

МАТЕРИАЛЫ КОНГРЕССА | ЧАСТЬ 1

VI МОСКОВСКИЙ МЕЖДУНАРОДНЫЙ КОНГРЕСС
БИОТЕХНОЛОГИЯ:
СОСТОЯНИЕ
И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ

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



Под патронатом
Правительства Москвы



Under the patronage
of Moscow Government

21 - 25 марта

2011

March, 21 - 25

BIO
ТЕХНОЛОГИИ

СПОНСОР КОНГРЕССА



SPONSOR OF THE CONGRESS

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

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

CONGRESS PROCEEDINGS | PART 1

УДК 663.1+579+577.1
ББК 28.072
Б63

**VI МОСКОВСКИЙ МЕЖДУНАРОДНЫЙ КОНГРЕСС
«БИОТЕХНОЛОГИЯ: СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ»**

материалы VI Московского международного конгресса, часть 1 (Москва, 21-25 марта, 2011 г.)
М.: ЗАО «Экспо-биохим-технологии», РХТУ им. Д.И. Менделеева,
2011 – 496 с.

ISBN 5-7237-0372-2

УДК 663.1+579+577.1
ББК 28.072

ISBN 5-7237-0372-2

Настоящие материалы конгресса созданы в ООО «Экспо-консалтинг» на основании информации, предоставленной организаторами, экспонентами и рекламодателями выставки и конгресса.
Заказчик: © 2011 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.

**VI MOSCOW INTERNATIONAL CONGRESS
BIOTECHNOLOGY: STATE OF THE ART & PROSPECT OF DEVELOPMENT**

Proceedings of the VI Moscow International Congress, part 1 (March 21-25, 2011, Moscow, Russia)
Moscow: JSC “Expo-biochem-technologies”, D.I. Mendeleyev University
of Chemistry and Technology of Russia,
2011 – 496 p.

ISBN 5-7237-0372-2

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: © 2011 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 AND EXHIBITION ARE:

Правительство Москвы
 Российская академия наук
 Министерство образования и науки Российской Федерации
 Министерство промышленности и торговли Российской Федерации
 Министерство сельского хозяйства Российской Федерации
 Торгово-промышленная палата Российской Федерации
 Российская академия медицинских наук
 Российская академия сельскохозяйственных наук
 Российский фонд фундаментальных исследований
 Российский союз химиков
 ЗАО «Экспо-биохим-технологии»
 Government of Moscow
 Russian Academy of Sciences
 Ministry of Education and Science of the Russian Federation
 Ministry of Industry and Trade of the Russian Federation
 Ministry of Agriculture of the Russian Federation
 Russian Academy of Medical Sciences
 Russian Academy of Agricultural Sciences
 Russian Fund of Fundamental Researches,
 Chamber of Trade and Commerce of the Russian Federation
 Russian Union of Chemists,
 JSC Expo-Biochim-Technologies

ОРГАНИЗАЦИИ, СОДЕЙСТВУЮЩИЕ ПОДГОТОВКЕ КОНГРЕССА И ВЫСТАВКИ: SUPPORTERS:

Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева
 Институт биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН
 ГУ Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАМН
 Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН
 МГУ имени М.В. Ломоносова (химический и биологический факультеты, факультет почвоведения)
 МИТХТ им. М.В. Ломоносова
 МГУ прикладной биотехнологии
 Московский государственный университет инженерной экологии
 Всероссийский институт лекарственных растений (ВИЛАР)
 ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии Россельхозакадемии, г. Санкт-Петербург
 ВНИИ сельскохозяйственной биотехнологии Россельхозакадемии
 ГУ НИИ питания РАМН
 РОАО «Росагробпропром»
 ЗАО «ШАГ»
 ЗАО «Нанотехнология МДТ»
 ООО «ИММУНОФАРМ»
 Деловой Совет Средне-Атлантических штатов Америки и России
 D. Mendeleev University of Chemical Technology of Russia
 M.M. Shemyakin and Yu.M. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, RAS
 Institute of Biomedical Chemistry of the Russian Academy of Medical Sciences
 N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics of the Russian Academy of Sciences
 Chemistry Faculty, Biology Faculty, Soil Science Faculty of M.V. Lomonosov Moscow State University
 M.V. Lomonosov Moscow State Academy of Fine Chemical Technology
 Moscow State University of Applied Biotechnology
 Moscow State University of the Engineering Ecology
 Biomedical Technologies Center
 All-Russian Scientific Research Institute of Agricultural Microbiology of the RAAS, St.-Petersburg
 All-Russian Scientific Research Institute of Agricultural Biotechnology of the RAAS
 Research Institute of Nutrition of the Academy of Medical Sciences
 ROAO "Rosagrobioprom"
 "Nanotechnology MDT" Co.
 ZAO "Shag"
 "Immunopharm" Co
 Mid-Atlantic-Russia Business Council



Участникам, организаторам и гостям VI Московского международного конгресса «Биотехнология: состояние и перспективы развития» и IX Международной специализированной выставки «Мир биотехнологии-2011»

Организационный комитет конгресса и выставки приветствует участников, организаторов и гостей VI Московского международного конгресса «Биотехнология: состояние и перспективы развития» и IX Международной специализированной выставки «Мир биотехнологии-2011».

