diet for patients with mycosis, such as can didias is in most cases is unacceptable, because, according to our sources, the lactic acid bacteria creates a symbioticrelationship with the Candida species yeast and promotes their growth[1]. We have been allocated new strains of lactic acidmicroorganisms from kazakhnationalproducts (mare, shubat, ayran), which hare obtaine dusing the association actively suppress the growth of Candidayeastand some fungi. It was shown, that for the manifestation of a high antifungal activityrequires as part of the associationlactose fermented yeast. It is created a starters for the dairy products, which safe them from musty and prevent un wanted growth off ungalmicroflora representatives in the digestive tract. A wide range of antagonistic activity and selected starters can alsocontrol the growth of bacterial pathogens. The possibility of increasing the antifungal activity of lactic acid products by enriching their biologicallyactive substances contained in variousherbal supplements[2]. In terms of develop ingrecipesheal thy food sconsidered ways to improve the nutritional and biological value of lactic aciddrinks.

References

1.Saubenova M.G., Oleynikova E.A., Sadanov A.K. Antifungal potential oflactic acidmicroorganisms// Lambert academic publishingof Saarbrucken, Germany. 2014.- P.-76.

2. Kuznetsova T.V., Saubenova M.G., Khalymbetova A.E. et al. Effect of herbal supplementson the antagonistic activity of lactic acidmicroorganisms of association KG// Bulletin of the KNU. Ser. biol.- Almaty, 2014.- №1 / 2(60).– P. 279-282.

УКД 663.5/8

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА И БЕЗОПАСНОСТИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОГО СЫРЬЯ И ПРОДУКТОВ ЕГО ПЕРЕРАБОТКИ

Шелехова Н.В., Поляков В.А., Римарева Л.В.
ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии, г. Москва, Россия, 111033, Москва, ул. Самокатная, 4б, e-mail: 4953623751@mail.ru

Разработаны экспресс-методы контроля стадий биотехнологических и технологических процессов производства этилового спирта и ликероводочных изделий с использованием экспресс-методов газовой хроматографии, хромато-масс-спектрометрии и капиллярного электрофореза с целью изучения возможности регулирования процессами производства алкогольной продукции.

Ключевые слова: алкогольная продукция, газовая хроматография, капиллярный электрофорез, контроль качества и безопасности.

Современные инновационные технологии в области переработки сельскохозяйственного сырья в этиловый спирт и производство ликероводочной продукции требуют разработки оперативных методов контроля технологических процессов на всех этапах их производства для изучения возможности регулирования процессами производства алкогольной продукции. Важную роль в решении этой группы проблем играют информационные технологии. Учитывая оснащенность заводов отрасли современным аналитическим оборудованием, в целях совершенствования методов контроля сложных биологических смесей (питательных сред, сусла, бражки, барды, сточных вод др.), готовой продукции (спирта этилового и ликероводочных изделий) институтом разработаны национальные и межгосударственные стандарты с использованием газохромато-графических и хромато-масс-спектрометрических и электрофоретических методов анализа, для обеспечения качества и безопасности алкогольной продукции. Основное внимание при разработке новых методов анализа обращается на их инновационную составляющую, практическое применение и коммерческое использование.

UDC 663.5/8

MODERN METHODS FOR QUALITY AND SAFETY CONTROL OF AGRICULTURAL RAW MATERIALS AND PRODUCTS OF ITS PROCESSING

Shelekhova N.V., Polyakov V.A., Rimareva L.V.
Russian research Institute of food biotechnology, Moscow, Russia 111033, Moscow, street Samokatnaja, 4B, e-mail: 4953623751@mail.ru

Developed rapid methods of control stages biotechnology and technological processes of production of ethyl alcohol and alcoholic beverages from using express methods of gas chromatography, gas chromatography-mass spectrometry and capillary electrophoresis to study the possibility of regulating the processes of production of alcoholic products.

Keywords: alcoholic products, gas chromatography, capillary electrophoresis, quality and safety control

Modern innovative technologies in the field of processing of agricultural raw materials in ethanol and the production of distilled beverages require the development of rapid methods of process control

at all stages of their production to study the possibility of regulating the processes of production of alcoholic products. An important role in solving this problem group play information technology. Given the equipment of the branch factories of modern analytical equipment, in order to improve control methods for complex biological mixtures (nutrient media, wastewater etc), finished products (ethyl alcohol and alcoholic beverages), the Institute has developed a national and international standards using gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry and analysis by capillary electrophoresis, to ensure the quality and safety of alcohol products. When developing new methods of analysis focuses on innovation and practical application.

УКД 663.5/8

АВТОМАТИЗАЦИЯ ВЕДЕНИЯ ВНУТРИЛАБОРАТОРНОГО КОНТРОЛЯ ИЗМЕРЕНИЙ ПРИ РЕАЛИЗАЦИИ СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДОВ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА И БЕЗОПАСНОСТИ АЛКОГОЛЬНОЙ ПРОДУКЦИИ

Шелехова Н.В., Поляков В.А.

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии, г. Москва, Россия, 111033, Москва, ул. Самокатная, 4б, e-mail: 4953623751@mail.ru

Разработаны программные комплексы ПК «C_2H_5OH» и ПК «КЭФ» по автоматизации контроля качества и безопасности спиртовой и ликероводочной продукции на основе нового поколения вычислительной техники и современных операционных систем.

Ключевые слова: контрольные карты Шухарта, контроль качества и безопасности, алкогольная продукция

При использовании в лаборатории методов газовой хроматографии и капиллярного электрофореза, обеспечивающих оперативный контроль технологических процессов на всех стадиях производства этилового спирта и ликероводочной продукции, возникают трудности, связанные с проведением метрологических расчетов по данным результатов анализов. С целью автоматизации внутрилабораторного контроля результатов измерений показателей качества и безопасности алкогольной продукции, создания баз данных, институтом разработаны специализированные программные комплексы ПК «C2H5OH» и ПК «КЭФ». Программные комплексы предназначены для обработки результатов измерений показателей качества и безопасности алкогольной продукции, а так же для построения контрольных карт Шухарта, и могут быть использованы на спиртовых и ликероводочных заводах отрасли и в организациях, осуществляющих контроль качества и безопасности алкогольной продукции. Внедрение Программных комплексов ПК «C2H5OH+» и ПК «КЭФ» на предприятиях отрасли позволит снизить трудовые, временные и финансовые затраты на ведение внутрилабораторного контроля качества и безопасности спиртовой и ликероводочной продукции.

UDC 663.5/8

AUTOMATION LABORATORY CONTROL MEASUREMENTS DURING THE THE USE OF MODERN METHODS OF QUALITY AND SAFETY CONTROL OF ALCOHOL PRODUCTS

Shelekhova N.V., Polyakov V.A.
Russian research Institute of food biotechnology, Moscow, Russia
111033, Moscow, street Samokatnaja, 4B, e-mail: 4953623751@mail.ru

Developed software packages PC «C_2H_5OH» and PC «KEF» automation quality control and safety alcohol and alcoholic beverages on the basis of a new generation of computer technology and modern operating systems.

Keywords: Shewhart's control charts, quality and safety control, alcoholic products

When used in laboratory methods, gas chromatography and capillary electrophoresis, providing operational control of technological processes at all stages of production of ethyl alcohol and alcoholic products, there are difficulties associated with conducting metrological calculations based on test results. To automate intralaboratory results of measurements of the quality and safety of alcohol products, creation of databases, the Institute has developed specialized software packages PC «C_2H_5OH» and PC «KEF».

Software packages are designed for processing measurement results of the quality and safety of alcohol products, as well as for constructing control charts Shewhart, and can be used on alcohol and distilleries industry and organizations performing quality control and safety of alcohol products.

Implementation of software systems PC «C_2H_5OH» and PC «KEF» in the industry will reduce labor, time and cost to conduct interlaboratory quality control and safety of alcoholic beverages.

УДК 636.087.24

ПРИМЕНЕНИЕ СУХОЙ ЗЕРНОВОЙ БАРДЫ НА ПИЩЕВЫЕ ЦЕЛИ В КАЧЕСТВЕ ИСТОЧНИКА ПИЩЕВОЙ КЛЕТЧАКИ, ОБОГАЩЕННОЙ ВИТАМИНАМИ И АМИНОКИСЛОТАМИ

Туршатов М.В., Соловьев А.О.
ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии,
Москва, Россия, 111033, Москва, ул. Самокатная д. 4Б, lab78@mail.ru

Разработаны технологии получения этилового спирта и сушки послеспиртовой зерновой барды, позволяющие получать сухой продукт, соответствующий по
показателям безопасности пищевым продуктам и являющийся источником
клетчатки, обогащенный аминокислотами и витаминами.

Ключевые слова: этиловый спирт, вторичные сырьевые ресурсы, спиртовая барда, пищевая клетчатка, хлебопечение, функциональные продукты

В процессе переработки зернового сырья на этиловый спирт образуется вторичный сырьевой ресурс – послеспиртовая барда. Барда является ценным кормовым средством, так как помимо зерновой клетчатки содержит до 30-35% протеина, а также значительное количество свободных аминокислот, витаминов и микроэлементов. Современные технологии получения этилового спирта и переработки барды в сухие продукты открывают возможности для применения сухой барды на пищевые цели в качестве источника пищевых волокон, обогащенных протеи-

ном, аминокислотами витаминами и микроэлементами. В частности, во ВНИИПБТ разработана технология этилового спирта на основе глубокой очистки зернового сырья. Технология подготовки сырья включает в себя сухую очистку, мойку зерна, узел обеззараживания зерна озоном, в результате в производство поступает практически стерильное Зерно. Для переработки барды в сухие продукты разработана оригинальная пневматическая спиральная сушилка. Сушка идет при низкой температуре в потоке воздуха в течение 10-12 секунд, поэтому отсутствует нагарообразование и карамелизация продукта. При этом сохраняются все компоненты барды (витамины, белки, углеводы). Результаты анализа получаемого продукта по показателям безопасности позволяют использовать его на пищевые цели. Проведены исследования по применению данного продукта в хлебопечении.

UDC 636.087.24

USE OF DRY GRAIN STILLAGE FOR FOOD PURPOSES AS A SOURCE OF FOOD FIBER ENRICHED WITH VITAMINS AND AMINO ACIDS

Turshatov M., Solovyov A.
Russian Research Institute of Food Biotechnology,
Moskow, Russia, 111033, Moscow, Samokatnaya st. 4B, lab78@mail.ru

An original ethanol technology and distillers grains processing technology are developed. These technologies allow to produce a dry product which can be used for food purposes as a source of dietary fiber-rich protein, amino acids, vitamins and trace elements.

Keywords: alcohol, secondary raw materials, distillery stillage, dietary fiber, bakery, functional foods

During the processing of grain raw materials to ethanol secondary raw resource – distillers grains is producing. Distillers grains is a valuable fodder, because in addition to cereal fiber in its composition contains 30-35% protein, as well as a significant amount of free amino acids, vitamins and minerals. At the same time, modern technology of ethanol production and processing of stillage in dry products offer opportunities for the application of dry stillage for food purposes as a source of dietary fiber-rich protein, amino acids, vitamins and trace elements. In particular, VNIIPBT developed the ethanol production technology based on deep cleaning of grain. Raw material preparation technology includes dry cleaning, grain washing, grain ozone disinfection unit, resulting in the production of grain comes practically sterile. For the processing of stillage in dry products developed an original spiral air dryer. Drying is at a low temperature in a stream of air for about 10-12 seconds, so no caramelization and carbonization product. In this case all the components stillage saved (vitamins, proteins, carbohydrates). The analysis results obtained in terms of product safety allow its use for food purposes. Studies on the use of this product in baking. Obtained the positive conclusion.

УДК 621.039.75

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА СПОСОБОВ ПОЛУЧЕНИЯ ОЛИГОСАХАРИДОВ ИЗ ДРЕВЕСИНЫ

Волкова В.В., Канарский А.В.
Поволжский государственный технологический университет, Йошкар-Ола, Россия
424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, д. 3, корп. 1
e-mail: assa2011makovka@mail.ru

Получены водорастворимые фракции углеводов при помощи щелочной и водной экстракции. Показано, наилучшие результаты в схеме эксперимента и в образцах материала. Разработан и усовершенствован оптимальный способ выделения олигосахаров из растительного материала.

Ключевые слова: гемицеллюлоза; олигосахариды, экстракция.

Древесина для анализа употребляется в виде опилок, степень ее измельчения играет немаловажную роль.

Структурная схема исследований складывалась таким образом:

1) щелочная экстракция (4н КОН, 3% H_3BO_3); 2) водная экстракция (120 мин, 170°С); 3) водная экстракция (140 мин, 170°С).

Количественное содержание углеводов определяли фенолсерным методом по M. Dubois (Dubois et all., 1956).

Таблица 1 – Выход углеводов,

Метод экстракции	Содержание углеводов,			
	выход олигосахаридов из древесины осины	общий выход углеводов	выход олигосахаридов из древесины березы	общий выход углеводов
Щелочная	4,5	7,6	2,3	7,01
Водная (170°С, 120 мин)	13,7	29,8	9,2	24,7
Водная (170°С, 140 мин)	23,6	39,1	25,2	39,1

Список литературы: Dubois M., Gilles K.A.Colorimetric method for determination of sugars and related substances//Anal. Chem. 1956. Vol. 28. № 3. P. 350.

UDC 621.039.75

COMPARATIVE EVALUATION OF METHODS FOR THE PREPARATION OF OLIGOSACCHARIDES FROM WOOD

Volkova V.V., Kanarskiy A.V.
The Volga State University of Technology, Yoshkar-Ola, Russia
424000, Yoshkar-Ola, Lenin Square, d. 3, Bldg. 1
e-mail: assa2011makovka@mail.ru

Water soluble carbohydrate fraction obtained using water and alkaline extraction. Shown the best results in the experimental design and material samples. Developed and refined the best way to release oligosaccharides from plant material.

Keywords: hemicellulose; oligosaccharides extraction.

The wood is used for the analysis in the form of sawdust, the degree of grinding plays an important role.

Block diagram of research evolved as follows:

1) Alkaline extraction (4N KOH, 3% H3BO3); 2) water extraction (120 min 170˚S); 3) water extraction (140 min 170˚S).

Quantitative carbohydrate content was determined by the phenol-sulfuric method for M. Dubois (Dubois et all., 1956).

Table 1. – Exit of carbohydrates,

Extraction method	a carbohydrate content,			
	exit of oligosaccharides from aspen wood	the overall yield of carbohydrates	exit of oligosaccharides from birch	the overall yield of carbohydrates
Alkaline extraction	4,5	7,6	2,3	7,01
Water (170°C, 120 minutes)	13,7	29,8	9,2	24,7
Water (170°C, 140 minutes)	23,6	39,1	25,2	39,1

References: Dubois M., Gilles K.A.Colorimetric method for determination of sugars and related substances//Anal. Chem. 1956. Vol. 28. № 3. P. 350.

УДК 637.1

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ОЦЕНКИ БЕЛКОВЫХ МАКРОМОЛЕКУЛ В ПРОДУКТАХ, ПРОШЕДШИХ ГИДРОЛИЗ И БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ РЕЖИМЫ ОБРАБОТКИ

Юрова Е.А., Харитонов В.Д., Жижин Н.А., Кобзева Т.В.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности»,
Москва, Россия
115093, Москва, ул. Люсиновская, д.35, корп.7
e-mail: vnimi5@rambler.ru

Определены механизмы разделения белковых молекул, установлены особенности хроматографирования, определены диапазоны измерений молекулярно-массового распределения белковых макромолекул методом капиллярного электрофореза.

Ключевые слова: белковый состав, гидролиз, хроматография, электрофорез.

В настоящее время ассортимент молочной продукции значительно расширяется за счет внедрения так называемых функциональных или специализированных продуктов, созданных на основе гидролизованных молочных белков. Кроме этого, наблюдается стойкая тенденция внесения в пищевой продукт белковых препаратов. Наиболее часто для этих целей применяют сывороточные белки.

В связи с вышеизложенным, остро встает вопрос о необходимости разработки методики оценки белкового состава молочного белка, с целью подтверждения необходимых специфичных свойств молочных продуктов.

Одновременное применение методов высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), капиллярного электрофореза (КЭФ) и диск- электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ) в присутствии додецилсульфата натрия (ДСН) позволило разработать методику идентификации белкового состава, в том числе в продуктах, прошедших гидролиз. Определены механизмы разделения белковых молекул с последующим фракционированием методом диск-электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ), установлены особенности хроматографи-

рования методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и определены диапазоны измерений методом КЭФ молекулярно-массового распределения белковых макромолекул.

THE DEVELOPMENT OF THE METHOD AIMED AT EVALUATION OF PROTEIN MACROMOLECULES IN HYDROLYSES – TESTED PRODUCTS AND BIOTECHNOLOGICAL REGIMES OF TREATMENT

Yurova E.A., Kharitonov V.D., Zhizhin N.A., Kobzeva T.V.
Federal State Budgetary Scientific Institution «All-Russian Research Institute of Dairy Industry» Moscow, Russia
115093, Moscow, Lusinovskaya str., 35, Bld.7

The mechanism of protein molecules division with the following fractionation have been developed, the peculiarities of chromatography method and measuring ranges by capillary electrophoresis method of molecular-mass distribution of protein macromolecules have been assigned.

Keywords: proteins compose, hydrolysis, chromatography, electrophoresis.

At present the variety of dairy products is considerably expanding due to implementation of so called functional or specialized products created on the basis of hydrolyzed milk products. Moreover the stable tendency to application of protein preparations into food products for normalization, improving of the products nutritive value and other purposed are observed. Very often whey proteins are used for these purposes.

According to the mentioned above the question of the necessity to develop the method for milk protein composition evaluation is very significant aimed at confirmation of the essential specific properties of milk products.

Simultaneous usage of High-Performance Liquid Chromatography (HPLC), capillar electrophoresis (CE) and disk-electrophoresis in polyacrilamide gel (PAGE) in the presence of sodium dodecyl sulfate (SDS) made possible to develop the method of protein composition identification including the products exposed to hydrolysis. The mechanism of protein molecules division with the following fractionation by disc-electrophoresis method in polyacrylamide gel (PAGE) have been developed, the peculiarities of chromatography by High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) method and measuring ranges by CE method of molecular-mass distribution of protein macromolecules have been assigned.

ОГЛАВЛЕНИЕ
CONTENTS

ПЛЕНАРНОЕ ЗАСЕДАНИЕ «ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ»

PLENARY SESSION "FUNDAMENTAL RESEARCHES AND BIOTECHNOLOGY"

ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ
Власов В., Зенкова М., Пышный Д., Стеценко Д. 17

PROGRESS IN DEVELOPMENT OF THERAPEUTIC NUCLEIC ACIDS
Vlassov V., Zenkova M., Pyshnii D., Stetsenko D. 18

РЕЗИСТЕНТНОСТЬ БАКТЕРИЙ К АНТИБИОТИКАМ И ПУТИ ЕЕ ПРЕОДОЛЕНИЯ
Егоров А.М., Рубцова М.Ю., Григоренко В.Г. 18

BACTERIAL RESISTANCE TO ANTIBIOTICS AND WAYS TO OVERCOME IT
Egorov A.M., Rubtsova M.Yu., Grigorenko V.G. 19

ПРОБЛЕМЫ ГЕННО-ИНЖЕНЕРНО-МОДИФИЦИРОВАННЫХ ОРГАНИЗМОВ: ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ И КОНТРОЛЬ
Тутельян В.А. 20

ISSUES OF GENETICALLY MODIFIED ORGANISMS: SAFETY ASSESSMENT AND CONTROL
Tutelyan V.A., Thomas R. Schneider. 23

STRUCTURAL BIOLOGY WITH MODERN LIGHT SOURCES
Victor Lamzin 23

СЕКЦИЯ «БИОТЕХНОЛОГИЯ И МЕДИЦИНА»

SECTION "BIOTECHNOLOGY AND MEDICINE"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

МАКРОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ЛИЗОЦИМА И КАЗЕИНАТА НАТРИЯ
Антонов Ю.А., Журавлева И.Л. 24

MACROMOLECULAR COMPLEXES OF LYSOZYME AND SODIUM CASEINATE
Yurij A.Antonov, and Irina L. Zhuravleva 25

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ДЕВИТАЛИЗИРОВАННОГО ПЕРИКАРДА В КАЧЕСТВЕ ПЛАСТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ КАРДИОХИРУРГИИ
Бритиков Д.В., Муратов Р.М., Цыганков Ю.М., Серов Р.А., Городков А.Ю. 25

EXPERIMENTAL EVALUATION OF USAGE DECELLULARIZED PERICARDIUM AS A PLASTIC MATERIAL FOR CARDIOVASCULAR SURGERY
Britikov D.V., Muratov R.M., Tsygankov Y.M., Serov, R. A., Gorodkov A.Y.. 26

МЕТОДЫ СКАНИРУЮЩЕЙ ЗОНДОВОЙ МИКРОСКОПИИ И СПЕКТРОСКОПИИ ДЛЯ МЕДИЦИНСКОЙ ДИАГНОСТИКИ
Быков В.А. 27

METHODS OF SCANNING PROBE MICROSCOPY AND SPECTROSCOPY FOR MEDICAL DIAGNOSTICS
V.A. Bykov 28

РОЛЬ СИГНАЛЬНЫХ КАСКАДОВ В РЕАКЦИЯХ СИСТЕМЫ КРОВИ НА ДЕЙСТВИЕ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ФАКТОРОВ
Дыгай А.М., Жданов В.В., Зюзьков Г.Н., Удут Е.В., Мирошниченко Л.А., Симанина Е.В., Хричкова Т.Ю., Ставрова Л.А., Чайковский А.В., Минакова М.Ю. 29