Проведенные в 2002-2010 годах пять международных конгрессов «Биотехнология: состояние и перспективы развития», а также международные конференции «Биотехнология и медицина», «Биотехнология. Вода и пищевые продукты», «Биотехнология: экология крупных городов» и восемь международных выставок «Мир биотехнологии» вызвали широкий резонанс в мировом научно-техническом и деловом сообществе показав на необходимость регулярного проведения широкомасштабных международных научных форумов по различным направлениям биотехнологии.

Глобальные проблемы, которые стоят перед мировым сообществом: рост численности населения, истощение жизненно важных ресурсов, оскудение биологического разнообразия, загрязнение окружающей среды, процессы изменения климата - эти вызовы современности практически невозможно решить без применения биологических технологий.

Кризисные явления, которые мы сегодня имеем характеризуется не только финансовыми и экономическими показателями, они носят системный характер, поэтому необходимо менять развитие общества т.е. переходить на принцип перманентной экономии, что в свою очередь позволит прийти к устойчивому развитию экономики.

Расчеты ученых показывают, что к 2030 году мировая экономика будет получать порядка 35 процентов химической продукции, 80 процентов лекарственных средств, 50 процентов сельхозпродукции при использовании только биотехнологии. В мире идут процессы формирования биоэтики, нового мироустройства. Заявленные на конгресс доклады в значительной степени пополняют уровень научных знаний «живых систем». Приятно осознавать, что значительная часть последних открытий совершена сотрудниками учреждений РАН, РАМН, РАСХН, коллективами высших учебных заведений, предприятий и организаций частного капитала.

В рамках конгресса традиционно будет проводиться конкурс молодых ученых, на который представлено более 130 научных работ. Среди участников студенты, аспиранты, научные сотрудники, в том числе молодые доктора наук, что свидетельствует о высоком уровне подготовки высококвалифицированных кадров для биотехнологической науки и промышленности.

Мы с удовлетворением отмечаем высокий уровень актуальных проблем, которые будут обсуждаться на пленарном заседании посвященного фундаментальным исследованиям в биотехнологии - это и проблемы: «Протеом человека», «Терапевтические нуклеиновые кислоты: молекулярные мишени и технологии», «Системная биология: интеграция экспериментальных и компьютерных подходов» и другие важнейшие проблемы современной биологической технологии. Важной частью конгресса являются вопросы биобезопасности и биоэтики, которые, безусловно, привлекут внимание российской и мировой научной и деловой общественности.

Уверены, что предоставленные на выставке экспонаты позволят посетителям получить объективное представление о новых отечественных и зарубежных достижениях в области биотехнологии.

Участие в этом важном научно-практическом форуме отечественных и зарубежных ученых специалистов, представителей государственных структур, финансовых кругов и бизнеса должно послужить установлению новых научных и деловых контактов, дать положительный стимул для эффективной инновационной деятельности. Желаем успешной работы Конгресса и выставки, творческих успехов, здоровья и счастья всем участникам форума.

Организационный комитет VI Московского международного конгресса
«Биотехнология: состояние и перспективы развития»
и IX Международной специализированной выставки «Мир биотехнологии-2011»



To participants, organizers and guests of the VI Moscow International Congress “Biotechnology: State of the Art and Prospects of Development” and the XI International Specialized Exhibition “Biotech World-2011”

Organizing Committee of the Congress and Exhibition greets all the participants, organizers and guests of the VI Moscow International Congress “Biotechnology: State of the Art and Prospects of Development” and the IX International Specialized Exhibition “Biotech World – 2011”.

V international congresses “Biotechnology: State of the Art and Prospects of Development” as well as international conferences “Biotechnology and medicine”, “Biotechnology. Water and food stuff”, “Biotechnology: ecology of big cities” and VIII international exhibitions “Biotech World” held in 2002-2010 have caused a wide response in scientific and business communities showing the essentiality of regular holding large-scale international scientific forums on various branches of biotechnology.

Global problems the world community faces with: increase in population, depletion of vital resources, impoverishment of biological diversity, environment pollution, climate change processes – all these challenges to our times can not be solved without application of biological technologies.

Recessionary trends we are seeing nowadays are defined not only by financial and economic factors but they are systematic and require change of society development i.e. it is necessary to apply the principle of permanent economy cut that enables to come to stable development of economy.

Estimations of scientists show that by 2030 year the global economy will get about 35 % of chemical production, 80 % of pharmaceuticals, 50 % of agricultural production using only biotechnology. There are processes of forming of bioethics and new world order. Reports submitted for the congress will considerably supplement the level of scientific knowledge of “living systems”. It is pleasant to know that significant part of recent developments was performed by members of institutions of the RAS, RAMS, RAAS, staffs of higher educational institutions, enterprises and private fund entities.

The contest of young scientists will be held as part of the congress where over 130 scientific efforts are presented. Students, post-graduate students, research assistants including young doctors of sciences are among the participants of contest; this fact indicates high level of training of skilled personnel for biotechnological science and industry.

We are glad to note a high level of urgent problems to be discussed at plenary session concerning basic researches in biotechnology. These are: “Human proteom”, “Therapeutic nucleic acids: molecular targets and technologies”, “System biology: integration of experimental and computer-aided approaches” and other key problems of present biological technology. Issues on bio-safety and bioethics are the substantial part of the congress that will capture attention of Russian and global scientific and business communities.

We are sure that exhibits presented at the exhibition will provide fair presentation on the new national and foreign achievements in biotechnology.

Participation of national and foreign scientists, experts, government representatives, financial and business communities in this scientific and effect-oriented forum will promote setting new scientific and business contacts, give positive challenge for efficient innovation activity.

With wishes of success in participation in the Congress and Exhibition, success in creative work, health and happiness to all the participants.

Organizing Committee of the VI Moscow International Congress
“Biotechnology: State of the Art and Prospects of Development”
and the XI International Specialized Exhibition “Biotech World-2011”

ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ

Саркисов Павел Джибраелович	академик Российской академии наук, президент Российского химико-технологического университета им. Д.И. Менделеева, президент Российского химического общества им. Д.И. Менделеева, сопредседатель Оргкомитета
Петров Рэм Викторович	академик Российской академии наук, Советник Российской академии наук, председатель Программного комитета
Алешников Владимир Евгеньевич	генеральный директор ЗАО «Экспо-биохим-технологии», ответственный секретарь Оргкомитета
Арчаков Александр Иванович	академик РАМН, директор института биомедицинской химии РАМН
Балашов Евгений Борисович	руководитель Департамента науки и промышленной политики города Москвы
Быков Валерий Алексеевич	академик РАМН и РАСХН, член Президиума РАМН, директор Всероссийского института лекарственных растений, сопредседатель Программного комитета
Григорьев Анатолий Иванович	директор ГНЦ РФ Института медико-биологических проблем РАН (ИМПБ), Вице-президент РАН
Егоров Алексей Михайлович	академик РАМН, профессор МГУ им. М.В. Ломоносова
Иванов Вадим Тихонович	академик РАН, член Президиума РАН, директор Института биоорганической химии им. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН
Иванов Виктор Петрович	Президент Российского союза химиков
Кирпичников Михаил Петрович	академик РАН, декан биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, член Президиума РАН, Председатель ВАК
Крюков Сергей Вениаминович	к.т.н., Председатель Совета Директоров РОАО «Росагробпропром»
Лисицын Андрей Борисович	академик РАСХН, вице-президент РАСХН, директор ГНУ ВНИИМП им. В.М.Горбатова Россельхозакадемии
Мазуренко Сергей Николаевич	Заместитель министра образования и науки Российской Федерации
Москвин-Тарханов Михаил Иванович	депутат Мосгордумы
Рогов Иосиф Александрович	академик РАСХН, президент Московского государственного университета прикладной биотехнологии
Рототаев Дмитрий Александрович	профессор, генеральный директор ОАО «Московский комитет по науке и технологиям»
Свердлов Евгений Давидович	академик РАН, директор Института молекулярной генетики РАН
Скрябин Константин Георгиевич	академик РАН и РАСХН, директор Центра «Биоинженерия» РАН

Тихонович Игорь Анатольевич	академик РАСХН, директор ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии Россельхозакадемии, г. Санкт-Петербург
Тутельян Виктор Александрович	академик РАМН, директор НИИ питания РАМН
Эрнст Лев Константинович	академик РАСХН, вице-президент Российской академии сельскохозяйственных наук
Хайтов Рахим Мусаевич	академик РАН и РАМН, директор ГНЦ РФ Института иммунологии Федерального Медико-биологического Агентства
Харченко Петр Николаевич	член-корр. РАСХН, директор Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной биотехнологии Россельхозакадемии

ORGANIZING COMMITTEE

Pavel J. Sarkisov	Academician of the Russian Academy of Sciences, Rector of D.I. Mendeleev University of Chemistry and Technology of Russia, President of the D.I. Mendeleev Russian Chemists Union, <i>Co-Chairman</i>
Rem V. Petrov	Academician of the Russian Academy of Sciences, Adviser of the Russian Academy of Sciences, <i>Chairman of the Programme Committee</i>
Evgeny B. Balashov	Head of the Department of Moscow Science and Industrial Policy Department
Sergey N. Mazurenko	Deputy Minister of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation of
Vladimir E. Aleshnikov	General Director of JSC "Expo-biochem-technologies", <i>Executive Secretary of the Organizing Committee</i>
Alexander I. Archakov	Academician of the Russian Academy of Medical Sciences, Director of the Institute of Biomedical Chemistry of the RAMS
Valery A. Bykov	Academician of the Russian Academy of Medical Sciences, Academician of the Russian Academy of Agricultural Sciences, GE Scientific and Research Institute of Biomedical Chemistry of the RAMSBiomedical Technologies Center
Aleksei M. Egorov	Academician of the Russian Academy of Medical Sciences, M.V. Lomonosov Moscow State University
Vadim T. Ivanov	Academician of the Russian Academy of Sciences, Director of M.M. Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences
Victor P. Ivanov	President of Russian Union Chemists
Mikhail P. Kirpichnikov	Academician of the Russian Academy of Sciences, M.V. Lomonosov Moscow State University, a Member of the Russian Academy of Sciences Presidium
Sergey V. Krukov	Professor, The Chairman of the Committee of Directors ROAO "Rosagrobioprom"