ROLE OF SIGNALING CASCADES IN RESPONSE OF BLOOD SYSTEM TO INFLUENCE OF EXTREME FACTORS
Dygai A.M., Zhdanov V.V., Zyuz'kov G.N., Udut E.V., Miroshnichenko L.A., Simanina E.V., Khrichkova T.Y., Stavrova L.A.Chaykovskiy A.V., Minakova M.Y. 30

РЕГУЛЯЦИЯ ФОРМИРОВАНИЯ МИКРОБНЫХ БИОПЛЕНОК КАК ПЕРСПЕКТИВНОЕ НАПРАВЛЕНИЕ БИОТЕХНОЛОГИИ И МЕДИЦИНЫ
Ганнесен А.В., Мартьянов С.В., Журина М.В., Плакунов В.К., Нетрусов А.И. 31

REGULATION OF MICROBIAL BIOFILMS FORMATION AS A PERSPECTIVE APPROACH FOR MEDICINE AND BIOTECHNOLOGY
Gannesen A.V., Mart'yanov S.V., Zhurina M.V., Plakunov V.K., Netrusov A.I. 32

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СМЕРЧЕВЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В ИССЛЕДОВАНИЯХ, ДИАГНОСТИКЕ И ИЗГОТОВЛЕНИИ ИМПЛАНТАТОВ ДЛЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ ХИРУРГИИ
Бокерия Л.А., Кикнадзе Г.И., Городков А.Ю. 32

USE TORNADO TECHNOLOGIES IN RESEARCH, DIAGNOSTICS AND IMPLANT MANUFACTURING FOR CARDIOVASCULAR SURGERY
L.A.Bokeria, G.I. Kiknadze, A.Yu. Gorodkov 34

ОТ ГЕНОМА И ГЕНОМИКИ К КОННЕКТОМУ И КОННЕКТОМИКАМ
Грибанов Г.А.. 35

FROM THE GENOME AND GENOMICS TO CONNECTOME AND CONNECTOMICS
Gribanov G.A. 37

ИССЛЕДОВАНИЕ БЕЛКА VirE2 КАК ТРАНСПОРТЕРА ДНК В ЖИВОТНУЮ КЛЕТКУ
Гусев Ю.С., Мазилов С.И., Моисеева Е.М., Волохина И.В., Чумаков М.И. 38

STUDYING OF VirE2 PROTEIN AS A DNA TRANSPORTER INTO ANIMAL CELLS
Gusev Yu.S., Mazilov S.I., Moiseeva E.M., Volokhina I.V., Chumakov M.I.. 39

БИОТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ И ПЕРСОНИФИЦИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ ПСИХИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ
Клюшник Т.П., Тиганов А.С., Копейко Г.И.. 40

BIOTECHNOLOGIES USED FOR DIAGNOSTICS AND PERSONIFIED THERAPY OF MENTAL DISORDERS
Klushnik T.P., Tiganov A.S., Kopeyko G.I. 40

ДИАБЕТ – ТРАНСЛЯЦИОННЫЕ НАРУШЕНИЯ БЕЛКОВОГО ОБМЕНА
Мухамеджанов Э.К., Есырев О.В., Ерджанова С.С. 41

DIABETES – TRANSMITTING VIOLATIONS OF THE PROTEINACEOUS EXCHANGE
Mukhamedzhanov E.K., Esyrev O.V., Erdzhanova S.S. 42

БИОМЕДИЦИНСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ОЦЕНКИ ЭКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ СИТУАЦИЙ, СВЯЗАННЫХ С СУПЕРЭКОТОКСИКАНТАМИ: ПРОБЛЕМА ДИОКСИН
Румак В.С., Умнова Н.В.. 43

BIOMEDICAL PARAMETERS FOR ASSESSMENT OF ECOTOXICOLOGICAL SITUATIONS ASSOCIATED WITH SUPERECOTOXICANTS: DIOXIN PROBLEM
Roumak V.S., Umnova N.V. 44

НАНОЧАСТИЦЫ ОКСИДА ЖЕЛЕЗА, ЗАГРУЖЕННЫЕ ДОКСОРУБИЦИНОМ, ДЛЯ ТЕРАПИИ И ДИАГНОСТИКИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ
Семкина А.С., Абакумов М.А., Габашвили А.Н., Мельников П.А., Гриненко Н.Ф., Нуколова Н.В., Кабанов А.В., Чехонин В.П. 44

DOXORUBICIN-LOADED IRON OXIDE NANOPARTICLES FOR TUMOR THERAPY AND IMAGING
Semkina A.S., Abakumov M.A., Gabashvili A.N., Melnikov P.A., Grinenko N.F., Nukolova N.V., Kabanov A.V., Chekhonin V.P.. 45

ЭВОЛЮЦИЯ ВЗГЛЯДОВ НА МАТЕРИАЛЫ, ПРЕДНАЗНАЧЕННЫЕ ДЛЯ ЗАМЕЩЕНИЯ КОСТНО-ХРЯЩЕВЫХ ДЕФЕКТОВ
Сергеева Н.С., Комлев В.С., Баринов С.М., Свиридова И.К., Кирсанова В.А., Шанский Я.Д., Федотов А.Ю.. 46

EVOLUTION OF VIEWS ON MATERIALS FOR BONE AND CARTILAGE DEFECTS REPLACEMENT
Sergeeva N.S., Komlev V.S., Barinov S.M., Sviridova I.K., Kirsanova V.A., Shansky Ja.D., Fedotov A.Yu. 47

ДЕТЕКЦИЯ БЕЛКА D-NFATC1 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ С ПОМОЩЬЮ НАНОПРОВОЛОЧНОГО БИОСЕНСОРА С АПТАМЕРНЫМИ ЗОНДАМИ
Шумов И.Д., Иванов Ю.Д., Плешакова Т.О., Козлов А.Ф., Мальсагова К.А., Крохин Н. В., Кайшева А.Л., Попов В.П., Наумова О.В., Асеев А.Л., Латышев А. В., Татур В.Ю., Арчаков А.И. 48

NANOWIRE DETECTION OF D-NFATC1 PROTEIN IN THE SERUM USIND APTAMER PROBES
Shumov I.D., Ivanov Yu. D., Pleshakova T.O., Kozlov A.F., Malsagova K.A., Krohin N. V. Kaysheva A.L., Popov V.P., Naumova O.V., Aseev A.L., Latyshev A. V., Tatur V. Yu., Archakov A.I. 49

РЕГУЛЯЦИЯ ЭНДОГЕННЫХ СТВОЛОВЫХ И ПРОГЕНИТОРНЫХ КЛЕТОК – НОВЫЙ ПОДХОД В ЛЕЧЕНИИ ДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ
Дыгай А.М., Скурихин Е.Г., Першина О.В., Ермакова Н.Н., Хмелевская Е.С., Крупин В.А., Степанова И.Э. 49

REGULATION OF ENDOGENOUS STEM AND PROGENITOR CELLS: A NEW APPROACH FOR TREATMENT OF DEGENERATIVE DISEASES
Dygai A.M., Skurikhin E.G., Pershina O.V., Ermakova N.N., Khmelevskaya E.S., Krupin V.A., Stepanova I.E.. 50

ОЦЕНКА ЭФФЕКТОВ ДЕЙСТВИЯ СЕРЕБРОСОДЕРЖАЩЕГО НАНОБИОКОМПОЗИТА НА ОСНОВЕ ПРИРОДНОЙ ПОЛИМЕРНОЙ МАТРИЦЫ
Соседова Л.М., Титов Е.А., Новиков М.А. 51

EVALUATION OF THE EFFECTS SILVER-NANOBIOCOMPOSITES BASED ON NATURAL POLYMER MATRIX
L.M. Sosedova, E.A. Titov, M.A. Novikov 52

ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЯ И ПАТОГЕННОЙ АГРЕГАЦИИ БЕТА-АМИЛОИДА
Супрун Е.В., Хмелёва С.А., Радько С.П., Арчаков А.И., Шумянцева В.В. 52

ELECTROCHEMICAL ANALYSIS OF ALZHGEIMER'S BETA-AMYLOID COMPLEXING AND PATHOGENIC AGGREGATION
Suprun E.V., Khmeleva S.A., Radko S.P., Archakov A.I., Shumyantseva V.V. 53

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ЛИПОСОМ, НЕСУЩИХ УГЛЕВОДНЫЙ ЛИГАНД СЕЛЕКТИНОВ, С ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ СОСУДОВ КРОВИ
Водовозова Е.Л., Алексеева А.С., Кузнецова Н.Р., Бовин Н.В., Щегловитова О.Н., Степанова Е.В. 54

INTERACTIONS OF ANTITUMOR LIPOSOMES BEARING A CARBOHYDRATE SELECTIN LIGAND WITH VASCULAR ENDOTHELIAL CELLS
Vodovozova E.L., Alekseeva A.S., Kuznetsova N.R., Bovin N.V., Shcheglovitova O.N., Stepanova E.V. 54

ПОИСК МАРКЁРОВ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ CD^{2+} И CU^{2+}МЕТОДОМ ПРОТЕОМНОГО ПРОФИЛИРОВАНИЯ ПЕЧЕНИ И СЕРДЦА DANIO RERIO
Золотарёв К.В., Беляева Н.Ф., Михайлова М.В., Каширцева В.Н., Наход К.В., Наход В.И., Згода В.Г. 55

SEARCHING FOR MARKERS OF CD^{2+} AND CU^{2+}TOXIC ACTION USING PROTEOMIC PROFILING OF DANIO RERIO LIVER AND HEART
Konstantin V. Zolotarev, Natalya F. Belyaeva, Marina V. Mikhailova, Valentina N. Kashirtseva, Kirill V. Nakhod, Valeriya I. Nakhod, Victor G. Zgoda. 57

ПОСТЕРЫ
POSTERS

ВЛИЯНИЕ РЕГУЛЯТОРА РОСТА РАСТЕНИЙ МЕЛАФЕНА НА МЕМБРАННЫЕ БЕЛКИ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ
Алексеева О.М., Фаткуллина Л.Д., Ким Ю.А. 59

THE PLANT GOWTH REGULATOR – MELAFEN, INFLUENCE TO THE ANIMAL MEMBRANE BOUNDED PROTEINS
O.M. Alekseeva, L.D. Fatkullina, Yu.A. Kim 60

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА АРЕНИЦИНА-2 НА АКТИВНОСТЬ КОНВЕНЦИАЛЬНЫХ АНТИБИОТИКОВ ПРИ ИХ СОВМЕСТНОМ ПРИМЕНЕНИИ
Болосов И.А., Калашников А.А., Пантелеев П.В., Овчинникова Т.В. 60

STUDY OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF CERTAIN COMBINATIONS OF THE PEPTIDE ARENICIN-2 WITH CONVENTIONAL ANTIBIOTICS
Bolosov I.A., Kalashnikov A.A., Panteleev P.V., Ovchinnikova T.V.. 62

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО ПОЛЯ НА ХАРАКТЕРИСТИКИ РАСТВОРА КВАНТОВЫХ ТОЧЕК
Жаркова И.С., Дрозд Д.Д., Панкратов В.А., Соболев А.М., Маркина Н.Е., Маркин А.В., Горячева И.Ю. 63

THE EFFECT OF ELECTRIC FIELD ON THE CHARACTERISTICS OF QUANTUM DOTS SOLUTION
Zharkova I.S., Drozd D.D., Pankratov V.A., Sobolev A.M., Markina N.E., Markin A.V., Goryacheva I.Yu.. 63

ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРЫ БЕТА-ЛАКТАМАЗ И МЕХАНИЗМОВ РЕГУЛЯЦИИ ИХ АКТИВНОСТИ
Григоренко В.Г., Андреева И.П., Рубцова М.Ю., Егоров А.М., Daria Beshnova, Victor Lamzin 64

STRUCTURAL STUDIES OF REGULATION OF BETA-LACTAMASE ACTIVITY
Grigorenko V.G., Andreeva I.P., Rubtsova M.Yu., Egorov A.M., Beshnova D.A., Lamzin V.S. . . 65

РАЗРАБОТКА БИОЧИПА ДЛЯ ПОЛУКОЛИЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКИ мРНК УЧАСТНИКОВ ВНУТРЕННЕГО И ВНЕШНЕГО ПУТЕЙ АПОПТОЗА
Князев Д.И., Старикова В.Д., Сахарнов Н.А., Солнцев Л.А., Уткин О.В. 65

MICRO ARRAY FOR SEMIQUANTITATIVE EVALUATION mRNA ENCODING PROTEINSINVOLVEDINEXTRINSICANDINTRINSICAPOPTOTIC PATH WAYS
KnyazevD.I., StarikovaV.D., SakharnovN.A., SolntcevL.A., UtkinO.V. 66

НАПРАВЛЕННАЯ ДОСТАВКА ЛИПОСОМАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ
Колоскова О.О., Себякин Ю.Л.. 67

TARGETED DELIVERY OF LIPOSOMAL DRUGS
Koloskova O.O., Sebyakin Y.L. 68

СРАВНЕНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ АРЕНИЦИНА, ГОМЕЗИНА И ТАХИПЛЕЗИНА
Кузьмин Д.В., Емельянова А.А., Калашникова М.Б., Пантелеев П.В., Баландин С.В., Овчинникова Т.В. 68

COMPARATIVE EVALUATION OF CYTOTOXIC ACTIVITY OF ANTIMICROBIAL PEPTIDES ARENICIN, GOMESIN AND TACHYPLESIN
Kuzmin D.V., Emel'yanova A.A., Kalashnikova M.B., Panteleev P.V., Balandin S.V., Ovchinnikova T.V. 69

МАСШТАБИРОВАНИЕ ПРОИЗВОДСТВА ПСЕВДОВИРУСНОГО ВЕКТОРА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ С ЦЕЛЬЮ ПРОВЕДЕНИЯ ДОКЛИНИЧЕСКИХ И КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ
Веселова К.М., Омельченко Д.О., Урусов Ф.А., Богословская Е.В., Глазкова Д.В.. 70

SCALING UP PRODUCTION OF PSEUDOVIRAL VECTOR FOR ANTI-HIV GENE THERAPY AIMED FOR CONDUCTING PRE-CLINICAL AND CLINICAL TRIALS
Veselova K.M., Omelchenko D.O., Urusov F.A., Bogoslovskaya E.V., Glazkova D.V. 70

МЕТАЛЛСВЯЗЫВАЮЩИЕ СВОЙСТВА N-КОНЦЕВОГО ДОМЕНА БЕЛКА CTR1 (NdCTR1)
Орлов Ю.А., Санькова Т.П., Пучкова Л.В. 71

METALBINDING PROPERTIES OF CTR1 N-TERMINAL DOMAIN (NdCTR1).
Orlov Y.A., Sankova T.P., Puchkova L.V. 72

ВЛИЯНИЕ КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ ОТ ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ КЛЕТОК НА ВОССТАНОВЛЕНИЕ НЕКУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТОК ПРОБИОТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ
Пахомов Ю.Д., Бердюгина О.С., Блинкова Л.П. 73

INFLUENCE OF CULTURE LIQUID FROM EUKARYOTIC CULTURESCELLS ON RESUSCITATION OF VBNC PROBIOTIC BACTERIA
Yu.D. Pakhomov, O.S. Berdyugina, L.P. Blinkova 74

ИЗУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ ГИДРОФИЛЬНЫХ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК
Панкратов В.А., Гайнбух А.В., Гофтман В.В., Горячева И.Ю. 75

STABILITY INVESTIGATION OF HYDROPHILIC QUANTUM DOTS
Pankratov V.A., Gainbuch A.V., Goftman V.V., GoryachevaI.Yu. 76

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ АНАЛОГА АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА ТАХИПЛЕЗИНА С ПОВЫШЕННОЙ СТАБИЛЬНОСТЬЮ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ
Пантелеев П.В., Иванова Ю.Д., Овчинникова Т.В. 77

BIOTECHNOLOGICAL PRODUCTION OF ANTIMICROBIAL PEPTIDE TACHYPLESIN ANALOG WITH HIGH STABILITY IN SERUM
Panteleev P.V., Ivanova Yu.D., Ovchinnikova T.V. 78

ДИЗАЙН И СИНТЕЗ КОМПОНЕНТОВ ЛИПОСОМ ПРОЛОНГИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ С ДИСУЛЬФИДНЫМ РАЗРЫВАЮЩИМСЯ ЛИНКЕРОМ
Сарычев Г.А., Буданова У.А., Себякин Ю.Л. 79

DISIGHN AND SINTHESIS OF LIPOSOME'S COMPONENTS FOR LONG-ACTION WITH DISULFIDE CLEAVEBLE LINKER
Sarychev G.A., Budanova U.A., Sebyakin Y.L.. 80

ПОЯВЛЕНИЕ УПОРЯДОЧЕННОСТИ МЕМБРАН В ЛИПОСОМАХ ПОД ДЕЙСТВИЕМ НАНОДИСПЕРСНОГО ПОРОШКА ЖЕЛЕЗА
Шаталова О.В., Фаткуллина Л.Д., Кривандин А.В., Голощапов А.Н., Бурлакова Е.Б. 80

ARISING OF MEMBRANE ORDERING IN LIPOSOMES UNDER THE ACTION OF NANODISPERSED IRON POWDER
O.V. Shatalova, L.D. Fatkullina, A.V. Krivandin, A.N. Goloschapov, E.B. Burlakova. 81

ТЕТРАМЕРНЫЙ БЕЛОК, СПОСОБНЫЙ К СЕЛЕКТИВНОМУ УЗНАВАНИЮ КЛЕТОК МЕЛАНОМЫ ЧЕЛОВЕКА
Сыркина М.С.*, Рубцов М.А., Вейко В.П. 82

RGD-MODIFIED STREPTAVIDIN SELECTIVELY BINDS TO AND INHIBITS GROWTH OF CANCER CELLS
Syrkina M.S.*, Rubtsov M.A., Veiko V.P. 83

ПОЛУЧЕНИЕ АКТИВНОГО ПОСЕВНОГО МАТЕРИАЛА *STREPTOMYCES LAVENDULAE* **С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЛАБОРАТОРНОГО ШЕЙКЕРА CERTOMAT®**
Умнова О.А., Булдакова Т.В., Колодязная В.А., Яковлева Е.П. 84

THE PRODUCTION ACTIVE INOCULUM STREPTOMYCES LAVENDULAE USING LABORATORY SHAKER CERTOMAT®
Umnova O.A., Buldakova T.V., Kolodyaznaya V.A., Jakovleva E.P. 85

ДЕНДРИМЕРОПОДОБНЫЕ НЕОГЛИКОКОНЪЮГАТЫ С ОСТАТКАМИ α-D-МАННОЗЫ ДЛЯ ИНГИБИРОВАНИЯ АДГЕЗИИ ЛЕКТИНОВ FimH
Щелик И.С., Шуина Е.Д., Шепелевич В. В., Магасумова А.И., Гостёнин В.Б., Курочкина Н.А., Себякин Ю.Л. 86

ANALOGUES OF DENDRIMERIC NEOGLYCOCONJUGATES WITH α-D-MANNOSE RESIDUES FOR INHIBITION LECTIN FimH ADHESION
Shchelik I.S., Shuina E.D., Shepelevich V.V., Magasumova A.I., Gostenin V.B., Kurochkina N.A., Sebyakin U.L. 87

МИКРО РНК ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ОПУХОЛЕВОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ ЭКСПРЕССИИ ТРАНСГЕНА ПРИ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ
Шепелев М.В., Вихрева П.Н., Коробко И.В. 87

MICRO RNAs AS A TOOL TO PROVIDE TUMOR-SPECIFIC TRANSGENE EXPRESSION FOR CANCER GENE THERAPY
Shepelev M.V., Vikhreva P.N., Korobko I.V. 88

НЕЙРИТ-ИНГИБИРУЮЩИЙ ЭФФЕКТ ПЛАЗМЫ КРОВИ БОЛЬНЫХ СПИНАЛЬНОЙ МЫШЕЧНОЙ АТРОФИЕЙ
Соколова М.Г., Пеннияйнен В.А. 89

NEURIT-INHIBITORY EFFECT OF BLOOD PLASMA OF PATIENTS WITH SPINAL MUSCULAR ATROPHY
Sokolova M.G., Penniyaynen V.A.[2] 90

ХИТОПЭГИЛИРОВАНИЕ КАК НОВЫЙ ПОДХОД К УЛУЧШЕНИЮ КАТАЛИТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ И ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ СВОЙСТВ L-АСПАРАГИНАЗЫ *ERWINIA CAROTOVORA*
Суховерков К.В., Соколов Н.Н., Абакумова О.Ю., Кудряшова Е.В. 91

CHITOPEGYLATION – A NEW APPROACH FOR IMPROVEMENT OF BIOCATALYTIC AND ANTITUMOR PROPERTIES OF L-ASPARAGINASE FROM *ERWINIA CAROTOVORA*
Sukhoverkov K.V., Sokolov N.N., Abakumova O.J., Kudryashova E.V. 92

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОСУДОРОЖНОЙ ТЕРАПИИ НА КОГНИТИВНЫЕ ФУНКЦИИ КРЫС ПРИ ДЕПРЕССИВНО-ПОДОБНОМ РАССТРОЙСТВЕ
Ушакова В.М., Морозова А.Ю., Зубков Е.А., Юсубалиева Г.М., Иноземцев А.Н., Чехонин В.П.. 93

THE EFFECT OF ELECTROCONVULSIVE THERAPY ON COGNITIVE FUNCTION IN RATS WITH DEPRESSIVE-LIKE DISORDER
V.M. Ushakova, A.U. Morozova, E.A. Zubkov, G.M. Yusubalieva, A.N. Inozemtsev, V.P. Chekhonin 94

ВЫДЕЛЕНИЕ, СТРУКТУРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ФУКОЗИЛИРОВАННЫХ ХОНДРОИТИНСУЛЬФАТОВ ИЗ ДВУХ ВИДОВ МОРСКИХ ОГУРЦОВ
Устюжанина Н.Е., Билан М.И., Усов А.И., Нифантьев Н.Э. 94