Dmitry A. Rototaev	Professor, General Director of the Moscow Committee for Science and Technology
Anatoly I. Grigor'ev	Academician of the Russian Academy of Sciences, Secretary of the Biology Department of the Russian Academy of Sciences
Andrey B. Lisitsyn	Academician of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Vice- President of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Director of VNIIMP
Iosif A. Rogov	Academician of the Russian Academy of Agricultural Sciences, President of the Moscow State University of Applied Biotechnology
Evgeny D. Sverdlov	Academician of the Russian Academy of Sciences, Director of Molecular Genetics Institute of the Russian Academy of Sciences
Konstantin G. Skryabin	Academician of the Russian Academy of Sciences, Academician of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Director of Center «Bioengineering» of the Russian Academy of Sciences
Igor A. Tikhonovich	Academician of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Director of All-Russia Research Institute Agricultural Microbiology RAAS
Victor A. Tutelyan	Academician of the Russian Academy of Medical Sciences, Chief Academic Secretary of the Russian Academy of Medical Sciences Presidium, Director of Research Institute of Nutrition of the Russian Academy of Medical Sciences
Lev K. Ernst	Academician of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Vice-President of the Russian Academy of Agricultural Sciences
Rakhim M. Khaitov	Academician of the Russian Academy of Sciences, Academician of the Russian Academy of Medical Sciences, Director of Institute of Immunology of Health Care Ministry of the Russian Federation
Mikhail Moskvina-Tarkhanov	Deputy of Moscow Municipal Duma
Petr N. Kharchenko	Corresponding Member of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Director of the All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology RAAS

СОСТАВ ПРОГРАММНОГО КОМИТЕТА

Петров Рэм Викторович	академик Российской академии наук, советник Российской академии наук, <i>председатель</i>
Быков Валерий Алексеевич	академик РАМН и РАСХН, директор Института ВИЛАР, <i>сопредседатель</i>
Арчаков Александр Иванович	академик РАМН, директор Института биомедицинской химии РАМН
Алешников Владимир Евгеньевич	генеральный директор ЗАО “Экспо-биохим-технологии”, <i>ответственный секретарь Оргкомитета</i>
Балашов Евгений Борисович	руководитель Департамента науки и промышленной политики города Москвы
Баранов Дмитрий Анатольевич	профессор, ректор МГУ инженерной экологии
Варфоломеев Сергей Дмитриевич	член-корр. РАН, директор Института биохимической физики имени Н.М. Эмануэля РАН
Габибов Александр Габибович	член-корр. РАН, зав.отделом, Учреждение Российской Академии Наук Институт биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН
Глазко Валерий Иванович	профессор, академик РАСХН (иностраный член), Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева
Градова Нина Борисовна	профессор РХТУ им. Д.И. Менделеева
Егоров Алексей Михайлович	академик РАМН, профессор МГУ им. М.В. Ломоносова
Жариков Геннадий Алексеевич	профессор, ФГУН НИЦ токсикологии и гигиенической регламентации биопрепаратов Федерального медико-биологического агентства Российской Федерации
Завриев Сергей Кириакович	член-корр. РАСХН, зав. отделом, Учреждение Российской Академии Наук Институт биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН
Иванов Вадим Тихонович	академик РАН, директор Учреждение Российской Академии Наук Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН
Иванов Михаил Владимирович	академик РАН, зав.отделом Института микробиологии РАН
Колесников Владимир Александрович	д.т.н., профессор, ректор РХТУ имени Д.И. Менделеева
Красильников Игорь Викторович	профессор, ФГУП НПО «Микроген»
Кирпичников Михаил Петрович	академик РАН, декан биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, член Президиума РАН, Председатель ВАК