ISOLATION, STRUCTURAL CHARACTERIZATION AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF FUCOSYLATEDCHONDROITINSULFATES FROM TWO SPECIES OF SEA CUCUMBERS
UstyuzhaninaN.E., Bilan M.I., Usov A.I., Nifantiev N.E. 95

НОВЫЙ ГИБРИДНЫЙ ОПУХОЛЬ-СПЕЦИФИЧЕСКИЙ ПРОМОТОР ДЛЯ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ РАКА
Вихрева П.Н., Шепелев М.В., Коробко И.В. 96

NEW HYBRID TUMOR-SPECIFIC PROMOTER FOR CANCER GENE THERAPY
Vikhreva P.N., Shepelev M.V., Korobko I.V.. 97

ПРИМЕНЕНИЕ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ ДЛЯ ДОСТАВКИ И УПРАВЛЯЕМОГО ВЫСВОБОЖДЕНИЯ ЛЕКАРСТВ
Власова К.Ю., Абакумов М.А., Вишварсао Х., Сокольски М., Нуколова Н.В., Мажуга А.Г., Головин Ю.И., Клячко Н.Л., Кабанов А.В. 98

APPLICATION OF MAGNETIC NANOPARTICLES FOR CONTROLLED DELIVERY OF DRUGS
Vlasova K.Yu, Abakumov M.A., Wishwarsao H., Sokolsky M., Nukolova N.V., Majouga A.G., Golovin Y.I., Klyachko N.L., Kabanov A.V. 99

СТРУКТУРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ЛИЗОЦИМА С КАППА КАРРАГИНАНОМ
Журавлева И.Л., Антонов Ю.А. 99

STRUCTURAL INVESTIGATION OF THE INTERACTION OF LYSOZYME WITH KAPPA CARRAGEENAN
I.L.Zhuravleva, Y.A.Antonov 100

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО АНАЛОГА БЕТА-ШПИЛЕЧНОГО АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА ТАНАТИНА
Баландин С.В., Пантелеев П.В., Шереметьева Э.В., Овчинникова Т.В. 101

PRODUCTION OF THE RECOMBINANT ANALOG OF BETA-HAIRPIN ANTIMICROBIAL PEPTIDE THANATIN
Balandin S.V.*, Panteleev P.V., Sheremeteva E.V., Ovchinnikova T.V. 102

ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ ЛИПОСОМ, МОДИФИЦИРОВАННЫХ РАЗВЕТВЛЁННЫМИ ГЛИКОКОНЪЮГАТАМИ
Буданова У.А., Стрижевская Д.А., Гурьева Л.Ю., Щелик И.С., Себякин Ю.Л. 102

STUDY PROPERTIES OF LIPOSOME MODIFIED WITH BRANCHED GLYCOCONJUGATES
Budanova U.A., Strijevskaja D.A., Gur'eva L.Yu, Shchelik I.S., Sebyakin Yu.L. 103

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ПРОЦЕДУРЫ ГЕМОДИАЛИЗА ДЛЯ ПАЦИЕНТОВ С ИНСУЛИНОЗАВИСИМЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ
Быковская Е.Ю., Жуковская В.А., Жуковский Ю.Г., Кузнецова Л.П., Никитина Е.Р., Сочилина Е.Е. 104

IMPROVEMENT OF PROCEDURE OF THE HEMODIALYSIS FOR PATIENTS WITH THE ACHRESTIC DIABETES
Bykovskaja E.Yu., Zhukovskaya V.A., Zhukovskij Yu.G., Kuznetsova L.P., Nikitina E.R., Sochilina E.E. 104

ВОССТАНОВИТЕЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ АРТРОСКОПИИ КОЛЕННОГО СУСТАВА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГИМНАСТИЧЕСКИХ БРУСЬЕВ
Быковская Е.Ю., Жуковская В.А., Жуковский Ю.Г., Кузнецова Л.П., Никитина Е.Р., Сочилина Е.Е. 105

REGENERATIVE THERAPY OF ARTHROSCOPIA A KNEE JOINT WITH USE OF GYMNASTIC BARS
Zhukovskaya V.A., Zhukovskiy Yu.G., Kuznetsova L.P., Nikitina E.R., Sochilina E.E., Bykovskaya E.Yu. 106

ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ДЦП-ДЕТЕЙ ПУТЕМ УЛУЧШЕНИЯ ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ИХ РОДИТЕЛЕЙ И ВОСПИТАТЕЛЕЙ
Быковская Е.Ю., Кузнецова Л.П., Никитина Е.Р., Сочилина Е.Е. 107

INCREASE OF EFFICIENCY OF TREATMENT ChCP-CHILDREN BY IMPROVEMENT OF A PSYCHOEMOTIONAL CONDITION OF THEIR PARENTS AND TUTORS
Bykovskaja E.Yu., Kuznetsova L.P., Nikitina E.R., Sochilina E.E. 109

ПРИМЕНЕНИЕ ФЕРМЕНТМИКРОТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ТРАНСАЦИЛАЗНОЙ И ГИДРОЛАЗНОЙ АКТИВНОСТИ В БЕЛОМ И СЕРОМ ВЕЩЕСТВЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС
Грибанов Г.А., Миняев М.В., Колдунов В.В.. 110

APPLICATION OF A ENZYMETHINLAYER CHROMATOGRAPHY FOR DETECTION OF TRANSACYLASE AND HYDROLASE ACTIVITY IN WHITE AND GRAY SUBSTANCE OF A BRAIN OF RATS
Gribanov G. A., Minyaev M.V., Koldunov V.V. 112

НЕЙРОПРОТЕКТИВНЫЙ ЭФФЕКТ КАРБАМИЛИРОВАННОГО ЭРИТРОПОЕТИНА И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ
Калинина Т.И., Черемных А.М., Юрин В.Л., Романова Г.А., Шакова Ф.М.. 113

THE NEUROPROTECTIVE EFFECT OF CARBAMYLATED ERYTHROPOIETIN AND ITS DERIVATES
Kalinina T.I., Cheremnych A.M., Yurin V.L., Romanova G.A., Shakova F.M. 114

НАСЛЕДСТВЕННАЯ «ТАЙВАНЬСКАЯ» МУТАЦИЯ D7H БЕТА-АМИЛОИДА ВЛИЯЕТ НА ЕГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С ИОНАМИ ЦИНКА И НЕЙРОТОКСИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА
Куликова А.А., Митькевич В.А., Кечко О.И., Мезенцев Ю.В., Иванов А.С., Козин С.А., Макаров А.А.. 115

FAMILIAL “TAIWANESE” D7H MUTATION OF AMYLOID BETA AFFECTS ITS INTERACTION WITH ZINC IONS AND NEUROTOXIC PROPERTIES
Kulikova A.A., Mitkevich V.A., Kechko O.I., Mezentsev Y.V., Ivanov A.S., Kozin S.A.,Makarov A.A.. 116

ВЛИЯНИЕ БИОФЛАВОНОИДОВ ЛОТОСА ОРЕХОНОСНОГО НА ФАГОЦИТАРНУЮ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛЛОВ
Ломтева Н.А., Кондратенко Е.И., Касимова С.К., Яковенкова Л.А., Кондратенко К.Н. 116

EFFECT OF NELUMBO NUCIFERA BIOFLAVONOIDS ON NEUTROPHILES PHAGOCYTIC ACTIVITY
Lomteva N.A., Kondratenko E.I., Kasimova S.K., Yakovenkova L.A., Kondratenko K.N. 117

СОЗДАНИЕ НАБОРА ЛИНЕАРИЗОВАННЫХ ВЕКТОРОВ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ РАСТВОРИМОСТИ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ
Радевич Д.С., Щеколова А.С., Рымко А.Н., Квач С.В., Зинченко А.И. 118

CONSTRUCTING A SET OF LINEARIZED VECTORS TO ENHANCE SOLUBILITY OF RECOMBINANT PROTEINS
Radevich D.S., Shchokolova A.S., Rymko A.N., Kvach S.V., Zinchenko A.I. 118

ЛИПОСОМАЛЬНЫЕ ФОРМЫ ЛИПОЕВОЙ КИСЛОТЫ: ПОЛУЧЕНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ НА АГРЕГАЦИЮ ТРОМБОЦИТОВ
Щелконогов В.А., Сорокоумова Г.М., Баранова О.А., Чеканов А.В., Бабушкин А.В., Клочкова А.В., Соловьева Э.Ю., Швец В.И. 119

LIPOSOMAL FORMS OF LIPOIC ACID: PREPARATION AND STUDYING OF EFFECT ON PLATELET AGGREGATION
Shchelkonogov V.A., Sorokoumova G.M., Baranova O.A., Chekanov A.V., Babushkin A.V., Klochkova A.V., Solovieva E.Yu.. Shvets V.I. 120

РАЗРАБОТКА НОВЫХ КОНЪЮГАТОВ ГЛИЦЕРОЛИПИДНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 3’-АЗИДО-3’-ДЕЗОКСИТИМИДИНА (AZT) И АМИНОКИСЛОТ
Шульга Н.В., Шастина Н.С. 121

DEVELOPMENT OF NEW CONJUGATES OF 3’-AZIDO-3’-DEOXYTHYMIDINE (AZT) GLYCEROLIPIDIC DERIVATIVES AND AMINO ACIDS
Shul’ga N.V., Shastina N.S. 121

СТРУКТУРА И ФУНКЦИЯ ФЕРМЕНТОВ БИОСИНТЕЗА И МЕТАБОЛИЗМА ХОЛЕСТЕРИНА И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ
Струшкевич Н.В., ГилепА.А., ПаркХ-В., Усанов С.А. 122

STRUCTURE AND FUNCTION OF ENZYMES FOR CHOLESTEROL DERIVATIVES BIOSYNTHESIS AND METABOLISM
Strushkevich N.V., Gilep A.A., Park HEE-WON, Usanov S.A. 123

СОЗДАНИЕ ШТАММА-ПРОДУЦЕНТА АНТИТЕЛА К ФАКТОРУ НЕКРОЗА ОПУХОЛИ АЛЬФА
Воронина Е.В., Серегин Ю.А., Литвинова Н.А., Швец В.И., Шукуров Р.Р. 123

DEVELOPMENT OF STRAIN-PRODUCING FOR GENERATION OF MONOCLONAL ANTIBODY TO TUMOR NECROSIS FACTOR ALFA
Voronina E.V., Seregin Y.A., Litvinova N.A., Shvetc V.I. Shukurov R.R. 125

РАЗРАБОТКА АКТИВНЫХ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ СУБСТАНЦИЙ НА ОСНОВЕ ГИБРИДНЫХ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ Е7-БТШ70
Жученко М.А., Гаврилова Н.А., Шамонов Н.А. 126

DEVELOPMENT OF ACTIVE PHARMACEUTICAL INGREDIENTS BASED ON HYBRID RECOMBINANT PROTEINS E7-HSP70
Zhuchenko M.A., Gavrilova N.A., Shamonov N.A. 126

РАЗРАБОТКА ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ВАКЦИНЫ, ПРЕДНАЗНАЧЕННОЙ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ АНОГЕНИТАЛЬНОЙ ОБЛАСТИ, ВЫЗВАННЫХ ВПЧ 16 И 18 ТИПОВ
Жученко М.А., Гаврилова Н.А., Кухаренко А.Е. 127

DEVELOPMENT OF THERAPEUTIC VACCINE FOR THE TREATMENT OF ANOGENITAL DISEASES CAUSED BY HPV TYPES 16 AND 18
Zhuchenko M.A., Gavrilova N.A., Kuharenko A.E. 127

СЕКЦИЯ «ИММУННАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ»

SECTION "IMMUNOBIOTECHNOLOGY"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НОВОГО ЛИПИД-ТРАНСПОРТИРУЮЩЕГО БЕЛКА ГОРОХА ***PISUM SATIVUM L.***
Богданов И.В., Финкина Е.И., Овчинникова Т.В. 128

STRUCTURAL, FUNCTIONAL, AND IMMUNOLOGICAL PROPERTIES OF A NOVEL LIPID TRANSFER PROTEIN FROM PEA ***PISUM SATIVUM L.***
Bogdanov I.V., Finkina E.I., Ovchinnikova T.V. 129

ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ДВУХ КАРДИОМАРКЕРОВ ДЛЯ ЭКСПРЕССНОЙ ДИАГНОСТИКИ ИНФАРКТА МИОКАРДА
Дзантиев Б.Б., Бызова Н.А., Жердев А.В., Венгеров Ю.Ю., Космынина Ю.С., Орешкина И.В., Гончарова А.Я., Розиев Р.А.. 130

IMMUNOCHROMATOGRAPHIC ASSAY OF TWO CARDIAC MARKERS FOR RAPID DIAGNOSIS OF MYOCARDIAL INFARCTION
Dzantiev B.B., Byzova N.A., Zherdev A.V., Vengerov Yu. Yu., Kosmynina Yu. S., Oreshkina I.V., Goncharova A. Ya., Roziev R.A. 131

ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЕ ***IN VITRO*** **КАК СПОСОБ СТАБИЛИЗАЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ**
Гасанов В.А., Шевалье А.Ф., Макаров Е.А., Иванов И.А. 132

GLYCOSYLATION ***IN VITRO*** **AS A METHOD FOR STABILIZING THE BIOACTIVITY OF RECOMBINANT PROTEINS**
Gasanov V.A., Chevalier A.F., Makarov E.A., Ivanov I.A. 133

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ БЕЛКА ТЕПЛОВОГО ШОКА 70 НА МОДЕЛЯХ ГЛИОБЛАСТОМ И МЕЛАНОМ
Ищенко А.М., Симбирцев А.С., Шевцов М.А., Маргулис Б.А. 133

STUDY OF ANTITUMOR ACTIVITIES OF HEAT SHOCK PROTEIN 70 IN ANIMAL MODELS OF GLIOMA AND MELANOMA TUMORS
Ischenko A.M., Simbirtsev A.S., Shevtsov M.A., Margulis B.A.. 134

ИММУНОДИАГНОСТИКА В ОЦЕНКЕ ОСТРОТЫ ПСИХОЗА ПРИ ЭНДОГЕННЫХ ПСИХИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ (ТЕХНОЛОГИЯ «НЕЙРО-ИММУНО-ТЕСТ»)
Клюшник Т.П., Зозуля С.А., Олейчик И.В., Борисова О.А. 135

IMMUNODIAGNOSTICS IN EVALUATION OF ACUTENESS OF PSYCHOSIS IN ENDOGENOUS MENTAL DISORDERS (TECHNOLOGY “NEURO-IMMUNE-TEST”)
Klushnik T.P., Zozulya S.A., Oleychik I.V., Borisova O.A.. 136

ИММУНОТРОПНЫЕ УГЛЕВОД-СОДЕРЖАЩИЕ ПРЕПАРАТЫ ИЗ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ
Львов В.Л., Апарин П.Г. 136

IMMUNOTROPIC CARBOHYDRATE CONTAINING PREPARATIONS FROM GRAM NEGATIVE MICROORGANISMS
L’vov V.L., Aparin P.G.. 137

ТЕРАПИЯ ВТОРИЧНЫХ ИММУНОДЕФИЦИТНЫХ СОСТОЯНИЙ РЕКОМБИНАНТНЫМ БЕЛКОМ, СОДЕРЖАЩИМ В СВОЕМ СОСТАВЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ МИЕЛОПЕПТИДОВ
Мартынов А.И., Степаненко Р.Н., Гасанов В.А., Шевалье А.Ф., Новикова Е.М.Козырева О.В., Петров Р.В. 138

THERAPY SECONDARY IMMUNODEFICIENCY RECOMBINANT PROTEIN, CONTAINING IN ITS COMPOSITION SEQUENCE MYELOPEPTIDES
Martynov A.I., Stepanenko R.N., Gasanov V.A., Chevalier A.F., Novikova E.M.Kozyreva O.V., Petrov R.V. 139

ЭНДОГЕННЫЕ АЛАРМИНЫ КАК ИСТОЧНИК НОВЫХ ИММУНОСТИМУЛИРУЮЩИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ
Пинегин Б.В., Пащенков М.В.Жмак М.Н., Мартынов А.И. 139

ENDOGENOUS ALARMINS AS A SOURCE OF NOVEL IMMUNOSTIMULATORY DRUGS
Pinegin B.V., Pashenkov M.V., Zhmak M.N., Martinov A.I. 140

ПОЛИМУРАМИЛ – НОВЫЙ ИММУНОСТИМУЛЯТОР МУРАМИЛПЕПТИДНОЙ ПРИРОДЫ
Пинегин Б.В., Пащенков М.В., Львов В.Л., Мартынов А.И. 140

POLYMYRAMYL: A NEW MUROPEPTIDE IMMUNOSTIMULANT
Pinegin B.V., Pashenkov M.V., Lvov V.L., Martynov A.I.. 141

ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ИНТЕРЛЕЙКИНА-7 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ВТОРИЧНЫХ ИММУНОДЕФИЦИТОВ
Петров А.В., Ищенко А.М., Александров Г.В., Симбирцев А.С. 142

PRECLINICAL STUDY OF DRUG BASED ON RECOMBINANT INTERLEUKIN-7 FOR TREATMENT OF SECONDARY IMMUNE DEFICIENCIES
Petrov A.V., Ischenko A.M., Alexandrov G.V., Simbirtsev A.S. 142

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ АНТИГЕНСПЕЦИФИЧЕСКИХ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ Т-ЛИМФОЦИТОВ
Сенников С.В., Кузнецова М.С., Шевченко Ю.А., Облеухова И.А., Лопатникова Ю.А. 143

DEVELOPMENT OF TECHNOLOGY FOROBTAINING ANTIGEN-SPECIFIC CYTOTOXIC T LYMPHOCYTES
Sennikov S.V., Kuznetsova M.S., Shevchenko J.A., Obleukhova I.A., LopatnikovaJ.A. 144

ЭКСПРЕССНАЯ СЕРОДИАГНОСТИКА ТУБЕРКУЛЕЗА НА ОСНОВЕ КОНЪЮГАТОВ НАНОЧАСТИЦ С АНТИГЕНОМ RV0934 MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS
Сотников Д.В., Бызова Н.А., Жердев А.В., Дзантиев Б.Б. 144

EXPRESS SERODIAGNOSIS OF TUBERCULOSIS BASED ON CONJUGATES OF NANOPARTICLES WITH RV0934 ANTIGEN OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS
Sotnikov D.V., Byzova N.A., Zherdev A.V., Dzantiev B.B.. 145

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ КОНЪЮГАТА СИНТЕТИЧЕСКОГО УГЛЕВОДНОГО ФРАГМЕНТА ОПУХОЛЕВОГО АНТИГЕНА-ГАНГЛИОЗИДА GM3 И БЕЛКА ГЕМОЦИАНИНА
Степаненко Р.Н., Козырева О.В., Новикова Е.М., ХатунцеваЕ.А., Цветков Ю.Е., Нифантьев Н.Э. 146

ANTITUMOR EFFECT OF THE CONJUGATE OF SYNTHETIC CARBOHYDRATE MOIETY OF THE TUMOR-ASSOCIATED GANGLIOSIDE GM3 WITH HEMOCYANIN
Stepanenko R.N., Kozyreva O.V., Novikova E.M.,, Khatuntseva E.A., TsvetkovYu.E., Nifant´ev N.E. 147

ПОСТЕРЫ
POSTERS

ОТРАБОТКА СИСТЕМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ И ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ
Филина А.Б., Власова А.В., Зубачева Д.О., Свитич О.А. 148

CREATION OF REAL–TIME PCR SYSTEMS FOR INVESTIGATION OF THE PATHOLOGIA OF THE IMMUNE SYSTEM AND THE ONCOLOGIC PROCESS
Filina A.B., Vlasova A.V., Zubachova D.O., Svitich O.A. 149

СИНТЕЗ ОЛИГОСАХАРИДНЫХ ФРАГМЕНТОВ МИКОАНТИГЕНОВ ДЛЯ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ГРИБКОВЫХ ПАТОГЕНОВ
Карелин А.А., Орехова М.В., Комарова Б.С., Цветков Ю.Е., Аргунов Д.А., Крылов В.Б., Гербст А.Г., Дмитренок А.С., Нифантьев Н.Э. 149

THE SYNTHESIS OF OLIGOSACCHARIDE FRAGMENTS OF MYCOANTYGENES FOR THE IMMUNOLOGICAL STUDIES OF FUNGAL PATHOGENES
Karelin A.A., Orekhova M.V., Komarova B.S., Tsvetkov Y.E., Argunov D.A., Krylov V.B., Gerbst A.G., Dmitrenok A.S., Nifantiev N.E. 150

ИММУНОБИОАДЪЮВАНТЫ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА ДЛЯ ВАКЦИН ПРОТИВ ГРИППА НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ
Хасанова Л.М., Каширина О.С., Черникова М.И., Ильина А.В., Варламов В.П., Васильев Ю.М. 151

CHITOSAN-BASED IMMUNOBIOADJUVANTS FOR NOVEL VACCINES AGAINST INFLUENZA
Khasanova L.M, Kashirina O.S., Chernikova M.I., Il'ina A.V., Varlamov V.P., Vasiliev Y.M. 152

СТРУКТУРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДИГЕТЕРОГЛИКАНА ИЗ БАКТЕРИЙ *ENTEROCOCCUS*
Крылов В.Б., Гербст А.Г., Дмитренок А.С., Шашков А.С., Нифантьев Н.Э 152

STRUCTURAL CHARACTERIZATION OF A DIHETEROGLYCAN OF *ENTEROCOCCUS*
Krylov V.B., Gerbst A.G., Dmitrenok A.S., Shashkov A.S., Nifantiev N.E 153

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА CRM197 ДЛЯ СОЗДАНИЯ КОНЬЮГИРОВАННЫХ ВАКЦИН
Лисицкая Л.А., Козырь А.В., Колесников А.В., Шемякин И.Г. 154

EFIICIENT PRODUCTION, REFOLDING, AND PURIFICATION OF CODON-OPTIMIZED SOLUBLE RECOMBINANT CRM197SUITABLE AS CARRIER PROTEIN FOR GLYCOCONJUGATE VACCINES
Lisitskaya L.A., KozyrA.V., Kolesnikov A.V., Shemyakin I.G.. 155

ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЛИПИД-ТРАНСПОРТИРУЮЩЕГО БЕЛКА УКРОПА
Мельникова Д.Н., Минеев К.С., Рычкова М.Е., Финкина Е.И., Богданов И.В., Арсеньев А.С., Овчинникова Т.В. 156

INVESTIGATION OF STRUCTURAL, FUNCTIONAL, AND IMMUNOLOGICAL PROPERTIES OF THE DILL LIPID TRANSFER PROTEIN
Melnikova D.N., Mineev K.S., Rychkova M.E., Finkina E.I., Bogdanov I.V., Arseniev A.S., Ovchinnikova T.V. 157

МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТИРЕОТРОПНОГО ГОРМОНА ЧЕЛОВЕКА
Порываева В.А., Агафонова О.А., Марченко А.К., Соболева Н.В., Сорокина Н.Н., Вторушина И.А., Рукавишников М.Ю. 158

MONOCLONAL ANTIBODIES FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF HUMAN THYROID STIMULATING HORMONE
Poryvaeva V.A., Agafonova O.A., Marchenko A.K., Soboleva N.V., Sorokina N.N., Vtorushina I.A., Rukavishnikov M.Yu. 159

МОДИФИЦИРУЮЩИЕ ПОКРЫТИЯ ПЬЕЗОЭЛЕКТРИЧЕСКИХ ИММУНОСЕНСОРОВ НА ОСНОВЕ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ АНТИТЕЛ
Русанова Т.Ю. 160

MODIFYING COATINGS FOR PIEZOELECTRIC IMMUNOSENSORS BASED ON IMMOBILIZED ANTIBODIES
Rusanova T.Yu. 161

ПРОТЕОЛИТИЧЕСКАЯ ЭЛЮЦИЯ, КАК ЭФФЕКТИВНЫЙ МЕТОД ПОДАВЛЕНИЯ КО-СЕЛЕКЦИИ АПТАМЕРОВ
Сафарян С.М., Козырь А.В., Колесников А.В., Шемякин И.Г. 162

PROTEOLYTIC ELUTION, AS AN EFFECTIVE METHOD OF SUPPRESSING CO-SELECTION OF APTAMERS
Sofia M.Safaryan, Arina V.Kozyr, Alexander V.Kolesnikov, Igor G.Shemyakin 163

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ИММУНОСТИМУЛИРУЮЩИХ НАНОКОМПЛЕКСОВ НА АКТИВНОСТЬ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА ПРОТИВ ВИРУСА ГРИППА НА МОДЕЛИ МЫШЕЙ
Алексюк П.Г., Зайцева И.А., Алексюк М.С., Молдаханов Е.С., Соколова Н.С., Богоявленский А.П., Березин В.Э. 164

STUDY OF THE INFLUENCE OF NANOCOMPLEXES ON THE IMMUNOSTIMULATORY ACTIVITY OF HUMORAL IMMUNITY AGAINST INFLUENZA VIRUSES ON MOUSE MODELS
Alexyuk P.G., Zaitseva I.A., Alexyuk M.S., Moldahanov E.S., Sokolova N.S., Bogoyavlenskyi A.P., Berezin V.E. 165

СРАВНЕНИЕ ПРОТИВОВИРУСНОГО ДЕЙСТВИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НУКЛЕИНОВОЙ ПРИРОДЫ
Квитко К.В., Агеевец В.А., Шабанова М.Е., Баурина М.М., Якубович Л.М., Васильева Е.Ф.165

COMPARISON OF ANTIVIRAL EFFECT OF DRUGES OF NUCLEIC NATURE
Kvitko K.V., Ageevets V.A., Shabanova M.E., Baurina M.M., Yakubovich L.M, Vasilyeva E.F . .167

КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ПРИ ОСТРОМ ГЕМОЛИТИКО-УРЕМИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ У ДЕТЕЙ
Бураковский А.И., Тишкевич М.Н., Байко С.В., Сукало А.В., Карпович М.В., Карпенко Т.А., Ястребова А.А.. 168

INTEGRATED ASSESSMENT OF IMMUNOLOGICAL MARKERS AT ACUTE HEMOLYTIC-UREMIC SYNDROME IN CHILDREN
Burakouski A.I., Tishkevich M.N., Baiko S.V., Sukalo A.V., Karpovich M.V., Karpenko T.A., Yastrebova A.A. 169

ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЛИПОПОЛИСАХАРИДА *SHIGELLA FLEXNERI 2A*
Лёдов В.А., Апарин П.Г. 169

CORRELATION BETWEEN STRUCTURES OF LIPOPOLYSACCHARIDE AND THE PYROGENICITY, FOR EXAMPLE LIPOPOLYSACCHARIDE *SHIGELLA FLEXNERI 2A*
Ledov V.A., Aparin P.G. 170

АНТИМИКРОБНЫЕ ПЕПТИДЫ КАК МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ФАКТОРЫ СИСТЕМЫ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА
Овчинникова Т.В. 171

ANTIMICROBIAL PEPTIDES AS EFFECTOR MOLECULES OF INNATE IMMUNE SYSTEM
T.V.Ovchinnikova 172

НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ЭКСПРЕСС-АНАЛИЗУ МАРКЕРОВ БАКТЕРИАЛЬНОГО ВОСПАЛЕНИЯ
Серебренникова К.В., Самсонова Ж.В., Осипов А.П. 173

NEW APPROACHES TO AN EXPRESSANALYSIS OF THE MARKERS OF BACTERIAL INFLAMMATION
Serebrennikova K.V., Samsonova J.V., Osipov A.P. 174

ИММУНОФЕРМЕНТНЫЙ АНАЛИЗ В ОПРЕДЕЛЕНИИ HER2 СТАТУСА ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ
Ястребова А.А., Бураковский А.И., Карпенко Т.А., Тишкевич М.Н., Карпович М.В., Прохорова В.И., Красный С.А., Шишло Л.М. 175

ENZYME IMMUNODETECTION IN HER2 STATUS DETERMINATION AT BREAST CANCER
Yastrabava H.A., Burakouski A.I., Karpenka T.A., Tsishkevich M.M., Karpovich M.V., Prokharava V.I., Krasnyy S.A., Shyshlo L.M. 176

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ РЕЛИЗ-АКТИВНЫХ ФОРМ АНТИТЕЛ К ИНТЕРФЕРОНУ-ГАММА МЕТОДОМ ИФА
Дон Е.С., Греченко В.В., Похил С.Э., Борщева А.А., Никифорова М.В., Тарасов С.А. 177

DEVELOPMENT THE ACTIVITY ASSAY FOR RELEASE-ACTIVE ANTIBODIES TO INTERFERON-GAMMA BY ELISA
Don E.S., Grechenko V.V., Pokhil S.E., Borshcheva A.A., Nikiforova M.V., Tarasov S.A. 177

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ ТРЕХ ИЗОФОРМ ЛИПИД-ТРАНСПОРТИРУЮЩЕГО БЕЛКА ЧЕЧЕВИЦЫ
Финкина Е.И., Богданов И.В., Стукачева Е.А., Мельникова Д.Н., Овчинникова Т.В. 178

COMPARATIVE STUDY OF THREE ISOFORMS OF THE LENTIL LIPID TRANSFER PROTEIN
Finkina E.I., Bogdanov I.V., Stukacheva E.A., Melnikova D.N., Ovchinnikova T.V. 179

КРУГЛЫЙ СТОЛ «БИОМЕДИЦИНСКИЕ СЕНСОРЫ И ТЕХНОЛОГИИ»

SEMINAR “BIOMEDICAL SENSORS AND TECHNOLOGIES”

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

УНИВЕРСАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИМПЛАНТИРУЕМЫЙ БИОСЕНСОР: РЕАЛЬНОСТЬ ИЛИ ФАНТАСТИКА?
Балякин А.А., Жулего В.Г., Кунина Г.Е., Рубцов В.П.. 181

UNIVERSAL MEDICAL IMPLANTABLE BIOSENSOR: DREAM OR REALITY?
Balyakin A.A., Zhulego V.G., Kunina G.E., Rubtsov V.P. 182

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ ЭНЕРГООБЕСПЕЧЕНИЯ МЕДИЦИНСКИХ ИМПЛАНТИРУЕМЫХ БИОСЕНСОРОВ
Балякин А.А., Малышев А.С., Тараненко С.Б. 182

CURRENT STATE OF ENERGY PROVIDING FOR MEDICAL IMPLANTABLE BIOSENSORS
Balyakin A.A., Malyshev A.S., Taranenko S.B.. 183

СОВМЕЩЕНИЕ ПОКАЗАНИЙ ТЕРМОСЕНСОРОВ ИМАТЕМАТИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ДЛЯ ОНЛАЙН-РАСЧЕТА ХОДА РОБОТ-АССИСТИРОВАННЫХ ОПЕРАЦИЙ
Бурков И.А., Жердев А.А., Савельева С.К., Шакуров А.В.. 184

COMBINATION OF THERMOSENSORS USAGE AND MATHEMATICAL MODELING FOR REAL TIME CALCULATION OF ROBOT-ASSISTED SURGERY
Burkov I.A., ZherdevA.A., Savelieva S.K., Shakurov A.V. 185

ПУТИ ПОВЫШЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ЭКСПРЕССНЫХ ИММУНОСЕНСОРНЫХ СИСТЕМ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ
Дзантиев Б.Б., Жердев А.В. 185

APPROACHES TO IMPROVE THE SENSITIVITY OF EXPRESS IMMUNOSENSORIC SYSTEMS FOR THE DETECTION OF BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS
Dzantiev B.B., Zherdev A.V.. 186

ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ БИОСЕНСОРНЫЕ СИСТЕМЫ: ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ
Шумянцева В.В., Булко Т.В., Супрун Е.В., Агафонова Л.Е., Кузиков А.В., Арчаков А.И. 187

ELECTROCHEMICAL BIOSENSOR SYSTEMS: DEVELOPMENT PROSPECTS
Shumyantseva V.V., Bulko T.V., Suprun E.V., Agafonova L.E., Kuzikov A.B., Archakov A.I. . . .187

ПРИМЕНЕНИЕ ИНВАЗИВНЫХ ТЕРМОСЕНСОРОВ ДЛЯ ПРОВЕРКИ ТЕПЛОФИЗИЧЕСКОГО РАСЧЕТА
Пушкарев А.В., Морозова Н.В., Цыганов Д.И. 188

THE USE OF INVASIVE THERMOSENSORS FOR CHECKING THERMOPHYSICAL CALCULATION
Pushkarev A.V., Morozova N.V., TsiganovD.I. 189

КЛЕТКА КАК БИОСЕНСОР В ДИАГНОСТИКЕ СОЦИАЛЬНО-ЗНАЧИМЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ
Василенко И.А., Метелин В.Б., Бельских Л.В., Насыров М.Р., Кузнецов А.Б., Беляков В.К., Агаджанян Б.Я. 189

CELL AS A BIOSENSOR FOR DIAGNOSIS OF SOCIALLY SIGNIFICANT DISEASES
Irina Vasilenko, VladislavMetelin, Leonid Belskih, Marat Nasyrov, AleksandrKuznetsov, Vladimir Belyakov, BeniaminAgadzhanian. 190

ПОСТЕРЫ
POSTERS

СИНТЕЗ НОВЫХ БИНАРНЫХ СИСТЕМ С ФОТОУПРАВЛЯЕМЫМИ СПЕКТРАЛЬНЫМИ СВОЙСТВАМИ
Мельникова И.А., Лукин А.Ю., Беликов Н.Е., Демина О.В., Левин П.П., Варфоломеев С.Д., Ходонов А.А.. 191

SYNTHESIS OF NEW BINARY SYSTEMS WITH PHOTODRIVEN SPECTRAL PROPERTIES
Melnikova I.A., Lukin A.Yu., Belikov N.E., Demina O.V., Levin P.P., Varfolomeev S.D., Khodonov A.A. 192

СЕКЦИЯ «БИОМАТЕРИАЛЫ И ИХ РОЛЬ В СОВРЕМЕННЫХ БИОТЕХНОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ»

SECTION "BIOMATERIALS AND THERIS FUNCTION IN THE MODERN BIOTECHNOLOGY AND MEDICINE"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

СТРУКТУРА БИОКОМПОЗИТОВ НА ОСНОВЕ ГЕЛЬ-ПЛЕНКИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ *GLUCONACETOBACTER XYLINUS* И НАНОКРИСТАЛЛОВ ГИДРОКСИАПАТИТА КАК ПЕРСПЕКТИВНЫХ ЗАМЕНИТЕЛЕЙ КОСТНОЙ ТКАНИ
Архарова Н.А., Северин А.В., Клечковская В.В., Хрипунов А.К. 193

STRUCTURE OF THE BIOCOMPOSITES BASED ON BACTERIAL CELLULOSE GEL-FILM *GLUCONACETOBACTER XYLINUS* AND HYDROXYAPATITE NANOPARTICLES AS PROMISING BONE SUBSTITUTE MATERIAL
Arkharova N.A., Severin A.V., Klechkovskaya V.V., Khripunov A.K.. 194

ПОЛИМЕРНЫЕ ГИДРОГЕЛИ ДЛЯ МЕДИЦИНЫ И БИОТЕХНОЛОГИИ
Артюхов А.А., Моргачева А.А., Штильман М.И. 194

POLYMERIC HYDROGELS FOR MEDICINE AND BIOTECHNOLOGY
Artyukhov A.A., Morgacheva A.A., Shtilman M.I. 195

МАКРОПОРИСТЫЕ ГИДРОГЕЛИ ПРОТИВ ТРАДИЦИОННЫХ ПЕРЕВЯЗОЧНЫХ СРЕДСТВ В ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКИХ РАН
Чудных С.М., Лесовой Д.Е. 196

MACROPOROUS HYDROGELS VERSUS CONVENTIONAL DRESSINGS IN THE TREATMENT OF CHRONIC WOUNDS
S.M. Chudnykh, D.E. Lisovyy 197

БИОНАНОМАТЕРИАЛЫ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ВЫЗЫВАЕМЫХ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*: СИНТЕЗ, ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА, ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ В МЕДИЦИНЕ
ФилатоваЛ. Ю., Клячко Н.Л., Кабанов А.В. 199

BIONANOMATERIALS FOR *STAPHYLOCOCCAL* INFECTIONS TREATMENT: SYNTHESIS, PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES, THE MEDICAL APPLICATIONS
FilatovaL. Y., KlyachkoN. L., KabanovA. V. 199

ВЫСОКОПОРИСТЫЕ ПОЛИМЕРНЫЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ МЕДИЦИНЫ И БИОТЕХНОЛОГИИ
Кильдеева Н.Р., Лозинский В.И. 200

HIGHLY POROUS POLYMERIC MATERIALS FOR MEDICINE AND BIOTECHNOLOGY
N.R.Kildeeva, V.I. Lozinsky 201

БИОДЕГРАДИРУЕМЫЕ ПРОТИВОСПАЕЧНЫЕ МЕМБРАНЫ, ОБЛАДАЮЩИЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫМ ЭФФЕКТОМ
Насонова М.В., Ходыревская Ю.И., Бураго А.Ю., Доронина Н.В., Ежов В.А., Кудрявцева Ю.А. 201

BIODEGRADABLE ANTI-ADHESION MEMBRANES WITH ANTI-INFLAMMATORY ACTION
M.V. Nasonova, Y.I. Khodyrevskaya, A.Yu. Burago, N.V. Doronina, V.A. Ezhov, Y.A. Kudryavtseva 202

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСПЛУАТАЦИОННЫХ СВОЙСТВ БИОМАТЕРИАЛОВ В ФОРМЕ ГУБОК, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В КАЧЕСТВЕ ПЕРЕВЯЗОЧНЫХ СРЕДСТВ
Легонькова О.А., Васильев В.Г., Асанова Л.Ю.. 203

INVESTIGATION OF OPERATIONAL PROPERTIES OF BIOMATERIALS IN THE FOAM FORM, USED AS WOUND DRESSINGS
Legonkova O.A., Vasil'ev V. G., Asanova L.Y. 204

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ БЕЗОПАСНОСТИ ДЛЯ РАЗРАБАТЫВАЕМЫХ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ ИЗ БИОМАТЕРИАЛОВ
Перова Н.В. 205

TOPICAL ISSUES (QUESTIONS) OF SAFETY FOR THE DEVELOPED MEDICAL DEVICESBASED ON BIOMATERIALS
Perova N.V., Sci. Biol. 205

СИНТЕЗ МОЛЕКУЛЯРНО ИМПРИНТИРОВАННЫХ ПОЛИМЕРНЫХ СОРБЕНТОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИИ
Полякова И.В., Осипенко А.А., Боровикова Л.Н., Ежова Н.М., Писарев О.А. 206

SYNTHESIS OF MOLECULARLY IMPRITNTED POLYMER SORBENTS FOR TREATING HYPERCHOLESTEROLIMIA
Polyakova I.V., Osipenko A.A., Borovikova L.N., Ezhova N.M., Pisarev O.A.. 207

БИОКОМПОЗИТЫ НА ОСНОВЕ КАЛЬЦИЙ ФОСФАТНЫХ ПОКРЫТИЙ, НАНОСТРУКТУРНЫХ И УЛЬТРАМЕЛКОЗЕРНИСТЫХ БИОИНЕРТНЫХ МЕТАЛЛОВ, ИХ БИОСОВМЕСТИМОСТЬ И БИОДЕГРАДАЦИЯ*
Псахье С.Г., Шаркеев Ю.П. 208

BIOCOMPOSITES ON THE BASE OF CALCIUM-PHOSPHATE COATINGS, NANOSTRUCTURED AND ULTRAFINE GRAINED BIOINERT METALS, THEIR BIOCOMPTABILITY AND BIODEGRADATION*
Psakhie S.G., Sharkeev Yu.P. 209

ПРИМЕНЕНИЕ КОМПОЗИЦИОННЫХ ПОЛИМЕРНЫХ ЧАСТИЦ ПРИ РАЗРАБОТКЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ТЕСТ-СИСТЕМ
Волкова Е.В., Гусев С.А., Грицкова И.А. 211

RASPBERRY-LIKE POLYMER PARTICLES AND THEIR APPLICATION TO DIAGNOSTIC ASSAYS
Volkova E.V., Gusev S.A., Gritskova I.A. 212

ПОСТЕРЫ
POSTERS

СТАБИЛИЗАЦИЯ ХИТОЗАНОМ И ЛИЗАТОМ КЛЕТОК *HALOBACTERIUM SP.* ПРОТЕИНАЗ ИЗ ГЕПАТОПАНКРЕАСА КРАБА, ИММОБИЛИЗОВАННЫХ НА ЦЕЛЛЮЛОЗНЫХ НОСИТЕЛЯХ
Досадина Э.Э., Каленов С.В., Белов А.А. 213

THE CHITOSAN AND HALOBACTERIUM CELL LYSATE STABILIZATION OF THE CRAB HEPATOPANCREATIC PROTEINASES IMMOBILIZED ON THE CELLULOSE CARRIERS
Dosadina E.E., Kalenov S.V., Belov A.A. 214

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СТЕПЕНИ ПЭГИЛИРОВАНИЯ БИОМАКРОМОЛЕКУЛ НА ОСНОВЕ ИК-СПЕКТРОСКОПИИ ФУРЬЕ
Дейген И.М., Кудряшова Е.В. 214

NEW APPROACH FOR PEGYLATION DEGREE ANALYSIS IN BIOMACROMOLECULES BY USING FTIR SPECTROSCOPY
Deygen I.M., Kudryashova E.V. 215

СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ НАНОАЭРОЗОЛЕЙ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ
Канев И.Л., Морозов В.Н. 216

A NEW METHOD FOR GENERATION OF NANOAEROSOLIZED DRUGS
Kanev I.L., Morozov V.N. 217

ИССЛЕДОВАНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК МИКРОДУГОВЫХ КАЛЬЦИЙФОСФАТНЫХ ПОКРЫТИЙ НА НИЗКОМОДУЛЬНОМ СПЛАВЕ Ti-40 мас.Nb
Комарова Е.Г., Шаркеев Ю.П., Чебодаева В.В., Толкачева Т.В. 218

INVESTIGATION OF PHYSICAL AND CHEMICAL CHARACTERISTICS OF MICRO-ARC COATINGS PUT ON LOW-MODULUS Ti-40 Mas.Nb ALLOY
Komarova E.G., Sharkeev Yu.P., Chebodaeva V.V., Tolkacheva T.V. 218

КРИОГЕЛИ НА ОСНОВЕ ПЕКТИНА И ХИТОЗАНА КАК ПРОТИВОСПАЕЧНЫЕ БАРЬЕРНЫЕ МАТЕРИАЛЫ
Коновалова М.В., Марков П.А., Никитина И.Р., Попов С.В., Курек Д.В., Варламов В.П. . . .219

PECTIN/CHITOSAN-BASED CRYOGELS ASANTIADHESION BARRIER MATERIALS
Konovalova M.V., Markov P.A., Nikitina I.R., Popov S.V., Kurek D.V., VarlamovV.P. 220

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ПОЛУЧЕНИЯ, ТЕМПЕРАТУРЫ И СРОКОВ ХРАНЕНИЯ НА ИЗМЕНЕНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНЫХ АКТИВНОСТЕЙ ГИДРОЛАЗ ИЗ ГЕПАТОПАНКРЕАСА КРАБА ИММОБИЛИЗОВАННЫХ НА ЦЕЛЛЮЛОЗНЫХ НОСИТЕЛЯХ
Кульметьева М.А., Дубовикова О.Э., Коротаева А.И., Досадина Э.Э., Аль Окби Хидаер Махмуд, Медушева Е.О., Белов А.А. 220