Колчанов Николай Александрович	академик РАН, директор Института цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск
Кочетков Сергей Николаевич	член-корр. РАН, зав. лабораторией энзимологии Института молекулярной биологии им. В.А.Энгельгардта РАН
Крюков Сергей Вениаминович	к.т.н., председатель Совета Директоров РОАО «Росагробропром»
Коган Вэл	президент, Деловой Совет Среднеатлантических штатов Америки и России
Луценко Сергей Викторович	д.б.н., профессор, генеральный директор Автономной некоммерческой организации «Научно-технический центр «ФАРМБИОПРЕСС»
Мартынов Александр Игоревич	к.м.н., Первый заместитель директора ГНЦ РФ «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства
Мирошников Анатолий Иванович	академик РАН, зам. директора Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Председатель научного Совета Пущинского научного центра РАН
Нетесов Сергей Викторович	член-корр. РАН, проректор по научной работе Новосибирского Государственного Университета
Овчинникова Татьяна Владимировна	профессор, руководитель Научно-учебного центра Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, <i>сопредседатель конкурса молодых ученых</i>
Панфилов Виктор Иванович	профессор, проректор РХТУ имени Д.И. Менделеева
Поройков Владимир Васильевич	профессор, заведующий отделом биоинформатики Института биомедицинской химии В.Н. Ореховича РАН
Рогов Иосиф Александрович	академик РАСХН, президент Московского государственного университета прикладной биотехнологии
Северин Евгений Сергеевич	член-корр. РАН, генеральный директор ВНИЦ молекулярной диагностики и лечения
Седельникова Галина Васильевна	профессор, заместитель директора Центрального научно-исследовательского геологоразведочного института цветных и благородных металлов
Систер Владимир Григорьевич	член-корр. РАН, зав. кафедрой МГУ инженерной экологии
Скрябин Константин Георгиевич	академик РАН и РАСХН, директор Центра «Биоинженерия» РАН
Тихонович Игорь Анатольевич	академик РАСХН, директор Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной микробиологии Россельхозакадемии, г. Санкт-Петербург
Тутельян Виктор Александрович	академик РАН, директор Института питания РАН

Ткачук Всеволод Арсеньевич	академик РАН и РАМН, декан факультета фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова
Хаитов Рахим Мусаевич	академик РАН и РАМН, директор ГНЦ РФ «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства РФ
Харитонов Владимир Дмитриевич	академик РАСХН, директор ГНУ ВНИИ молочной промышленности Россельхозакадемии
Харченко Петр Николаевич	член-корр. РАСХН, директор Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной биотехнологии Россельхозакадемии
Фролова Алла Константиновна	профессор, ректор МИТХТ им. М.В. Ломоносова
Цыганов Дмитрий Игоревич	профессор, заместитель руководителя Департамента науки и промышленной политики г. Москвы
Чоманов Урузбек Чоманович	академик НАН Республики Казахстан, зам.директора НПЦ перерабатывающей и пищевой промышленности при Министерстве сельского хозяйства РК, гл.ученый секретарь НАН республики Казахстан
Швец Виталий Иванович	академик РАМН, зав.кафедрой биотехнологии и бионанотехнологии МИТХТ им. М.В. Ломоносова, <i>председатель конкурса молодых ученых</i>
Шевелуха Виктор Степанович	академик РАСХН, профессор Российского государственного аграрного университета - МСХА им. К.А.Тимирязева
Шоба Сергей Алексеевич	член-корр. РАН, декан факультета почвоведения МГУ имени М.В. Ломоносова
Эрнст Лев Константинович	академик РАСХН, вице-президент Россельхозакадемии
Яненко Александр Степанович	д.б.н., зам. директора ФГУП ГНЦ ГосНИИгенетика

PROGRAMME COMMITTEE

Rem V. Petrov	Academician of the Russian Academy of Sciences, Adviser of the Russian Academy of Sciences, Chairman
Alexander I. Archakov	Academician of the Russian Academy of Medical Sciences, Director of the Institute of Biomedical Chemistry of the RAMS
Valery A. Bykov	Academician of the Russian Academy of Medical Sciences, Academician of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Director of the Biomedical Technologies Center, Co-Chairman
Vladimir E. Aleshnikov	General Director of JSC «Expo-biochem-technologies», Executive Secretary of the Organizing Committee
Evgeny B. Balashov	Head of the Department of Moscow Science and Industrial Policy Department
Dmitry A. Baranov	Professor, Rector of the Moscow State University of the Engineering Ecology

Alla K. Frolkova	Professor, Rector of M.V. Lomonosov Moscow State Academy of Fine Chemical Technology
Ururbek Ch.Chomanov	Academician of the NAN, Kazakhstan
Aleksei M. Egorov	Academician of the Russian Academy of Medical Sciences, M.V. Lomonosov Moscow State University
Lev K. Ernst	Academician of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Vice-President of the Russian Academy of Agricultural Sciences
Alexander A. Gabibov	Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Institute of Microbiology of the Russian Academy of Sciences
Valeriy I. Glazko	Professor, Russian State Agrarian University - Moscow Agricultural Academy named after K.A. Timiryazev
Nina B. Gradova	Professor, D. Mendeleev University of Chemical Technology of Russia
Vadim T. Ivanov	Academician of the Russian Academy of Sciences, Director of M.M. Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences
Mikhail P. Kirpichnikov	Academician of the Russian Academy of Sciences, M.V. Lomonosov Moscow State University
Vladimir A. Kolesnikov	Professor, Rector of D. Mendeleev University of Chemical Technology of Russia
Igor V. Krasilnikov	Professor, the NPO "Microgen"
Rakhim M. Khaitov	Academician of the Russian Academy of Sciences, Academician of the Russian Academy of Medical Sciences, Director of Institute of Immunology of Health Care Ministry of the Russian Federation
Vladimir D. Kharitonov	Academician of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Director of the All-Russia Research Institute of Milk Industry of the Russian Academy of Agricultural Sciences
Petr N. Kharchenko	Corresponding Member of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Director of the All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology RAAS
Nikolay A. Kolchanov	Academician of the Russian Academy of Sciences, Director of the Institute of Cytology and Genetics of the RAS Siberian Branch, Novosibirsk
S.V. Krukov	Professor, The Chairman of the Committee of Directors ROAO "Rosagrobioprom"
Val Kogan	President, Mid-Atlantic-Russian Business Council
Sergey V. Lutsenko	Professor, General Director of "Farmbiopress"
Alexander I. Martynov	Professor, Deputy Director of Institute of Immunology of Health Care Ministry of the Russian Federation
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
Sergey V. Netesov	Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, pro-rector of the Novosibirsk State University