EFFECT OF PREPARATION CONDITIONS, TEMPERATURE AND PERIOD OF STORAGE TO CHANGE FROM ENZYMATICALLY ACTIVE HYDROLASE CRAB HEPATOPANCREAS IMMOBILIZED ON CELLULOSE CARRIERS
Kulmetieva M.A., Dosadina E.E., Dubovikova O.E., Korotaeva A.I., Okbi Hidaer Al Mahmoud, Medusheva E.O., Belov A.A. 221

СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ТОНКИХ ВЧ-МАГНЕТРОННЫХ БИОПОКРЫТИЙ НА ОСНОВЕ ФОСФАТОВ КАЛЬЦИЯ*
Куляшова К.С., Шаркеев Ю.П., Саинова А.Б, Gross K.A. 222

THE STRUCTURAL FEATURES OF THIN RF MAGNETRON BIOCOATING BASED ON CALCIUM PHOSPHATE*
Kulyashova K.S., Sharkeev Yu.P., Sainova A.B., Gross K.A. 223

ДЕТЕКЦИЯ НОЗОКОМИАЛЬНЫХ ПАТОГЕНОВ С ПОМОЩЬЮ ВОДОРАСТВОРИМЫХ НАНОФИЛЬТРОВ
Михеев А.Ю., Владимирский М.А., Морозов В.Н. 223

DETECTION OF NOSOCOMIAL PATHOGENS USING WATER-SOLUBLE NANOFILTERS
Mikheev A.Y., Vladimirsky M.A., Morozov V.N. 224

РАЗРАБОТКА И ПРОИЗВОДСТВО КОСМЕТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ НА ОСНОВЕ РЕКОМБИНАНТНОГО АНГИОГЕНИНА ЧЕЛОВЕКА
Пуртов А.А., Пылкова С.В., Мирошниченко С.М., Рамазанов Ю.А., Беклемишев А.Б. 225

DEVELOPMENT AND PRODUCTION OF COSMETIC BASED ON RECOMBINANT HUMAN ANGIOGENIN
Purtov A.A., Pylkova S.V., Miroshnichenko S.M., Ramazanov Yu.A., Beklemishev A.B. 226

ПЛЁНКА ИЗ КАРБОКСИМЕТИЛЦЕЛЛЮЛОЗЫ КАК СУБСТРАТ ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ МИКРОЧИПОВ, ОБЛАДАЮЩИЙ НИЗКОЙ АДГЕЗИЕЙ
Шляпников Ю.М., Морозов В.Н. 226

LOW-ADHESIVE CARBOXYMETHYL CELLULOSE FILM AS A MICROARRAY SUBSTRATE
Shlyapnikov Y.M., Morozov V.N. 227

СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА
Шведченко Д.О., Суворова Е.И. 228

STATISTICAL ANALYSIS OF SILVER NANOPRATICLES
D.O. Shvedchenko, E.I. Suvorova 229

ПОЛИМРНЫЕ СМЕСИ НА ОСНОВЕ БИОПОЛИМЕРА-ПОЛИЛАКТИДА И ПОЛИЭТИЛЕНА: СТРУКТУРА И СВОЙСТВА
Тертышная Ю.В., Подзорова М.В., Шибряева Л.С., Карпова С.Г. 230

COMPOSITIONS BASED ON BIOPOLYMER-POLILAKTIDE AND POLYETHYLENE: STRUCTURE AND PROPERTIES
Tertyshnaya Yu. V., Podzorova M.V., Shibryaeva L.S., Karpova S.G. 231

ВЫБОР БАЗОВОЙ ПОДЛОЖКИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В СИСТЕМЕ КЛЕТКА-ПОВЕРХНОСТЬ МЕТОДОМ ИЗМЕРЕНИЯ КОНТАКТНОЙ РАЗНОСТИ ПОТЕНЦИАЛОВ
Тявловский А.К., Цедик Л.В., Жарин А.Л., Антоневич Н.Г. 232

CHOICE OF THE BASIC SUBSTRATE FOR STUDYING OF INTERACTION IN SYSTEM THE CAGE-SURFACE BY METHOD OF MEASUREMENT OF THE CONTACT POTENTIAL DIFFERENCE
Tyavlovsky A.K., Tsedik L.V., Zharin A.L., Antonevich N.G. 233

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

ВОДОРАСТВОРИМЫЕ ФОРМЫ ХИТОЗАНА ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В МЕДИЦИНЕ И ВЕТЕРИНАРИИ
Албулов А.И., Самуйленко А.Я., Фролова М.А., Гринь А.В., Мурадян Ж.Ю., Немцев Д.С. 235

WATER-SOLUBLE FORMS OF CHITOSAN FOR USE IN MEDICINE AND VETERINARY MEDICINE
Albulov A.I., Samuyilenko A.J., Frolov, M. A., Grin, A. C., Muradyan J.Y., Germans, D. C. 236

ОЦЕНКА РЕГЕНЕРАЦИОННЫХ СПОСОБНОСТЕЙ ГИДРОГЕЛЕЙ И МИКРОГЕЛЕЙ НА ОСНОВЕ РЕКОМБИНАНТНОГО СПИДРОИНА
Белова М.С., Легонькова О.А., Савченкова И.П., Давыдова Л.И., Богуш В.Г. 236

ASSESSMENT OF REGENERATIVE CAPACITY OF HYDROGELS AND MICROGEL BASED ON RECOMBINANT SPIDROIN
Belova M.S., Legonkova O.A., Savchenkova I.P., Davudova L.I., BogushV. G. 237

ПОВЫШЕНИЕ РЕГЕНЕРАТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ КОСТНОГО КОЛЛАГЕНА И РЕКОМБИНАНТНОГО КОСТНОГО МОРФОГЕНЕТИЧЕСКОГО БЕЛКА ЧЕЛОВЕКА RHBMP-2
Громов А.В., Бартов М.С., Никитин К.Е., Савина Д.М., Соболева Л.А., Субботина М.С., Грунина Т.М., Семихин А.С., Карягина А.С., Лунин В.Г. 238

INCREASE OF REGENERATION CAPABILITY OF OSTEOPLASTIC MATERIALS BASED ON BONE COLLAGEN AND RECOMBINANT BONE MORPHOGENETIC PROTEIN-2 (RHBMP-2)
Gromov A.V., Bartov M.S., Soboleva L.A., Subbotina M.S., Grunina T.M., Karpova T.A., Mishina D.M., Nikitin K.E., Semikhin A.S., Galushkina Z.M., Sergienko O.V., Karyagina A.S., Lunin V.G. 239

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СПОСОБОВ СТЕРИЛИЗАЦИИ НА СВОЙСТВА БИО ДЕГРАДИРУЕМЫХ ГИДРОГЕЛЕЙ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ НА ОСНОВЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ ПАУТИНЫ
Коротаева А.И., Легонькова О.А., Винокурова Т.И., Давыдова Л.И., Богуш В.Г. 240

INVESTIGATION OF STERILIZATION METHODS INFLUENCE ON THE PROPERTIES OF HYDROGEL MEDICAL DEVICES BASED ON RECOMBINANT SPIDERWEB PROTEINS
Korotaeva A.I., LegonkovaO. A., VinokurovaT. I., Davudova L.I., BogushV. G. 241

НАНОРАЗМЕРНАЯ СИСТЕМА ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ АМФИФИЛЬНЫХ ПОЛИМЕРОВ ПОЛИ(N-ВИНИЛ-2-ПИРРОЛИДОНА)
Куликов П.П., Кусков А.Н., Лусс А.Л., Штильман М.И. 242

NANOSCALE TRANSPORT SYSTEM FOR DRUG DELIVERY BASED ON AMPHIPHILIC POLY(N-VINYL-2-PYRROLIDONE)
P.P. Kulikov, A.N. Kuskov, A.L. Luss, M.I. Shtilman 243

ИММОБИЛИЗАЦИЯ ТРОМБОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА НА АДГЕЗИВНЫХ СУБСТРАТАХ С ПОМОЩЬЮ ТИКАГРЕЛОРА
Макаров М.С., Хватов В.Б., Боровкова Н.В. 243

HUMAN PLATELET IMMOBILIZATION ON ADHESIVE SUBSTRATES, USING TIKAGRELOR
Makarov M.S., Khvatov V.B., Borovkova N.V. 244

ПОЛУЧЕНИЕ НАНОЧАСТИЦ, НАГРУЖЕННЫХ ИНСУЛИНОМ, ДЛЯ ПЕРОРАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВ
Журавлева Н.Н., Красноштанова А.А. 245

DEVELOPMENT OF INSULIN CONTAINING NANOPARTICLES FOR NEW ORAL DRUG DELIVERY SYSTEM
Zhuravleva N.N., Krasnoshtanova A.A. 246

МОДИФИКАЦИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ НАПОЛНИТЕЛЕЙ В АРМИРОВАННЫХ КОМПОЗИЦИОННЫХ МАТЕРИАЛАХ НА ОСНОВЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМЕРОВ
Зыкова А.К., Пантюхов П.В., Попов А.А. 247

MODIFICATION OF NATURAL FILLERS IN REINFORCED COMPOSITE MATERIALS ON SYNTHETIC POLYMERS BASIS
Zykova A.K., Pantyukhov P.V., Popov A.A. 248

СЕКЦИЯ «БИОИНФОРМАТИКА»

SECTION “BIOINFORMATICS”

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-КОМПЬЮТЕРНАЯ ИНЖЕНЕРИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПУТЕЙ ПРИ СОЗДАНИИ СУПЕРПРОДУЦЕНТОВ БАКТЕРИЙ И ДРОЖЖЕЙ
Акбердин И.Р., Котенко А.В., Розанов А.С., Колчанов Н.А., Пельтек С.Е. 249

EXPERIMENTAL-COMPUTATIONAL APPROACH TO CONSTRUCT BACTERIAL AND YEAST HYPERPRODUCERS
AkberdinI.R., KotenkoA.V., RozanovA.S., KolchanovN.A., PeltekS.E. 250

СИСТЕМНО-ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ В ПРОЦЕССЕ РАЗРАБОТКИ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ: ПРАКТИЧЕСКИЙ ОПЫТ СОТРУДНИЧЕСТВА С ВЕДУЩИМИ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИМИ КОМПАНИЯМИ
Демин О.В., Соколов В., Воронова В., Смирнов С., Степанов А., Демин О.О., Никитич А. 251

SYSTEMS PHARMACOLOGY MODELING IN DRUG RESEARCH AND DEVELOPMENT: PRACTICAL EXPERIENCE IN COLLABORATION WITH PHARMACEUTICAL COMPANIES
Demin O.V., Sokolov V., Voronova V., Smirnov S., Stepanov A., Demin O.O., Nikitich A. 252

КОМПЛЕКСЫ УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБОК С ПРОТИВООПУХОЛЕВЫМИ ПРЕПАРАТАМИ ДОКСОРУБИЦИНОМ И ПАКЛИТАКСЕЛЕМ
Дьячков Е.П., Дьячков П.Н. 252

COMPLEXES OF CARBON NANOTUBES WITH ANTITUMOR DRUGS DOXORUBICIN AND PACLITAXEL
Evgeny P. D'yachkov and Pavel N. D'yachkov 253

ТАГЕТИРОВАННАЯ ПРОТЕОМИКА: ВЫЯВЛЕНИЕ КАНДИДАТНЫХ СИГНАЛОВ ПЕПТИДА НА ГРУППЕ ХРОМАТОГРАММ
Филимонов А.Д.(м.н.с), Лисица А.В.(зам. дир., зав. лаб., член-корр. РАН 254

TARGETED PROTEOMICS: IDENTIFYING PEPTIDE CANDIDATE SIGNALS ON A GROUP OF CHROMATOGRAMS
Filimonov A.D.(Jr. Sci.), Lisitsa A.V.(Deputy Director, Head of Lab., Sci.). 255

ВЫЧИСЛИТЕЛЬНЫЕ ПОДХОДЫ К ИДЕНТИФИКАЦИИ АГРЕГАЦИОННЫХ САЙТОВ И ВОЗМОЖНЫХ МЕХАНИЗМОВ АМИЛОИДООБРАЗОВАНИЯ БЕЛКОВ
Галзитская О.В., Довидченко Н.В. 256

COMPUTATIONAL APPROACHES TO IDENTIFICATION OF AGGREGATION SITES AND THE POSIBLE MECHANISM OF PROTEINAMYLOID FORMATION
GalzitskayaO. V., Dovidchenko N.V. 257

ЭВОЛЮЦИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ГЕНОМОВ
Гельфанд М.С. 257

EVOLUTION OF BACTERIAL GENOMES
Gelfand M.S.. 258

ШАГАЮЩИЕ ПАССВЕИ, РАК И ЭВОЛЮЦИЯ
Кель А.Э. 258

"WALKING PATHWAYS", CANCER AND EVOLUTION
Kel A. 259

ШИРОКОМАСШТАБНЫЙ ПОИСК ПОТЕРЬ, ПРИОБРЕТЕНИЙ И НАРУШЕНИЙ СИНТЕНИИ ГЕНОВ У ПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ
Любецкий В.А., Рубанов Л.И., Байрамов А.В., Шандарин И.В., Иванова А.С., Русин Л.Ю., Зверков О.А., Селиверстов А.В., Зарайский А.Г. 259

A LARGE-SCALE SEARCH FOR GENE LOSSES, GAINS AND SYNTENIC REARRANGEMENTS IN VERTEBRATE ANIMALS
Lyubetsky V.A., Rubanov L.I., Bairamov A.V., Shandarin I.V., Ivanova A.S., Rusin L.Yu., Zverkov O.A., Seliverstov A.V., Zaraisky A.G. 260

ИССЛЕДОВАНИЕ МОДЕЛЕЙ ЭВОЛЮЦИИ ГЕНОМОВ ОДНОКЛЕТОЧНЫХ ОРГАНИЗМОВ ДЛЯ ПРОСТРАНСТВЕННО РАСПРЕДЕЛЁННЫХ ПОПУЛЯЦИЙ
Матушкин Ю.Г., КлименкоА.И., ЛашинС.А. 261

MODELS OF UNICELLULAR ORGANISMS' GENOME EVOLUTION IN SPATIALLY DISTRIBUTED POPULATIONS: A SIMULATION STUDY
MatushkinYu.G., KlimenkoA.I., Lashin S.A. 262

РЕШЕНИЕ ЗАДАЧ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ ГЕРОНТОЛОГИИ МЕТОДАМИ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ
Михальский А.И.. 262

SOLUTION OF FUNDAMENTAL GERONTOLOGY PROBLEMS USING MACHINE LEARNING METHODS
A.I. Michalski 263

ДИЗАЙН РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ. НОВЫЙ ПОДХОД
Некрасов А.Н., Зинченко А.А. 264

DESIGN OF RECOMBINANT PROTEINS. A NEW APPROACH
Alexei N. Nekrasov, Alexei A. Zinchenko. 264

COMPUTATIONAL BIOLOGY OF BLOOD: BASIC AND APPLIED ASPECTS
Panteleev M.A., Sveshnikova A.N., Nechipurenko D.Y., Belyaev A.V., Butylin A.A., Ataullakhanov F.I.. 265

КЛАСТЕРИЗАЦИЯ ПРОТЕИНКИНАЗ ЧЕЛОВЕКА НА ОСНОВЕ СЕЛЕКТИВНОСТИ СУБМИКРОМОЛЯРНЫХ ИНГИБИТОРОВ
Погодин П.В., Лагунин А.А., Иванов С.М., Вареница А.И., Шатская М.А., Шатинина С.З., Поройков В.В.. 265

CLUSTERIZATION OF HUMAN PROTEIN KINASES BASED ON SELECTIVITY OF SUB-MICROMOLAR INHIBITORS.
Pogodin P.V., Lagunin A.A., Ivanov S.M., Varenitsa A.I., Shatskaya M.A., Shatinina S.Z., Poroikov V.V. 266

БИОИНФОРМАЦИОННАЯ СИСТЕМА ПОЛИОМИКА
Шлихт А.Г., Краморенко Н.В.. 267

BIOINFORMATICS SYSTEM POLIOMIKA
Shlikht A.G., Kramorenko N.V.. 268

ИНГИБИТОРЫ ЦИТОХРОМА P450 17A1 И АНДРОГЕНОВОГО РЕЦЕПТОРА
Веселовский А.В. 268

INHIBITORS OF CYTOCHROME P450 AND ANDROGEN RECEPTOR
Veselovsky A.V. 269

НА ПУТИ К МАТЕМАТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ ОНТОГЕНЕЗА
Журавлев Ю.Н., Гузев М.А.Скурихин Е.Е. 270

TOWARDS THE MATHEMATICAL MODEL OF ONTOGENY
Yury N. Zhuravlev, Mikhail A. Guzev and Evgeny E. Skurikhin 271

ПОСТЕРЫ
POSTERS

О ВОЗМОЖНОСТИ СУЩЕСТВОВАНИЯ КОМПЛЕКСА МЕЖДУ БАКТЕРИАЛЬНЫМИ ЛЮЦИФЕРАЗАМИ И ФЛАВИН-ЗАВИСИМЫМИ ОКСИДОРЕДУКТАЗАМИ СВЕТЯЩИХСЯ БАКТЕРИЙ И *E.COLI*
Деева А.А., Темлякова Е.А., Сорокин А.А., Немцева Е.В., Кратасюк В.А. 272

ON EXISTENCE OF COMPLEX BETWEEN BACTERIAL LUCIFERASE AND FLAVIN-DEPENDENT OXIDOREDUCTASES FROM LUMINOUS BACTERIA AND *E.COLI*
DeevaA. A., Temlyakova E.A., SorokinA.A., Nemtseva E.V., Kratasyuk V.A. 273

ПРОГНОЗ ИНГИБИТОРНОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ ПРОТЕИНКИНАЗ НА ОСНОВЕ АМИНОКИСЛОТНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ
Карасев Д.А., Соболев Б.Н., Веселовский А.В., Лагунин А.А., Филимонов Д.А., Поройков В.В. 273

PREDICTION OF THE INHIBITOR SPECIFICITY TO PROTEIN KINASES BASED ON THE AMINO ACID SEQUENCES
Karasev D.A., SobolevB.N., VeselovskyA.V., LaguninA.A., FilimonovD.A., PoroikovV.V. 274

ГРАФОВАЯ БАЗА ДАННЫХ ПРОКАРИОТИЧЕСКИХ ОРГАНИЗМОВ
Рясик А.А., Темлякова Е.А., Сорокин А.А. 275

PROKARYOTIC ORGANISMS GRAPH DATA BASE
Ryasik A.A., Temlyakova E.A., Sorokin A.A. 276

СЕКЦИЯ «БИОТЕХНОЛОГИЯ И ПРОМЫШЛЕННОСТЬ»

SECTION “BIOTECHNOLOGY AND INDUSTRY”

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

АТМОСФЕРНАЯ СУБЛИМАЦИОННАЯ СУШКА КАК АЛЬТЕРНАТИВНЫЙ СПОСОБ ВЫСУШИВАНИЯ ТЕРМОЛАБИЛЬНЫХ ПЕРЕПАРАТОВ ДЛЯ МАЛЫХ ОБЪЕМОВ ПРОИЗВОДСТВА
Диденко А.А., Меньшутина Н.В. 277

ATMOSPHERIC FREEZE-DRYING AS AN ALTERNATIVE DRYING METHOD OF THERMOLABILE DRUGS FOR SMALL BATCHES
Didenko A.A., Menshutina N.V. 278

ИЗУЧЕНИЕ АНТИБИОТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ БАКТЕРИЙ – АССОЦИАНТОВ ПЛОДОВЫХ ТЕЛ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ
Ефименко Т.А. 279

STUDY OF ANTIBIOTIC PROPERTIES OF BACTERIA – ASSIOCIANTS ISOLATED FROM BASIDIOMYCETES FRUITING BODIES
Efimenko T.A. 280

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ МАКРОПОРИСТЫХ КРИОГЕЛЕЙ ПОЛИВИНИЛОВОГО СПИРТА
Лозинский В.И. 280

BIOTECHNOLOGICAL ASPECTS OF THE IMPLEMENTATION OF MACROPOROUS POLY(VINYL ALCOHOL) CRYOGELS
V.I. Lozinsky. 281

НОВЫЙ ВИРУСНЫЙ ВЕКТОР НА ОСНОВЕ ГЕНОМА ВИРУСА КУСТИСТОЙ КАРЛИКОВОСТИ ТОМАТОВ ДЛЯ ТРАНЗИЕНТНОЙ ЭКСПРЕССИИ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ В РАСТЕНИЯХ
Манабаева Ш.А., Абеуова Л.С., Макенова А.Т., ScholthofH.B., РаманкуловЕ.М. 282

NOVEL VIRAL VECTOR BASED ON THE GENOME OF TOMATO BUSHY STUNT VIRUS FOR TRANSIENT EXPRESSION OF RECOMBINANT PROTEINS IN PLANTS
Manabayeva S.A., Abeuova L.S., Makenova A.T., Scholthof H.B., Ramakulov E.M. 283

ИНОЗИТОЛ УСИЛИВАЕТ ПЕРЕХОД РЯДА ВИДОВ БАКТЕРИЙ В СОСТОЯНИЕ БИОПЛЕНКИ
Маркова Ю.А., Турская А.Л., Ульданова А.А., Степанов А.В., Верхотуров В.В. 283

INOSITOL AMPLIFYING TRANSITION OF SEVERAL BACTERIAL SPECIES IN A STATE OF THE BIOFILM
Markova Ju. A., Turskaya A.L., Uldanova A.A., Stepanov A.V., Verkhoturov V.V. 284

ГИБКАЯ СХЕМА ТЕХНОЛОГИИ ВЫДЕЛЕНИЯ И ОЧИСТКИ ПРОТЕИНАЗ ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО И ЖИВОТНОГО СЫРЬЯ
Омельянова А.П., Глазова Н.В. 285

FLEXIBLE SCHEME OF TECHNOLOGY OF ISOLATION AND PURIFICATION OF PROTEINASES FROM VEGETABLE AND ANIMAL MATERIALS
Omelyanova A.P., Glazova N.V. 285

ПОЛИМЕРНЫЕ СОРБЕНТЫ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ВЫСОКООЧИЩЕННЫХ ЛЕКАРСТВЕНЫХ СУБСТАНЦИЙ
Писарев О.А. 286

POLYMER SORBENTS FOR PRODUCTION FOR HIGLY PURIFIED DRUG SUBSTANCES
Pisarev O.A. 287

УНИВЕРСАЛЬНЫЕ ГАЗО-ВИХРЕВЫЕ БИОРЕАКТОРЫ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ-ОДИН ИЗ ЭФФЕКТИВНЫХ ИНСТРУМЕНТОВ УСКОРЕННОГО РАЗВИТИЯ ПРОМЫШЛЕННОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ
Рамазанов Ю.А.. 287

“ UNIVERSAL GAS-VORTEX BIOREACTOR NEW GENERATION IS ONE OF THE EFFECTIVE TOOLS FOR RAPID DEVELOPMENT OF INDUSTRIAL BIOTECHNOLOGY”
Ramazanov Y.A. 288

СЕМЕЙСТВО СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫХ ПЛАЗМИДНЫХ ВЕКТОРОВ ДЛЯ ЭКСПРЕССИИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ БЕЛКОВ В КЛЕТКАХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ
Воробьев И.И., Орлова Н.А., Ковнир С.В., Ходак Ю.А., Габибов А.Г., Скрябин К.Г.. 289

SPECIALIZED PLASMID VECTORS FOR EXPRESSION OF THERAPEUTIC PROTEINS IN MAMMALIAN CELL LINES
Vorobiev I.I., Orlova N.A., Kovnir S.V., Khodak Y.A., Gabibov A.G., Skryabin K.G. 290

ФРАКЦИОНИРОВАНИЕ ПРОДУКТОВ ГИДРОЛИЗА БЕТАЛАКТАМНЫХ АНТИБИОТИКОВ СОРБЦИОННЫМИ МЕТОДАМИ
Воронина Н.В., Котова Н.В., Глазова Н.В.. 291

FRACTIONATION OF THE PRODUCTS OF HYDROLYSIS OF BETA-LACTAM ANTIBIOTICS WITH USING SORPTION METHODS
Voronina N.V., Kotova N.V., Glasova N.V. 291

ПОСТЕРЫ
POSTERS

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА СУБСТАНЦИЙ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ РЕЛИЗ-АКТИВНЫХ АНТИТЕЛ МЕТОДОМ ИФА
Борщева А.А., Дон Е.С., Моногаров Г.В., Тарасов А.В., Никифорова М.В., Тарасов С.А. 293

ELISA FOR QUALITY CONTROL OF DRUG SUBSTANCES OF RELEASE-ACTIVE ANTIBODY PREPARATIONS
A.A. Borshcheva, E.S. Don, H.V. Monogarov, A.V. Tarasov, M.V. Nikiforova, S.A. Tarasov 293

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЛАКТОБАЦИЛЛ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ
Чижаева А.В., Дудикова Г.Н., Амангельды А.А., Велямов М.Т.. 294

MOLECULAR AND GENETIC ASSESSMENT OF LACTOBACILLI BY PRODUCTION OF PROBIOTIC PREPARATIONS
Chizhayeva A.V., Dudikova G.N., Amangeldi A.A., Velyamov M.T.. 295

КОБАЛЬТ-ЗАВИСИМАЯ ЭКСПРЕССИЯ – НОВЫЙ ТИП РЕГУЛЯЦИИ КАТАБОЛИТНЫХ ГЕНОВ В БАКТЕРИЯХ *RHODOCOCCUS*
Гречишникова Е.Г., Шемякина А.О., Лавров К.В., Герасимова Т.В., Яненко А.С. 295

COBALT DEPENDENT EXPRESSION – NOVEL TYPE OF GENE EXPRESSION REGULATION FOR CATABOLIC GENES IN *RHODOCOCCUS* BACTERIA
Grechishnikova E.G., Shemyakina A.O., Lavrov K.V., Gerasimova T.V., Yanenko A.S.. 297

РЕКОМБИНАНТНАЯ ТЕРМОСТАБИЛЬНАЯ ЛИПАЗА ИЗ THERMOMYCES LANUGINOSUS: ПОЛУЧЕНИЕ И БИОКАТАЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА
Беклемишев А.Б., Коваленко Г.А., Перминова Л.В., Мамаев А.Л., Пыхтина М.Б. 298

RECOMBINANT THERMOSTABLE LIPASE FROM THERMOMYCES LANUGINOSUS: PRODUCTION AND BIOCATALYTIC PROPERTIES
Beklemishev A.B., Kovalenko G.A., Perminova L.V., Mamaev A.L., Pykhtina M.B. 298

БИОСЕНСОР НА ОСНОВЕ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ПЕЧАТНЫХ ЭЛЕКТРОДОВ ДЛЯ МНОГОКОМПОНЕНТНОГО АНАЛИЗА ПОЛУПРОДУКТОВ БРОЖЕНИЯ
Каманин С.С., Арляпов В.А., Решетилов А.Н. 299

BIOSENSOR BASED ON MODIFIED SCREEN-PRINTED ELECTRODES FOR MULTICOMPONENT ANALYSIS OF SEMI-FERMENTED MASS
Kamanin S.S., Arlyapov V.A., Reshetilov A.N.. 300

ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ ГИДРОЛИЗ УГЛЕВОДОВ В СОСТАВЕ СОЕВОЙ МУКИ
Хабибулина Н.В., Красноштанова А.А., Полтева Е.Д. 301

ENZYMATIC HYDROLYSIS OF CARBOHYDRATES IN SOY FLOUR
Khabiboulina N.V., Krasnoshtanova A.A., Polteva E.D. 301

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГИДРОЛИЗАТОВ МУКИ ЗЕРНОВЫХ И ЗЕРНОБОБОВЫХ КУЛЬТУР ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЛАКТОБАКТЕРИЙ
Хромова Н.Ю., Кареткин Б.А., Грошева В.Д., Шакир И.В., Панфилов В.И. 302

HYDROLYSATES OF CEREAL AND PEA FLOUR FOR CULTIVATION OF LACTOBACILLI
Khromova N.Yu., Karetkin B.A., Grosheva V.D., Shakir I.V., Panfilov V.I. 303

ПРОДУКЦИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИНА ЧЕЛОВЕКА (рчАФП) В МЕТИЛОТРОФНЫХ ДРОЖЖАХ *PICHIA PASTORIS*
Морозкина Е.В., Вавилова Е.А., Зацепин С.С., Дудич И.В., Семенкова Л.Н., Беневоленский С.В.. 303

ENGINEERING OF THE METHYLOTROPHIC YEAST *PICHIA PASTORIS* PRODUCING RECOMBINANT HUMAN ALPHA-FETOPROTEIN
Morozkina E.V., Vavilova E.A., Zasepin S.S., Semenkova L.N., Dudich I.V., Benevolensky S.V. 304

МОДИФИКАЦИЯ ВНУТРЕННЕЙ ПОВЕРХНОСТИ ФОТОННО-КРИСТАЛЛИЧЕСКИХ ВОЛНОВОДОВ В РАЗРАБОТКЕ БИОСЕНСОРОВ
Пиденко С.А., Пиденко П.С., Бурмистрова Н.А., Горячева И.Ю. 305

VARIATIONS IN INNER SURFACE OF A PHOTONIC-CRYSTAL FIBERS DEVELOP BIOSENSORS
Pidenko S.A., Pidenko P.S., BurmistrovaN.A., Goryacheva I.Y. 305

НОВЫЕ МАКРОПОРИСТЫЕ БИОСОРБЕНТЫ НА ОСНОВЕ КРИОГЕЛЕЙ, СФОРМИРОВАННЫХ ИЗ СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА
Родионов И.А., Лозинский В.И., Александрова А.Е., Бакеева И.В. 306

NOVEL MACROPOROUS BIO-ABSORBENTS ON THE BASIS OF CRYOGELS PREPARED FROM SERUM ALBUMIN
I.A.Rodionov, V.I.Lozinsky, A.E.Alexandrova, I.V.Bakeeva 307

ПОЛУЧЕНИЕ ВЫСОКОАКТИВНОЙ ФОРМЫ РЕКОМБИНАНТНОЙ ТИРЕОПЕРОКСИДАЗЫ ЧЕЛОВЕКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БАКУЛОВИРУСНОЙ СИСТЕМЫ ЭКСПРЕССИИ
Шеметова Е.Б., Сорокин М.А., Иванов К.А., Плетнёв Д.Н., Некрасова Н.А., Бабкина И.Н., Данилюк Н.К., Рукавишников М.Ю. 308

HIGHLY ACTIVE RECOMBINANT HUMAN THYROID PEROXIDASE PRODUCED WITH BACULOVIRUS EXPRESSION VECTOR SYSTEM
Shemetova E.B., Sorokin M.A., Ivanov K.A., Pletnev D.N., Nekrasova N.A., Babkina I.N., Danilyuk N.K., Rukavishnikov M.Ju. 309

ТЕРМИЧЕСКАЯ И ФОТОДЕСТРУКЦИЯ ЭКОЛОГИЧЕСКИ БЕЗОПАСНЫХ ПЛЕНОК НА ОСНОВЕ ПОЛИЭТИЛЕНА И ПОЛИЛАКТИДА
Жаркова Е.А., Щербакова Е.М., Тертышная Ю.В., Шадрова О.И. 309

THERMAL AND PHOTODEGRADATION OF ENVIRONMENTALLY FRIENDLY FILMS BASED ON POLYETHYLENE AND POLYLACTIDE
Zharkova E.A., Shcherbakova, E. M., Tertyshnaya Yu. V., Shadrova O.I. 310

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

ПРОДУКЦИЯ РАСИТЕЛЬНЫХ ПЕРОКСИДАЗ III КЛАССА В ТРАНСГЕННЫХ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУРАХ RUBIA CORDIFOLIA, ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ ГЕНОМ *rolB* ИЗ AGROBACTERIUM RHIZOGENES
Авраменко Т.В., Веремейчик Г.Н., Шкрыль Ю.Н., Булгаков В.П. 311

THE PRODUCTION OF CLASS III PLANT PEROXIDASES IN TRANSGENIC RUBIA CORDIFOLIA CALLUS CULTURES TRANSFORMED WITH THE *ROLB* GENE OF AGROBACTERIUM RHIZOGENES
Avramenko T.V., Veremeichik G.N., Shkryl Yu.N., Bulgakov V.P. 313

СТИМУЛИРОВАНИЕ БИОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ КАРОТИН СИНТЕЗИРУЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ В УСЛОВИЯХ КОНТРОЛИРУЕМОГО СТРЕССА
Червякова О.П., Шакир И.В., Суясов Н.А., Панфилов В.И. 316

PROMOTING BIOSYNTHETIC PROCESSES ARE CAROTENE SYNTHESIZED MICROORGANISMS UNDER CONTROLLED STRESS
Chervyakova O.P., Shakir I.V., Suyasov N.A., Panfilov V.I. 317

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ КОНВЕРСИИ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ С ПОЛУЧЕНИЕМ БИОПРОДУКТОВ
Гаврилов С.В., Хусаинов И.А., Ле Ань Туан, Банницына Т.Е., Буркова Е.А., Канарская З.А., Канарский А.В. 317

BIOTECHNOLOGICAL ASPECTS CONVERSION PLANT RAW MATERIAL INTO BIOPRODUCTS
Gavrilov S.V., Husainov I.A., Le Anh Tuan, Bannitsyna T.E., Burkova E.A., Kanarskaya Z.A., Kanarsky A.V. 318

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ КЕРАТИНАЗЫ CLADOSPORIUM SPHAEROSPERMUM – ПЕРСПЕКТИВНОЙ СУБСТАНЦИИ ДЛЯ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ И КОСМЕТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ
Гордонова И.К., Никитина З.К., Быков В.А. 319

CLADOSPORIUM SPHAEROSPERMUM KERATINASE, A PERSPECTIVE SUBSTANCE FOR NEW DRUGS AND COSMETICS, OBTAINING TECHNOLOGY IMPROVEMENT
Gordonova I.K., Nikitina Z.K., Bykov V.A. 319

АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ ПЕПТИДЫ – НОВЫЙ МЕТОД БОРЬБЫ С БАКТЕРИАЛЬНЫМ ЗАРАЖЕНИЕМ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ ЭТАНОЛА
Клячко Е.В., Морозкина Е.В., Беневоленский С.В. 320

ANTIBACTERIAL PEPTIDES – THE NEW METHOD TO PREVENT BACTERIAL CONTAMINATION DURING ETHANOL PRODUCTION
Klyachko E.V., Morozkina E.V., Benevolensky S.V. 321

КЛОНИРОВАНИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ ГЕНОВ АПОЛИПОПРОТЕИНА А-I ЧЕЛОВЕКА В КЛЕТКАХ *ESCHERICHIA COLI* И *PICHIA PASTORIS* И АНАЛИЗ ПРОДУКТОВ ИХ ЭКСПРЕССИИ
Мамаев А.Л., Пыхтина М.Б., Беклемишев А.Б. 321

CLONING OF HUMAN APOLIPOPROTEIN A-I SYNTHETIC GENES IN *ESCHERICHIA COLI* AND *PICHIA PASTORIS* CELLS AND ANALYSIS OF EXPRESSION PRODUCTS
Mamaev A.L., Pykhtina M.B., Beklemishev A.B. 322

ОЦЕНКА ПРИГОДНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РАЗЛИЧНЫХ АФФИННЫХ СМОЛ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ВЫСОКОСПЕЦИФИЧНЫХ ПОЛИКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ
Моногаров Г.В., Греченко В.В., Борщева А.А., Дон Е.С., Тарасов А.В., Барыкина Д.В., Никифорова М.В., Тарасов С.А.. 323

ASSESSMENT OF SUITABILITY OF ACTIVATED RESINS FOR PREPARATION OF SORBENT FOR ISOLATION OF HIGHLY SPECIFIC POLYCLONAL ANTIBODIES
Monogarov G.V., Grechenko V.V., Borscheva A.A., Don E.S., Tarasov A.V., Barykina D.V., Nikiforova M.V., Tarasov S.A. 324

ЭКОНОМИЧЕСКИЕ РАСЧЕТЫ ПОЛУЧЕНИЯ РУТИНА ИЗ ГРЕЧИХИ
Павловская Н.Е., Гнеушева И.А., Горькова И.В., Зомитева Л.В., Бородин Д.Б. 325

ECONOMIC CALCULATION OBTAIN RUTIN BUCKWHEAT
Pavlovskaya N.E., Gneusheva I.A., Gorkova I.V., Zomiteva L.V., Borodin D.B. 325

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ РОСТА СПИРТОВЫХ ДРОЖЖЕЙ НА ГИДРОЛИЗАТАХ СМЕСИ ПШЕНИЧНОЙ СОЛОМЫ И ОТРУБЕЙ
Понкратов А.С., Красильникова О.В., Валеева Р.Т., Емельянов В.М. 326

INVESTIGATION OF THE DISTILLERS' YEAST GROWTH ON THE HYDROLYZATES OF THE MIX OF WHEAT STRAW AND BRAN
Ponkratov A.C. 327

ИССЛЕДОВАНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ ГРИБНОЙ АМИЛАЗЫ, ИММОБИЛИЗОВАННОЙ НА ХИТОЗАНСОДЕРЖАЩЕЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЕ
Распопова Е.А., Красноштанова А.А. 327

STUDY OF STABILITY OF FUNGUS AMYLASE, IMMOBILIZED ON CELLULOSE CONTAINING CHITOSAN
Raspopova E.A., Krasnoshtanova A.A. 328

ИЗУЧЕНИЕ ЗАВИСИМОСТИ РОСТА СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЫ *THALICTRUM MINUS L.* И СИНТЕЗА ЕЮ АЛКАЛОИДА БЕРБЕРИНА ОТ ФИТОГОРМОНОВ
Савин П.С., Савина Т.А., Цыбулько Н.С., Тертичная Ю.М. 329

RESEARCH ONTHE INFLUENCE OF PHYTOHORMONES UPON THE *THALICTRUM MINUS L.* SUSPENSION CULTURE GROWTH AND PRODUCTION OF THE ALCALOIDE BERBERINE
P.S. Savin, T.A. Savina, N.S. Tsybulko, J.M. Tertichnaya 329

ПОЛУЧЕНИЕ ФЕРМЕНТНОГО ПРЕПАРАТА ГРИБНЫХ ПРОТЕАЗ НА ОСНОВЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ШТАММА ***PENICILLIUMCANESCENS***
Смирнова И.А., Середа А.С., Костылева Е.В., Цурикова Н.В., Рожкова А.М., Синицын А.П. 330

OBTAINING OF PENICILLOPEPSIN-LAP PREPARATION USING ***PENICILLIUMCANESCENS*** **RECOMBINANTS TRAIN**
Smirnova I.A., Sereda A.S., Kostyleva E.V., Tsurikova N.V., Rojkova A.M., Sinitsyn A.P.. 331

ВЫДЕЛЕНИЕ ШТАММОВ ТЕРМОТОЛЕРАНТНЫХ ДРОЖЖЕЙ, ПРОДУЦИРУЮЩИХ ЭТАНОЛ И ОБЛАДАЮЩИХ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ИНГИБИТОРАМ ФЕРМЕНТАЦИИ
Сорокина К.Н., Самойлова Ю.В., Пилигаев А.В. 332

ISOLATION OF THERMOTOLERANT YEAST STRAINS PRODUCING ETHANOL AND RESISTANT TO INHIBITORS OF FERMENTATION
Sorokina K.N., Samoylova Y.V., Piligaev A.V. 333

БЕССЫВОРОТОЧНЫЕ СРЕДЫ «ГИБРИС» ДЛЯ СУСПЕНЗИОННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК CHO И HEK В БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ
Табаков В.Ю., Честков В.В., Честков И.В., Щепкина Ю.В. 334

SERUM-FREE MEDIA "HYBRIS" FORCULTURING CHO AND HEK CELLS IN SUSPENSION
Tabakov V.Yu., Chestkov V.V., Chestkov I.V., SchepkinaYu.V.. 335

СИСТЕМНЫЙ ПОДХОД К ВЫБОРУ ОПТИМАЛЬНОГО БИОРЕАКТОРА
Винаров А.Ю. 337

SYSTEM APPROACH TO THE SELECTION OF OPTIMAL BIOREACTOR
Vinarov A.Yu. 338

СПОСОБЫ КОНСЕРВАЦИИ МИКРОМИЦЕТОВ – ПРОДУЦЕНТОВ ПРОТЕИНАЗ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИЕ ИХ СТАБИЛЬНОСТЬ
Яковлева М.Б., Никитина З.К., Быков В.А. 338

METHODS OF CONSERVATION OF MICROMYCETES – PRODUCERS OF PROTEASES, ENSURING THEIR STABILITY
Yakovleva M.B., Nikitina Z.K., Bykov V.A. 339

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ И ПОЛУЧЕНИЕ НАД
Цыренов В.Ж., Гомбоева С.В., Санданов А.А. 340

MICROBIOLOGICALSYNTHESISANDPREPARATIONOFNAD
TsyrenovV.Zh., GomboevaS.V., SandanovA.A.. 340

ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНГИЦИДНОЙ И БАКТЕРИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ ХАЛЬКОГЕНСОДЕРЖАЩИХ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ
Залепкина С.А., Смирнов В.Ф., Борисов А.В., Мацулевич Ж.В., Смирнова О.Н. 341

STUDYING FUNGICIDAL AND BACTERICIDAL ACTIVITY OF NEW CHALCOGEN HETEROCYCLIC COMPOUNDS
Zalepkina S.A., Smirnov V.F., Borisov A.V., Matculevich Zh.V., Smirnova O.N. 342

ИЗУЧЕНИЕ УПРАВЛЯЮЩИХ ФАКТОРОВ РАЗВИТИЯ ЭКСТРЕМАЛЬНО ГАЛОФИЛЬНОГО МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА
Занина О.С., Мурзина Е.Д., Борисов В.Д., Кошкарева К.А., Бутырин С.П., Побережный Д.Ю., Атрощик Е.А., Нагаева В.Е., Кузнецов А.Е., Калёнов С.В. 342

ONTROLLING FACTORS OF EXTREMAL HALOPHILOUS MICROBIAL COMMUNITY
Zanina O.S., Murzina E.D., Borisov V.D., Koshkareva K.A., Butyrin S.P., Poberezhniy D.Y., Atroshchik E.A., Nagaeva V.E., Kouznetsov A.Ye., Kalenov S.V.. 344

Секция «БИОКАТАЛИЗ И БИОКАТАЛИТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ»

SECTION “BIOCATALYSIS AND BIOCATALYTIC TECHNOLOGIES”

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

ПРЕПАРАТ БАКТЕРИОФАГА БИМ BV-53, ОБЛАДАЮЩИЙ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТЬЮ
Бондаревич Н.В., Широков А.А., Новик Г.И. 345

BACTERIOPHAGE BIMBV-53 PREPARATION SHOWING ENZYMATIC ACTIVITY
Bondarevich N.V., Shirokov A.A., Novik G.I. 346

ВЫСОКОЭФФЕКТИВНЫЕ БИОКАТАЛИЗАТОРЫ В ВИДЕ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ КЛЕТОК МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ
Ефременко Е.Н. 346