Tatiana V. Ovchinnikova	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, <i>Vice-Chairman of the Contest of Young Scientists</i>
Viktor I. Panfilov	Professor, Pro-rector of D.I. Mendeleyev University of Chemical Technology of Russia
Vladimir V. Poroikov	Professor, GE Scientific and Research Institute of Biomedical Chemistry of the RAMS
Iosif A. Rogov	Academician of the Russian Academy of Agricultural Sciences, President of the Moscow State University of Applied Biotechnology
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	Professor, Deputy Director of the Central Research Institute of Geological Prospecting for Base and Precious Metals
Vitaliy I. Shvets	Academician of the Russian Academy of Medical Sciences, <i>Chairman of the Contest of Young Scientists</i>
Victor S. Shevelukha	Academician of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Russian State Agrarian University - Moscow Agricultural Academy named after K.A. Timiryazev
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
Konstantin G. Skryabin	Academician of the Russian Academy of Sciences, Academician of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Director of Center "Bioengineering" of the Russian Academy of Sciences
Igor A. Tikhonovich	Academician of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Director of the All-Russia Research Institute of Agricultural Microbiology of the Russian Academy of Agricultural Sciences
Vsevolod A. Tkachuk	Academician of the Russian Academy of Medical Sciences, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Dean of the Fundamental Medicine Faculty, M.V. Lomonosov Moscow State University
Dmitry I. Tsyganov	Professor, Deputy Head of Moscow Science and Industrial Policy Department
Victor A. Tutelyan	Academician of the Russian Academy of Medical Sciences, Director of the Research Institute of Nutrition of the Academy of Medical Sciences Pre-sidium
Sergey D. Varfolomeyev	Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director of N.M. Emmanuel Institute of Biochemical Physics
Alexandr S. Yanenko	Professor, Deputy Director of the State Research Institute of Genetics and Selection of Industrial Microorganisms
Sergey K. Zavriev	Corresponding Member of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Institute of Microbiology of the Russian Academy of Sciences
Gennady A. Zharikov	Professor of Research Center of Toxicology and Hygienic Regulation of Biologicals of the Russian Federation Health Care Ministry

СОСТАВ КОНКУРСНОЙ КОМИССИИ КОНКУРСА МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ

Сопредседатели конкурсной комиссии:

Швец Виталий Иванович, академик РАН, заведующий кафедрой биотехнологии МИТХТ им. М.В. Ломоносова

Овчинникова Татьяна Владимировна, профессор ММА им. И.М. Сеченова, руководитель Учебно-научного центра ИБХ им.академиков М.М.Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН

Члены конкурсной комиссии:

Арчаков Александр Иванович, академик РАН, директор ГУ НИИ биомедицинской химии РАН

Варфоломеев Сергей Дмитриевич, член-корр. РАН, директор Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН

Градова Нина Борисовна, профессор РХТУ им. Д.И. Менделеева

Дзантиев Борис Борисович, профессор, зам. директора Института биохимии им. А.Н. Баха РАН

Егоров Алексей Михайлович, академик РАН, профессор МГУ имени М.В.Ломоносова

Завриев Сергей Кириакович, член-корр. РАСХН, зав. отделом Института биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН

Калужный Сергей Владимирович, профессор, МГУ имени М.В. Ломоносова, ГК «Роснано»

Крюков Сергей Вениаминович, к.т.н., председатель Совета Директоров РАО «Росагропром»

Панфилов Виктор Иванович, профессор, проректор РХТУ им. Д.И. Менделеева

Поройков Владимир Васильевич, профессор, заведующий отделом биоинформатики Института биомедицинской химии В.Н. Ореховича РАН

Рогов Иосиф Александрович, академик РАСХН, президент Московского государственного университета прикладной биотехнологии

Седельникова Галина Васильевна, профессор, Центральный научно-исследовательский геологоразведочный институт цветных и благородных металлов

Титов Евгений Иванович, академик РАСХН, МГУ прикладной биотехнологии

Харченко Петр Николаевич, член-корр. РАСХН, директор ВНИИ СБ Россельхозакадемии

Цыганов Дмитрий Игоревич, профессор, зам. Руководителя Департамента науки и промышленной политики города Москвы

Чоманов Урузбек Чоманович, академик НАН РК, гл. ученый секретарь НАН РК, зам. директора НПЦ перерабатывающей и пищевой промышленности при министерстве сельского хозяйства Республики Казахстан