HIGHLY EFFECTIVE BIOCATALYSTS IN THE FORM OF IMMOBILIZED CELLS OF FILAMENTOUS FUNGI FOR THE APPLICATION IN BIOTECHNOLOGICAL PROCESSES
Efremenko E.N. 347

АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ ФЕРМЕНТЫ И СПОСОБЫ ИХ ДОСТАВКИ – АЛЬТЕРНАТИВА АНТИБИОТИКАМ
Клячко Н.Л., Филатова Л.Ю., Мирошников К.А., Легоцкий С.А., Прийма А.Д., Белый Т.С., Усвалиев А.Д., Рудаковская П.Г., Грибановский С.Л., Зайцева Е.А., Белова А.Б., Мажуга А.Г., Головин Ю.И., Кабанов А.В.. 348

THE ANTIBACTERIAL ENZYMES AND METHODS OF DELIVERY – AN ALTERNATIVE TO ANTIBIOTICS
N.L. Klyachko, L.Yu. Filatova, K.A. Miroshnikov, S.A. Legotsky, A.D. Priyma, T.S. Belyy, A. Usvaliev, P.G. Rudakovskaya, S.L. Gribanovsky, E.A. Zaytseva, A.B. Belova, A.G. Majouga, Yu.I. Golovin, A.V. Kabanov. 349

ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ СЕНСОРЫ НА ОСНОВЕ НАНОБИОМАТЕРИАЛОВ
Курочкин И.Н., Рыжиков И.А., Сарычев А.К., Афанасьев К.Н., Будашов И.А., Еременко А.В., Сиголаева Л.В., Седова М.В., Богинская И.А., Амитонов С.В., Коростылев Е.В., Лагарьков А.Н.. 350

HIGHLY SENSITIVE SENSORS BASED ON NANOBIOMATERIALS
Kurochkin I.N., Ryzhikov I.A., Sarychev A.K., Afanasiev K.N., Budashov I.A., Eremenko A.V., Sigolaeva L.V., Sedova M.V., Boginskaya I.A., Amitonov S.V., Korostilev E.V., Lagarkov A.N. 350

ГЕТЕРОГЕННЫЕ БИОКАТАЛИЗАТОРЫ ДЛЯ ПЕРЕЭТЕРИФИКАЦИИ ТРИГЛИЦЕРИДОВ РАСТИТЕЛЬНЫХ МАСЕЛ В ЦЕННЫЕ МАСЛОЖИРОВЫЕ ПРОДУКТЫ И БИОДИЗЕЛЬ
Коваленко Г.А., Перминова Л.В., Беклемишев А.Б., Кузнецов В.Л.. 351

HETEROGENEOUS BIOCATALYSTS FOR THE CONVERSION OF VEGETABLE OILS INTO VALUABLE PRODUCTS OF TRIGLYCEFIDERS' INTERESTERIFICATION SUCH AS OIL-FAT BLENDS AND BIODIESEL
Kovalenko G.A., Perminova L.V., Beklemishev A.B., Kuznetsov V.L. 352

ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ БИОСЕНСОРЫ НА ОСНОВЕ ЦИТОХРОМА P450 17A1 ДЛЯ СКРИНИНГА НОВЫХ ИНГИБИТОРОВ – ОКСАЗОЛИН-СОДЕРЖАЩИХ ПРОИЗВОДНЫХ 17(20) *E*-ПРЕГНА-5,17(20)-ДИЕНА
Кузиков А.В., Стулов С.В., Шумянцева В.В., Мишарин А.Ю., Арчаков А.И. 352

ELECTROCHEMICAL BIOSENSORS BASED ON CYTOCHROME P450 17A1 FOR SCREENING OF NEW INHIBITORS – OXAZOLINE-CONTAINING DERIVATIVES 17(20) *E*-PREGNA-5,17(20)-DIENE
Kuzikov A.V., Stulov S.V., Shumyantseva V.V., Misharin A.Y., Archakov A.I. 353

ЭСТЕРАЗНЫЙ СТАТУС ОРГАНИЗМА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ И ПРОГНОЗА ДЕЙСТВИЯ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИХ ИНТОКСИКАНТОВ
Махаева Г.Ф. 354

ESTERASE STATUS OF ORGANISM FOR DIAGNOSTICS AND PROGNOSIS OF ACTION OF ORGANOPHOSPHORUS TOXICANTS
Makhaeva G.F. 355

ИЗУЧЕНИЕ КСИЛАНОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ *GEOBACILLUSSTEAROTHERMOPHILUS 22 VKPMB-11678* (ГОРЯЧИЙИ СТОЧНИК ГАРГА, РОССИЯ)
РозановА.С., Сушенцева Н.Н., Малуп Т.К., Горячковская Т.Н., Демидова Е.В., Мещерякова И.А., Демидов Е.А., Пельтек С.Е. 356

RESEARCH OF XYLANOLITIK PROTEINS FROM *GEOBACILLUSSTEAROTHERMOPHILUS22 VKPM B-11678* (GARGA HOT SPRING, RUSSIA)
Rozanov Aleksei S., Sushentseva Natalya N., Malup Tatiana K., Goryachkovskaya Tatiana N., Demidova Elisaveta V., Meshcheriakova Irina A., Demidov Evgeniy A., Peltek Sergey E. 357

МОНО И БИФЕРМЕНТНЫЕ БИОСЕНСОРНЫЕ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ СТИМУЛ-ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ МИКРОГЕЛЕЙ
Сиголаева Л.В., Гладыр С.Ю., Евтушенко Е.Г., Гелиссен А.П.Х., Мергель О., Пергушов Д.В., Курочкин И.Н., Плампер Ф.А., Рихтеринг В. 358

MONO AND BIENZYMATIC BIOSENSOR SYSTEMS BASED ON STIMULI-SENSITIVE MICROGELS
Sigolaeva L.V., Gladyr S.Yu., Evtushenko E.G., Gelissen A.P.H., Mergel O., Pergushov D.V., Kurochkin I.N., Plamper F.A., Richtering W. 359

СИНТЕЗ НАНОКОМПОЗИТА НА ОСНОВЕ ЭЛЕКТРОПРОВОДЯЩЕГО ПОЛИАНИЛИНА И УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБОК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЛАККЗА-МЕДИАТОРНОЙ СИСТЕМЫ И РАЗРАБОТКА НА ЕГО ОСНОВЕ ГИБКОГО ТОНКОГО СУПЕРКОНДЕНСАТОРА
Ярополов А.И., Шумакович Г.П., Хлупова М.Е., Васильева И.С., Морозова О.В. 359

LACCASE – MEDIATOR SYNTHESIS OF NANOCOMPOSITE BASED ON CONDUCTING POLYANILINE AND CARBON NANOTUBES AND ITS APPLICATION FOR THIN AND FLEXIBLE SUPERCAPACOTOR DEVELOPMENT
Yaropolov A.I., Shumakovich G.P., Khlupova M.E., Vasil'eva I.S., Morozova O.V. 360

ПОСТЕРЫ
POSTERS

ИММОБИЛИЗАЦИЯ ХИМОТРИПСИНА НА НАНОЧАСТИЦАХ: СИНТЕЗ, СПЕКТРАЛЬНЫЕ И РАЗМЕРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ; ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ НАНОКОМПОЗИТОВ
Боровикова Л.Н., Титова А.В., Писарев О.А. 361

IMMOBILIZATION OF CHYMOTRYPSIN ON NANOPARTICLES: SYNTHESIS, SPECTRAL AND DIMENSIONAL FEATURES; FERMENTATION ACTIVITY OF NANO-COMPLEXES
Borovikova L.N., Titova A.V., Pisarev O.A. 362

ПОЛИСАХАРИДМОНООКСИГЕНАЗЫ *THIELAVIA TERRESTRIS* И *TRICHODERMA REESEI* И ИХ РОЛЬ В ФЕРМЕНТАТИВНОЙ ДЕГРАДАЦИИ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ
Булахов А.Г., Гусаков А.В. 362

POLYSACCHARIDE MONOOXYGENASES *THIELAVIA TERRESTRIS* AND *TRICHODERMA REESEI* AND THEIR ROLE IN THE ENZYMATIC DEGRADATION OF CELLULOSE
Bulakhov A.G., Gusakov A.V.. 363

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РОЛИ N-ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЯ В ПРОЯВЛЕНИИ КАТАЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЦЕЛЛОБИОГИДРОЛАЗЫ I *PENICILLIUM VERRUCULOSUM* МЕТОДОМ САЙТ-НАПРАВЛЕННОГО МУТАГЕНЕЗА
Доценко А.С., Волков П.В., Рожкова А.М., Гусаков А.В. 364

THE ROLE OF N-LINKED GLYCOSYLATION IN THE CATALYTIC ACTIVITY OF CELLOBIOHYDROLASE I *PENICILLIUM VERRUCULOSUM*
Dotsenko A.S., Volkov P.V., Rozhkova A.M., Gusakov A.V. 365

ИНКАПСУЛИРОВАННЫЕ В ОРГАНОСИЛИКАТНЫЕ ПОЛИМЕРЫ МЕТИЛОТРОФНЫЕ ДРОЖЖИ КАК ОСНОВА БИОФИЛЬТРА ДЛЯ ОЧИСТКИ МЕТАНОЛСОДЕРЖАЩИХ СТОКОВ
Федосеева Д.Г., Каманина О.А., Понаморева О.Н. 366

THE METHYLOTROPHIC YEAST ENCAPSULATED OF ORGANOSILICATE POLYMERS AS A BASIS FOR CLEANING BIOFILTER METHANOL-DRAINS
Fedoseeva D.G., Kamanina O.A., Ponamoreva O.N.. 367

ОБРАЗОВАНИЕ ОРГАНОСИЛИКАТНЫХ КАПСУЛ ВОКРУГ ЖИВЫХ КЛЕТОК ДРОЖЖЕЙ КАК СПОСОБ ОБЕСПЕЧЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ К ПОВРЕЖДАЮЩИМ ФАКТОРАМ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ
Каманина О.А., Бурмистрова Т.В., Понаморева О.Н. 368

FORMATION OF ORGANOSILICATE CAPSULES AROUND YEAST CELLS AS A WAY TO INCREASE THEIR RESISTANCE TO DAMAGING ENVIRONMENTAL FACTORS
Kamanina O.A., Burmistrova T.V., Ponamoreva O.N.. 368

ОРИЕНТИРОВАННАЯ ИММОБИЛИЗАЦИЯ ФРАГМЕНТОВ АНТИТЕЛ НА ПОВЕРХНОСТИ КРЕМНИЕВЫХ МИКРОЧИПОВ, МОДИФИЦИРОВАННЫХ НАНОЧАСТИЦАМИ ЗОЛОТА, ДЛЯ СОЗДАНИЯ НАНОСЕНСОРОВ
Преснова Г.В., Преснов Д.Е., Григоренко В.Г., Егоров А.М., Рубцова М.Ю. 369

ORIENTED IMMOBILIZATION OF ANTIBODY FRAGMENTS ON THE SURFACE OF SILICON MICROCHIPS MODIFIED WITH GOLD NANOPARTICLES FOR THE DEVELOPMENT OF NANOSENSORS
Presnova G.V., Presnov D.E., Grigorenko V.G., Egorov A.M., Rubtsova M.Yu. 370

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

БИОАДСОРБЦИЯ БЕЛКОВ И МУЦИНА НА МЕЗОПОРИСТЫХ МИКРОСФЕРАХ $CaCO_3$
Балабушевич Н.Г., Лопес де Гереню А.В., Киржанова Е.А., Феоктистова Н.А., Володькин Д.В. 371

BIOADSORPTION OF PROTEINS AND MUCIN INTO MESOPOROUS VATERITE $CaCO_3$ MICROSPHERES
Balabushevich N.G., Lopez de Guerenu A.V., Kirzhanova E.A., Feoktistova N.A., Volodkin D.V. 371

САЙТ-НАПРАВЛЕННЫЙ МУТАГЕНЕЗ КСИЛАНЗЫ А *PENICILLIUM CANESCENS* ДЛЯ УВЕЛИЧЕНИЯ ТЕРМОСТАБИЛЬНОСТИ ФЕРМЕНТА
Денисенко Ю.А., Гусаков А.В., Рожкова А.М., Осипов Д.О. 372

SITE-DIRECTED MUTAGENESIS OF XYLANASE A FROM *PENICILLIUM CANESCENS* FOR IMPROVING ITS THERMOSTABILITY
Denisenko Y.A., Gusakov A.V., Rozhkova A.M., Osipov D.O. 373

РОЛЬ И НОВЫЕ ФУНКЦИИ ЛИПИДОВ В КОНДЕНСИРОВАННЫХ БИОСИСТЕМАХ. АКТИВАЦИЯ И РЕГУЛЯЦИЯ ЛИПОЛИЗА
Мадьяров Ш.Р.. 373

THE ROLE AND NEW FUNCTIONS OF LIPIDS IN CONDENSED BIOSYSTEMS. ACTIVATION AND REGULATION OF LIPOLYSIS
Madyarov Sh. R. 374

СКРИНИНГ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ШТАММОВ БАКТЕРИЙ ПО НИТРИЛГИДРАТАЗНОЙ АКТИВНОСТИ
Махсумханов А.А., Камбаралиева М.И., Ташбаев Ш.А., Пулатова О.М., Алимова Б.Х. 375

SCREENING OF COLLECTION'S BACTERIAL SPECIES FOR NITRILE HYDRATASE ACTIVITY
Makhsumkhanov A.A., Kambaralieva M.I., Tashbaev Sh.A., Pulatova O.M., Alimova B.Kh. 376

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МУЛЬТИФЕРМЕНТНОГО ГЛИКОЛИТИЧЕСКОГО КОМПЛЕКСА *TRICHODERMA VIRIDE* ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ПРЕБИОТИКОВ
Мартиросова Е.И., Ожимкова Е.В., Ущаповский И.В., Сульман Э.М. 377

ASPECTS OF THE USE OF MULTIENZYME GLYCOLYTIC COMPLEX *TRICHODERMA VIRIDE* TO OBTAIN PREBIOTICS
Martirosova E.I., Ozhimkova E.V. Uschapovsky I.V., Sulman E.M. 378

ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ БИОКАТАЛИЗАТОРА НА ОСНОВЕ ТЕРМОСТАБИЛЬНОЙ ЛИПАЗЫ БАКТЕРИИ *BURKHOLDERIA CEPACIA* (AMANO BH) В РЕАКЦИИ ПЕРЕЭТЕРИФИКАЦИИ ПИЩЕВЫХ ЖИРОВ
Самойлова Ю.В., Пилигаев А.В., Сорокина К.Н. 378

PROPERTIES OF BIOCATALYSTS BASED ON A THERMOSTABLE LIPASE FROM *BURKHOLDERIA CEPACIA* (AMANO BH) IN THE TRANSESTERIFICATION REACTION OF FOOD OILS
Samoylova Y.V., Piligaev A.V., Sorokina K.N. 379

БИОКАТАЛИТИЧЕСКИЕ ПРЕВРАЩЕНИЯ ХИМИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННОЙ ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗЫ
УдоратинаЕ.В., Щербакова Т.П., КучинА.В., БудаеваВ.В., СкибаЕ.А., СаковичГ.В. 380

BIOCATALYTIC TRANSFORMATIONS OF CHEMICALLY MODIFIED LIGNOCELLULOSE
E.V. Udoratina, T.P. Sherbakov, A.V. Kuchin, V.V. Budaeva, E.A. Skiba, G.V. Sakovich 381

РАЦИОНАЛЬНЫЙ ДИЗАЙН ФЕРМЕНТОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОВ БИОИНФОРМАТИКИ И МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ
Швядас В.К., Суплатов Д.А., Панин Н.В., Халиуллин И.Г. 381

RATIONAL DESIGN OF ENZYMES USING METHODS OF BIOINFORMATICS AND MOLECULAR MODELING
Vytas Švedas, Dmitry Suplatov, Nikolai Panin, Ilyas Khaliullin 383

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА БИОКАТАЛИЗАТОРА АМИНОАЦИЛАЗЫ
Епремян А.С. 384

THE TECHNOLOGY OF PRODUCING OF AMINOACYLASE BIOCATALYST DEVELOPMENT
Yepremyan H.S. 385

СЕКЦИЯ «БИОТЕХНОЛОГИЯ ПИЩИ. ПРОДУКТЫ ЗДОРОВОГО ПИТАНИЯ»

SECTION “BIOTECHNOLOGY FOOD. HEALTH FOOD PRODUCTS”

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОМПЬЮТЕРНОГО ВИДЕОКОМПЛЕКСА «ЦИТОМИР» ДЛЯ АНАЛИЗА ЭФФЕКТОВ ГМР НА КЛЕТКИ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ
Дромашко С.Е., Квитко О.Г., Шейко Я.И., Балашенко Н.А. 386

PROSPECTS OF USING COMPUTER VIDEO SYSTEM "TSITOMIR" TO ANALYZE GMP EFFECTS ON HUMAN AND ANIMAL CELLS
Dromashko S.E., Kvitko O.V., Sheiko Y.I., Balashenko N.A. 387

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПЕСТИЦИДОВ МЕТОДОМ ПОЛЯРИЗАЦИОННОГО ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ИММУНОАНАЛИЗА
Бородулева А.Ю., Еремин С.А. 387

DETECTION OF PESTICIDE BY FLUORESCENCE POLARIZATION IMMUNOASSAY
Boroduleva A.Y., Eremin S.A. 388

БИОЛОГИЧЕСКИЕ И ФИЗИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИННОВАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ПРОДУКТОВ ДЕТСКОГО, ГЕРОДИЕТИЧЕСКОГО, ФУНКЦИОНАЛЬНОГО И ОЗДОРОВИТЕЛЬНОГО ПИТАНИЯ
Исаев В.А., Симоненко С.В. 389

BIOLOGICAL AND PHYSICAL ASPECTS OF INNOVATIVE TECHNOLOGIES OF PRODUCTS OF BABY, GERODIYETICHESKY, FUNCTIONAL AND IMPROVING FOOD
Isaev V.A., Simonenko S.V. 390

ВЛИЯНИЕ ПРИРОДНЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ НА СТРУКТУРНОЕ СОСТОЯНИЕ И ФОРМУ ЛИПОСОМ ФОСФАТИДИЛХОЛИНА, СВОБОДНЫХ И ИНКАПСУЛИРОВАННЫХ БИОПОЛИМЕРАМИ
Пальмина Н.П., Мальцева Е.Л., Бинюков В.И., Каспаров В.В., Антипова А.С., Семёнова М.Г. 390

EFFECT OF NATURAL PLANT ANTIOXIDANTS ON THE STRUCTURE AND FORM OF PHOSPHATIDYLCHOLINE LIPOSOMES, FREE AND ENCAPSULATED BY BIOPOLYMERS
Palmina N. P., Maltseva E.L., Binyukov V.I., Kasparov V.V., Antipova A.S., Semenova M.G. . . .391

СИНЕРГИЗМ ДЕЙСТВИЯ ФОСФОЛИПИДОВ И КОВАЛЕНТНЫХ КОНЬЮГАТОВ КАЗЕИНАТА НАТРИЯ С МАЛЬТОДЕКСТРИНАМИ В ЗАЩИТЕ ЛЬНЯНОГО МАСЛА ОТ ОКИСЛЕНИЯ
Семёнова М.Г., Зеликина Д.В., Антипова А.С., Мартиросова Е.И., Григорович Н.В., Обушаева Р.А., Шумилина Е.А., Озерова Н.С. 392

SYNERGISM OF THE ACTION OF PHOSPHOLIPIDS AND COVALENT CONJUGATES OF SODIUM CASEINATE WITH MALTODEXTRINS IN THE PROTECTION OF FLAXSEED OIL AGAINST OXIDATION
Semenova M.G., Zelikina D.V., Antipova A.S., Martirosova E.I., Grigorovich N.V., Obushaeva R.A., Shumilina E.A., Ozerova N.S. 392

ИДЕНТИФИКАЦИЯ БИФИДОБАКТЕРИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КОМПЛЕКСНОГО ПОДХОДА
Сидоренко А.В., Пасцьяк М., Гамьян А., Новик Г.И. 393

IDENTIFICATION OF BIFIDOBACTERIA USING COMPLEX APPROACH
Sidarenka A.V., Pasciak M., Gamian A., Novik G.I. 394

ЭКСПРЕССНЫЕ ИММУНОФЕРМЕНТНЫЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МИКОТОКСИНОВ
Урусов А.Е., Петракова А.В., Возняк М.В., Жердев А.В., Дзантиев Б.Б.. 394

EXPRESS IMMUNOENZYMETECHNIQUES FOR MYCOTOXIN DETECTION
Urusov A.E., Petrakova A.V., Vozniak M.V., Zherdev A.V., Dzantiev B.B. 395

ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРОДУКЦИИ СОВРЕМЕННЫХ МИКРОБНЫХ БИОТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ ПОДДЕРЖАНИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО ГОМЕОСТАЗА ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ СПОРТСМЕНОВ
Яшин Т.А., Суворов А.Н., Алехина Г.Г., Сергеев В.Н., Калюжин О.В. 396

THE POSSIBILITIES FOR USE OF PRODUCTS OF MODERN MICROBIAL BIOTECHNOLOGY FOR MAINTAINING METABOLIC HOMEOSTASIS PROFESSIONAL ATHLETES
Yashin T.A., Suvorov A.N., Aljokhina G.G.., Sergeev V.N., Kaljuzhin O.V. 397

РАЗРАБОТКА ИММУНОФЕРМЕНТНОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ НА ТРОПОНИН I И ЕЕ ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ХАРАКТЕРИСТИКИ СОДЕРЖАНИЯ МЫШЕЧНЫХ ТКАНЕЙ МЛЕКОПИТАЮЩИХ В МЯСНЫХ ПРОДУКТАХ
Зверева Е.А., Жердев А.В., Пташник И.В., Ковалев Л.И., Иванов А.В., Шишкин С.С., Дзантиев Б.Б., Чернуха И.М., Лисицын А.Б. 398

DEVELOPMENT OF ENZYME IMMUNOASSAY SYSTEM FOR TROPONIN I AND ITS APPLICATION TO CONTROL CONTENT OF MAMMALIAN MUSCLE TISSUES IN MEAT PRODUCTS
Zvereva E.A., Zherdev A.V., Ptashnik I.V., Kovalev L.I., Ivanov A.V., Shishkin S.S., Dzantiev B.B., Chernukha I.M., Lisitsyn A.B. 399

ПОСТЕРЫ
POSTERS

К ОПРЕДЕЛЕНИЮ ОБЩЕГО СОДЕРЖАНИЯ АНТОЦИАНОВ В ПЛОДАХ ЗЕМЛЯНИКИ САДОВОЙ (Fragaria x ananassa Duch.)
Чупахина Н.Ю., Тынутаре Т., Моор У. 400

ASSESMENT OF THE TOTAL ANTHOCYANINS CONTENT IN STRAWBERRY (Fragaria x ananassa Duch.)
Tchoupakhina N.J., Tõnutare T., Moor U. 401

СУХАЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНАЯ ДОБАВКА ИЗ ВЕРБЛЮЖЬЕГО МОЛОКА
Дудикова Г.Н., Чижаева А.В., Сагындыков У.З 401

РАЗРАБОТКА ИММУНОФЕРМЕНТНОГО И ПОЛЯРИЗАЦИОННОГО ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ИММУНОАНАЛИЗА ПИЩЕВОГО КРАСИТЕЛЯ СУДАН-I
Еремин С.А., Шанин И.А., Жердев А.В., Дзантиев Б.Б. 402

DEVELOPMENT OF FLUORESCENCE POLARIZATION IMMUNOASSAY FOR DETECTION OF FOOD DYE SUDAN-I
Eremin S.A., Shanin I.A., Zherdev A.V., Dzantiev B.B. 403

ВЛИЯНИЕ МАЛЫХ ДОЗ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ МЫШЕЙ
Фаткуллина Л.Д., Мишарина Т.А., Голощапов А.Н., Бурлакова Е.Б. 404

THE INFLUENCE OF SMALL DOSES OF ESSENTIAL OILS ON THE LIFESPAN OF MICE
Fatkullina L.D., Misharina T.A., Goloschapov A.N., Burlakova E.B. 404

ЭНЗИМАТИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ ДУШИСТЫХ ВЕЩЕСТВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФРАКЦИИ СИВУШНОГО МАСЛА
Гамаюрова В.С., Зиновьева М.Е., Шнайдер К.Л. 405

ENZYMATIC SYNTHESIS OF FLAVOR ESTERS FROM FRACTION OF FUSEL OIL
Gamaurova V.S., Shnayder K.L., Zinoveva M.E. 406

ИЗМЕНЕНИЯ СОСТАВА ЖИРНЫХ КИСЛОТ В МОЗГЕ СТАРЕЮЩИХ МЫШЕЙ
Мишарина Т.А., Фаткуллина Л.Д., Бурлакова Е.Б. 406

CHANGES IN THE COMPOSITION OF FATTY ACIDS IN BRAIN AGING MICE
Misharina T.A., Fatkullina L.D., Burlakova E.B. 407

ВЛИЯНИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ И ЭКСТРАКТОВ НА УСТОЙЧИВОСТЬ ЛЬНЯНОГО МАСЛА К ОКИСЛЕНИЮ
Семенова М.Г., Мишарина Т.А., Алинкина Е.С., Теренина М.Б., Крикунова Н.И. 408

EFFECT OF PLANT ETHER OILS AND EXTRACTS ON THE FLAXSEED OIL STABILITY AGAINST OXIDATION
Semenova M.G., Misharina T.A., Alinkina E.S., Terenina M.B., Krikunova N.I. 408

ИЗУЧЕНИЕ ХАРАКТЕРА ФЕРМЕНТОЛИЗА ГОВЯЖЬИХ СУБПРОДУКТОВ II КАТЕГОРИИ В ПРОЦЕССЕ ИХ МОЛОЧНОКИСЛОЙ ФЕРМЕНТАЦИИ
Жакслыкова С.А., Хабибуллин Р.Э., Решетник О.А. 409

THE STUDY OF THE ENZYMATIC HYDROLYSIS NATURE OF BOVINE OFFAL DURING EXOGENOUS LACTIC ACID FERMENTATION
Zhakslykova S.A., Khabibullin R.E., Reshetnik O.A. 410

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ЛИКЕРОВОДОЧНЫХ ИЗДЕЛИЙ В ПРОЦЕССЕ ПРОИЗВОДСТВА И ХРАНЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПРОДУКЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОГО МЕТОДА АНАЛИЗА
Абрамова И.М., Поляков В.А., Савельева В.Б., Сурин Н.М., Воробьева Т.Г., Приёмухова Н.В. 411

QUALITY CONTROL OF LIQUORS IN THE PRODUCTION PROCESS AND STORAGE AND PRODUCT IDENTIFICATION USING A SPECTROPHOTOMETRIC METHOD OF ANALYSIS
Abramova I.M., Polyakov V.A., Savelyeva V.B., Surin N.M., Vorobyova T.G., Priyomukhova N.V.. 411

ЭТИКО-ПРАВОВОЙ АСПЕКТ ГМО
Агеева Н.А. 412

ETHICAL AND LEGAL ASPECTS OF GMO
Ageeva N.A. 413

ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ И ХОЛЕСТЕРИН В МЕТАБОЛИЗМЕ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА
Драчева Л.В., канд. хим. наук. 414

ОЦЕНКА СПЕЦИФИЧНОСТИ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТНОГО ПРЕПАРАТА ЛИПАЗА М10-10 Г20Х
Гаскарова Е.Ф., Иванова Л.А., Строева С.С., Фадякина Н.В.. 415

THE RATING OF SPECIFICITY THE LIPASE ENZYME PREPARATION M10-10 G20X
Gaskarova E.F., Ivanova L.A., Stroeva S.S., Fadyakina N.V. 416

ПОДБОР АССОЦИАЦИИ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ ДЛЯ СБРАЖИВАНИЯ СВЕКОЛЬНОГО СОКА И УЛУЧШЕНИЯ ЕГО СВОЙСТВ КАК ПРОДУКТА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО И ЛЕЧЕБНОГО ПИТАНИЯ
Гаврилова Н.Н., Ратникова И.А., Саданов А.К.. 417

SELECTING AN ASSOCIATION OF LACTIC ACID BACTERIA FOR FERMENTING BEET JUICE AND IMPROVING ITS PROPERTIES AS A PRODUCT OF THE FUNCTIONAL AND CLINICAL NUTRITION
Gavrilova N.N., Ratnikova I.A., Sadanov A.K.. 418

ПИЩЕВЫЕ ИНГРЕДИЕНТЫ, СОДЕРЖАЩИЕ НЕРАСТВОРИМЫЕ ПИЩЕВЫЕ ВОЛОКНА ИЗ ВТОРИЧНЫХ ПРОДУКТОВ ПЕРЕРАБОТКИ ПШЕНИЦЫ И ОВСА, С ФУНКЦИОНАЛЬНЫМИ И ТЕХНОЛОГИЧЕСКИМИ СВОЙСТВАМИ ДЛЯ ХЛЕБОПЕЧЕНИЯ
Игорянова Н.А. 418

ВЛИЯНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ ОБРАБОТКИ НА СВОЙСТВА ГИДРОКОЛЛОИДОВ
Ивлева А.Р., Бадретдинова З.А., Михайлова О.С., Крякунова Е.В., Канарская З.А., Канарский А.В. 419

INFLUENCE ENZYMATIC TREATMENT ON THE PROPERTIES OF HYDROCOLLOIDS
Ivleva A.R., Badretdinova Z.A., Mikhailova O.S., Kryakunova E.V., Kanarskaya Z.A., Kanarsky A.V. 420

БИОЛОГИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ С ЦЕЛЬЮ ПОВЫШЕНИЯ БИОДОСТУПНЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПРОДУКТОВ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОГО ПИТАНИЯ
Каленик Т.К., Косенко Т.А., Шлыкова А.Г., Ли Н.Г. 421

BIOLOGICAL MODIFICATION PLANT MATERIAL IN ORDER TO INCREASE THE BIOAVAILABILITY OF FUNCTIONAL PRODUCTS BY POWER
T.K. Kalenik, T.A. Kosenko, A.G. Shlykova, N.G. Li 423

ОСОБЕННОСТИ ТРАНСФОРМАЦИИ БИОПОЛИМЕРОВ ЭМУЛЬСИОННЫХ СИСТЕМ ПРИ ИХ НАПРАВЛЕННОЙ БИОКАТАЛИТИЧЕСКОЙ КОНВЕРСИИ И ДВУСТАДИЙНОЙ МЕМБРАННОЙ ФИЛЬТРАЦИИ
Харитонов В.Д., Агаркова Е.Ю., Кручинин А.Г., Рязанцева К.А., Королева О.В., Федорова Т.В., Пономарева Н.В., Мельникова Е.И. 425

THE PECULIARITIES OF BIOPOLYMERS EMULSIVE SYSTEMS TANSFORMATION UNDER THEIR SYSTEMATIC BIOCATALYTIC CONVERSION AND TWO-STAGE MEMBRANE FILTRATION
Kharitonov V.D., Agarkova E.Yu, Kruchinin A.G.. Riazantseva K.A., Koroleva O.V., Federova T.V., Ponomareva N.V., Melnikova E.I. 426

РАЗРАБОТКА ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ МОДЕЛИ АССОЦИАТИВНОЙ КУЛЬТУРЫ МИКРООРГАНИЗМОВ КЕФИРНЫХ ГРИБКОВ
Хохлачева А.А., Градова Н.Б. 427

DEVELOPMENT OF A FUNCTIONAL MODEL OF ASSOCIATIVE CULTURE OF MICROORGANISMS OF KEFIR GRAINS
Khokhlacheva A.A., Gradova N.B. 427

АНАЛИЗ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ СОСТАВЛЯЮЩИХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВОК, ПРИМЕНЯЕМЫХ ПРИ СИНДРОМЕ ХРОНИЧЕСКОЙ УСТАЛОСТИ
Козлова З.Г. 428

AN ANALYSIS OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF COMPONENTS OF BIOLOGICALLY ACTIVE ADDITIVES USED IN THE THERAPY OF CHRONIC TIREDNESS SYNDROME
Z.G. Kozlova 429

ПРИНЦИПЫ СОЗДАНИЯ МАЛОТОННАЖНЫХ БИОПРЕДПРИЯТИЙ НА ОСНОВЕ ВТОРИЧНОГО СЫРЬЯ И МЕМБРАННЫХ ПРОЦЕССОВ
Кудряшов В.Л. 430

PRINCIPLES OF DEVELOPMENT OF LOW-TONNAGE BIOENTERPRISES BASED ON SECONDARY RAW MATERIALS AND MEMBRANE PROCESSES
Kudryashov V.L. 430

НАУЧНЫЕ ПРИНЦИПЫ КОНСТРУИРОВАНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ НА ОСНОВЕ ФЕРМЕНТОЛИЗАТОВ РАСТИТЕЛЬНОГО И МИКРОБНОГО СЫРЬЯ
Курбатова Е.И., Соколова Е.Н., Давыдкина В.Е., Борщева Ю.А., Римарева Л.В. 431

SCIENTIFIC PRINCIPLES OF BALANCED FUNCTIONAL FOOD CONSTRUCTION BASEDON PLANT AND MICROBIAL FERMENTOLIZATES
Kurbatova E.I., Rimareva L.V., Sokolova E.N., Davydkina V.E., Borscheva Y.A.. 432

РАЗРАБОТКА КОМПОНЕНТОВ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ПИТАНИЯ НА ОСНОВЕ БИОФЛАВОНОИДОВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ
Ломтева Н.А., Кондратенко Е.И., Касимова С.К., Яковенкова Л.А., Сороколетова Н.Е., Уркумбаева С.К., Петрякова Ю.А. 432

THE DESIGN OF COMPONENTS OF FUNCTIONAL NUTRITION BASED ON PLANT BIOFLAVONOIDS
Lomteva N.A., Kondratenko E.I., Kasimov S.K., Yakovenkova L.A., Sorokoletova N.E., Urkumbaeva S.K., Petryakova Yu.A.. 433

ВЛИЯНИЕ КОЛИЧЕСТВА ИНОКУЛЯТА НА СИНТЕЗ БИОМАССЫ *FUSARIUM SAMBUCINUM* ШТ. D-104 – ПРОДУЦЕНТОМ МИКОПРОТЕИНА
Неманова Е.О., Горшина Е.С., Русинова Т.В., Бирюков В.В. 434

EFFECT OF INOCULUM VOLUME ON BIOMASS SYNTHESIS BY MYCOPROTEIN STRAIN *FUSARIUM SAMBUCINUM* D-104
E.O. Nemanova, E.S. Gorshina, T.V. Rusinova, V.V. Biryukov 435

СПОСОБ СУШКИ С СОХРАНЕНИЕМ БИОЛОГИЧЕСКИ – АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В СОСТАВЕ ПЛОДОВ ШИПОВНИКА
Норкулова К.Т., Сафаров Ж.Э., Жумаев Б.М. 435

THE METHOD OF DRYING THE CONSERVATION OF BIOLOGICAL -ACTIVE SUBSTANCES IN ROSE HIPS
Narkulova K.T., Safarov J.E., Jumaev B.M. 436

ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ФЕРМЕНТОЛИЗАТОВ ВСР БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДСТВ КАК КОМПОНЕНТОВ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ
Поляков В.А., Римарева Л.В., Серба Е.М., Погоржельская Н.С., Рачков К.В. 437

THE STUDY OF STRUCTURAL-FUNCTIONAL PROPERTIES OF FERMENTOLIZATE RECYCLABLE MATERIALS OF BIOTECHNOLOGY INDUSTRIES AS COMPONENTS OF FUNCTIONAL FOODS
Polyakov V.A., Rimareva L.V., Serba E.M., Pogorgelskaya N.S., RachkovK.V. 438

БИОКОНСЕРВАНТЫ НА ОСНОВЕ ПРОБИОТИЧЕСКИХ КУЛЬТУР В ТЕХНОЛОГИЯХ ПЕРЕРАБОТКИ И ХРАНЕНИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ПРОДУКЦИИ
Поляков В.А., Волкова Г.С., Куксова Е.В. 438

BIOPRESERVATIVES ON THE BASIS OF PRO-BIOTIC CULTURES IN TECHNOLOGIES OF PROCESSING AND STORAGE OF AGRICULTURAL PRODUCTION
Polyakov V.A., Volkova G.S., Kuksova E.V. 439

МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ПОДСЛАСТИТЕЛЕЙ В ВОДКАХ С ПРИМЕНЕНИЕМ ИОННОЙ ХРОМАТОГРАФИИ
Поляков В.А., Абрамова И.М., Медриш М.Э., Павленко С.В., Сняткова Д.А. 440

METHOD OF DETERMINATION OF SWEETENERS IN VODKA USING ION CHROMATOGRAPHY
Polyakov V.A., Abramova I.M., Medrish M.E., Pavlenko S.V., Snyatkova D.A. 440

ИММУНОФЕРМЕНТНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ХЛОРАМФЕНИКОЛА В КАЗЕИНЕ: СПОСОБЫ ПРОБОПОДГОТОВКИ И АНАЛИТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ
Позняк Т.А., Вашкевич И.И., Свиридов О.В. 441

A CHLORAMPHENICOL ENZYME IMMUNOASSAY IN KASEIN: METHODS FOR SAMPLE PREPARATION AND ANALYTICAL PARAMETERS
Poznyak, T.A., Vashkevich, I.I., Sviridov, O.V. 442

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛОЧНОКИСЛЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ С ПРОТИВОГРИБКОВОЙ АКТИВНОСТЬЮ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ПРОДУКТОВ ЗДОРОВОГО ПИТАНИЯ
Саубенова М.Г., Кузнецова Т.В., Халымбетова А.Е., Айтжанова А.А. 442

USAGE OF LACTIC ACID MICROORGANISMS WITH ANTIFUNGAL ACTIVITY TO PRODUCE A HEALTHY FOOD
Saubenova M.G., Kuznetsova T.V., Khalymbetova A.E., Aytzhanova A.A. 443

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА И БЕЗОПАСНОСТИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОГО СЫРЬЯ И ПРОДУКТОВ ЕГО ПЕРЕРАБОТКИ
Шелехова Н.В., Поляков В.А., Римарева Л.В. 444

MODERN METHODS FOR QUALITY AND SAFETY CONTROL OF AGRICULTURAL RAW MATERIALS AND PRODUCTS OF ITS PROCESSING
Shelekhova N.V., Polyakov V.A., Rimareva L.V. 444

АВТОМАТИЗАЦИЯ ВЕДЕНИЯ ВНУТРИЛАБОРАТОРНОГО КОНТРОЛЯ ИЗМЕРЕНИЙ ПРИ РЕАЛИЗАЦИИ СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДОВ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА И БЕЗОПАСНОСТИ АЛКОГОЛЬНОЙ ПРОДУКЦИИ
Шелехова Н.В., Поляков В.А.. 445

AUTOMATION LABORATORY CONTROL MEASUREMENTS DURING THE THE USE OF MODERN METHODS OF QUALITY AND SAFETY CONTROL OF ALCOHOL PRODUCTS
Shelekhova N.V., Polyakov V.A.. 446

ПРИМЕНЕНИЕ СУХОЙ ЗЕРНОВОЙ БАРДЫ НА ПИЩЕВЫЕ ЦЕЛИ В КАЧЕСТВЕ ИСТОЧНИКА ПИЩЕВОЙ КЛЕТЧАКИ, ОБОГАЩЕННОЙ ВИТАМИНАМИ И АМИНОКИСЛОТАМИ
Туршатов М.В., Соловьев А.О.. 446

USE OF DRY GRAIN STILLAGE FOR FOOD PURPOSES AS A SOURCE OF FOOD FIBER ENRICHED WITH VITAMINS AND AMINO ACIDS
Turshatov M., Solovyov A. 447

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА СПОСОБОВ ПОЛУЧЕНИЯ ОЛИГОСАХАРИДОВ ИЗ ДРЕВЕСИНЫ
Волкова В.В., Канарский А.В. 448

COMPARATIVE EVALUATION OF METHODS FOR THE PREPARATION OF OLIGOSACCHARIDES FROM WOOD
Volkova V.V., Kanarskiy A.V. 448

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ОЦЕНКИ БЕЛКОВЫХ МАКРОМОЛЕКУЛ В ПРОДУКТАХ, ПРОШЕДШИХ ГИДРОЛИЗ И БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ РЕЖИМЫ ОБРАБОТКИ
Юрова Е.А., Харитонов В.Д., Жижин Н.А., Кобзева Т.В. 449

THE DEVELOPMENT OF THE METHOD AIMED AT EVALUATION OF PROTEIN MACROMOLECULES IN HYDROLYSES – TESTED PRODUCTS AND BIOTECHNOLOGICAL REGIMES OF TREATMENT
Yurova E.A., Kharitonov V.D., Zhizhin N.A., Kobzeva T.V. 450

ДЛЯ ЗАМЕТОК
FOR NOTES

ДЛЯ ЗАМЕТОК
FOR NOTES

ДЛЯ ЗАМЕТОК
FOR NOTES

BIO ТЕХНОЛОГИИ

РОССИЯ 15-17 марта 2016 г. МОСКВА

Под патронажем
Правительства Москвы

МЕЖДУНАРОДНАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ

БИОТЕХНОЛОГИЯ

МЕДИЦИНЕ И ФАРМАКОЛОГИИ

XIV МЕЖДУНАРОДНАЯ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННАЯ ВЫСТАВКА

МИР БИОТЕХНОЛОГИИ'2016

ТЕМАТИКА ВЫСТАВКИ:

Процессы и аппараты для биотехнологических производств и лабораторных исследований. Лабораторно-аналитическое оборудование и биоаналитические комплексы. Весь спектр биопродуктов для фармацевтической и пищевой промышленностей, АПК, ветеринарии, геологии, промышленных производств, а также биоагенты для охраны и восстановления окружающей среды. Биологически-активные добавки. Тест-системы для определения алкоголя и наркотических веществ. Биокатализ и биокаталитические технологии. Питательные среды. Биопрепараты для медицины и косметологии, а также готовые продукты на их основе. Альтернативные источники энергии, в т.ч. солнечные, ветровые, геотермальные, нано-молекулярные преобразователи энергии. Промышленная и лабораторная безопасность.

ПРИГЛАШАЕМ ПРИНЯТЬ УЧАСТИЕ !!!

ЭКСПО-БИОХИМ-ТЕХНОЛОГИИ
EXPO-BIOCHIM-TECHNOLOGIES

КОНТАКТЫ:
Тел./факс: +7 (495) 645-78-70, 645-82-57, 939-72-85
E-mail: lpkrylova@sky.chph.ras.ru, atv@biomos.ru, ser@biomos.ru
Internet: www.mosbiotechworld.ru

ИНФОРМАЦИОННАЯ ПОДДЕРЖКА:
INFORMATION SUPPORT:

КОНТАКТЫ:
CONTACTS:
Tel./fax: +7 (495) 645 78 70, 645 82 57
Tel.: +7 (495) 939 72 85
E-mail: Aleshnikova@mosbiotechwold.ru, atv@biomos.ru, lpkrylova@sky.chph.ras.ru
Internet: www.mosbiotechworld.ru

ЭКСПО-БИОХИМ-ТЕХНОЛОГИИ
EXPO-BIOCHIM-TECHNOLOGIES