Яненко Александр Степанович, д.б.н., зам. директора ФГУП ГНЦ ГосНИИгенетика

Ученый секретарь комиссии:

Крылова Лариса Петровна, к.х.н., Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН



ПЛЕНАРНОЕ ЗАСЕДАНИЕ / «ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ» PLENARY SESSION / "FUNDAMENTAL RESEARCHES AND BIOTECHNOLOGY"	16
СЕКЦИЯ 1. «БИОТЕХНОЛОГИЯ И МЕДИЦИНА. НАУКА, ФАРМАЦЕВТИКА, ДИАГНОСТИКА» SECTION 1. "BIOTECHNOLOGY AND MEDICINE. SCIENCES, PHARMACEUTICAL INDUSTRY, DIAGNOSTIC"	24
СЕКЦИЯ 2. «ИММУННАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ» SECTION 2. "IMMUNE BIOTECHNOLOGY"	144
СЕКЦИЯ 3. «БИОТЕХНОЛОГИЯ И СЕЛЬСКОЕ ХОЗЯЙСТВО» SECTION 3. "BIOTECHNOLOGY AND AGRICULTURE"	153
СЕКЦИЯ 4. «БИОТЕХНОЛОГИЯ И ПРОМЫШЛЕННОСТЬ» SECTION 4. "BIOTECHNOLOGY AND INDUSTRY"	296
СЕКЦИЯ 5. «НАНОБИОТЕХНОЛОГИЯ» SECTION 5. "NANOBIOTECHNOLOGY"	406

ПЛЕНАРНОЕ ЗАСЕДАНИЕ PLENARY SESSION

«ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ» “FUNDAMENTAL RESEARCHES AND BIOTECHNOLOGY”

ПЛЕНАРНЫЕ ДОКЛАДЫ PLENARY REPORTS

МЕЖДУНАРОДНЫЙ ПРОЕКТ “ПРОТЕОМ ЧЕЛОВЕКА” И УЧАСТИЕ В НЕМ РОССИИ

Арчаков А.И.,

академик Российской академии медицинских наук (РАМН),

директор Института биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАМН, г. Москва, Россия

На прошедшем 20-23 сентября 2010 г. 9-ом Конгрессе Международной организации «Протеом человека» в ходе совещания под руководством проф. Гилберта Омена было принято решение о начале работ по международному проекту «Протеом человека». Определен список его участников, состоящий из восьми стран, включая Корею, Россию, США, Канаду, Швецию, Японию, Иран и Китай.

Для участия России в международном проекте подготовлена Дорожная карта (<http://www.proteome.ru/en/roadmap>). В настоящее время Россия занимает лидирующие позиции в геноцентричной идентификации белков, признанной основным инструментом реализации проекта. Пилотная фаза проекта продлится 3 года, и ее целью является идентификация основных (286) белков, кодируемых на хромосоме №18; основная фаза Проекта включает работы по идентификации модифицированных вариантов белков и будет реализована в течение 5 лет.

По рекомендации международного сообщества Дорожная карта проекта дополнена социально-медицинскими аспектами. Медицинская значимость проекта раскрыта через взаимосвязь между генами (белками) 18-й хромосомы и возникновением заболеваний, из которых наибольший интерес представляют опухолевые заболевания (колоректальный рак, рак молочной железы, рак легких и др.), аутоиммунные заболевания (болезнь Крона, ревматоидный артрит), нейродегенеративные и психические заболевания (болезнь Паркинсона, шизофрения и др.), а также сахарный диабет 1 типа и эссенциальная гипертензия.

Россия, по-видимому, впервые стоит у истоков такого международного проекта, который по масштабам превосходит хорошо известный проект «Геном человека». В результате выполнения этого проекта медицина, ориентированная на геном человека, должна стать медициной, ориентированной на протеом человека, что позволит реализовать идею персонифицированной медицины. С практической точки зрения участие в международном проекте обеспечит понимание современных исследовательских приоритетов и подходов в области протеомики человека что, в свою очередь, является залогом успешных российских разработок в области диагностики и лечения заболеваний.

INTERNATIONAL PROJECT «HUMAN PROTEOM» AND PARTICIPATION OF RUSSIA IN THE PROJECT

Archakov A. I.,

Academician of the Russian Academy of Medical Sciences (RAMS),

Director of the Institute of Biomedical Chemistry of the Russian Academy of Medical Sciences, Russia

During the conference conducted under the guidance of professor Gilbert Omen in the context of the 9-th Congress of International organization “Human proteom” held on September 20-23, 2010, it was decided to start work on international project “Human proteom”. There was determined the list of participants consisting of eight countries including Korea, Russia, USA, Canada, Sweden, Japan, Iran and China.

A roadmap was prepared for Russia to participate in international project (<http://www.proteome.ru/en/roadmap>). At present, Russia is leading in genocentric protein identification that is recognized as the prime means for project realization. Pilot stage will continue for 3 years and it is intended to identify basic (285) proteins encoded on №18 chromosome; major stage of the project includes work on identification of modified versions of proteins and will be fulfilled within 5 years.

Upon the recommendation of international community the Roadmap was supplemented by social and medical aspects. Medical value of the project is disclosed through correlation of genes (proteins) of 18th chromosome and contraction of diseases among which oncotic diseases are of greater concern (colorectal cancer, breast cancer, lung cancer and others), autoimmune diseases (Crohn's Coxsackie, rheumatoid arthritis), neurodegenerative and mental diseases (Parkinson's disease, parergasia and others), as well as insulin-dependent diabetes and essential hypertension.

Russia appears to be a pioneer in conducting such international project that outranks a well-known project “Human genom” in scale. As the consequence of this project medicine oriented on human genom must become medicine oriented on human proteom that should enable to perform the idea of personified medicine. In terms of practice the participation in international project will provide comprehension of advanced research priorities and approaches in human proteomics that, in its turn, is a passport to success of Russian developments in the sphere of diagnosis and treatment of diseases.

ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ НА ОСНОВЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Власов В. В.,

академик Российской академии наук (РАН),

директор Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,

г. Новосибирск, Россия

Создание технологий производства РНК, ДНК и их химически модифицированных аналогов открыло возможность разработки на их основе широкого спектра терапевтических препаратов.

Средства генотерапии, ДНК- и РНК- вакцины. Создание эффективных векторов для доставки нуклеиновых кислот в клетки открыло возможность разработки эффективных ДНК- и РНК- вакцин и средств генотерапии.

Антисмысловые олигонуклеотиды и интерферирующие РНК. Разработан широкий спектр олигонуклеотидных конъюгатов, несущих различные химические группы. Эти препараты способны подавлять экспрессию генов по антисмысловому механизму и по механизму РНК-интерференции. Наибольшие успехи достигнуты в разработке противовирусных и противоопухолевых препаратов на основе малых интерферирующих РНК.

Препараты, воздействующие на ДНК. ДНК- дуплексы, имитирующие регуляторные участки генов могут служить в качестве ингибиторов активности генов. Показана принципиальная возможность направленного воздействия на ДНК и возможность осуществления направленного мутагенеза с помощью олигонуклеотидных аналогов, образующих с ДНК комплексы повышенной прочности.

Аптамеры. Обладающие специфической трехмерной структурой олигонуклеотиды применяются в качестве избирательных ингибиторов белков и в качестве адресующих структур для доставки препаратов в определенные клетки.

Иммуномодуляторы. Идентифицирован ряд ДНК- и РНК- олигонуклеотидов, вызывающих в организме синтез интерферона и влияющих на развитие иммунных реакций. Они уже находят применение в качестве адъювантов и иммуномодуляторов.

Аннотация

Создание технологий производства олигонуклеотидов и полинуклеотидов: РНК, ДНК и их химически модифицированных аналогов открыла возможность разработки на их основе широкого спектра терапевтических препаратов. В их числе: иммуномодуляторы, ингибиторы ферментов, препараты для направленного мутагенеза, проовирусные и противоопухолевые препараты на основе интерферирующих РНК.

NUCLEIC ACID THERAPEUTIC AGENTS

Vlasov V. V.,

Academician of the Russian Academy of Sciences (RAS),

Director of Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of Siberian Department of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

Implementation of technologies for production of RNA, DNA and their chemically modified equivalents has offered scope for developing a wide range of therapeutic agents.

Gene therapy medicinal agents, DNA- and RNA-vaccine. Creation of efficient vectors for delivery of nucleic acids to cells has enabled to develop efficient DNA- and RNA-vaccines and gene therapy medical agents.

Antisense oligonucleotides and interfering RNA. The wide range of oligonucleotide conjugates carrying different chemical groups is developed. These agents can suppress gene expression by antisense mechanism and RNA-interference mechanism. Greatest success is achieved in development of antiviral and anticancer agents based on minor interfering RNA.

Agents acting on DNA. DNA-duplexes that are imitating regulatory site of genes can serve as gene activity inhibitors. Here is shown a possibility of directed influence on DNA and directed mutagenesis through oligonucleotide equivalents that form high-strength complexes with DNA.

Aptamers. Oligonucleotides that have peculiar three-dimension structure are applied as selective protein inhibitors and as addressing structures to deliver agents into certain cells.

Immunomodulators. There is a number of DNA- and RNA-oligonucleotides identified that cause interferon synthesis in organism and affect the process of immune reactions. They have already found an application as adjuvants and immunomodulators.

Abstract

Implementation of technologies for production of oligonucleotides and polynucleotides: RNA, DNA and their chemically modified equivalents has offered scope for developing a wide range of therapeutic agents. Among them: immunomodulators, enzyme inhibitors, agents for directed mutagenesis, antiviral and anticancer agents based on interfering RNA.

СИСТЕМНАЯ БИОЛОГИЯ: ИНТЕГРАЦИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ И КОМПЬЮТЕРНЫХ ПОДХОДОВ

Колчанов Н.А.^{1,2},

академик Российской академии наук,

¹директор Института цитологии и генетики, СО РАН, г. Новосибирск, Россия;

²Новосибирский государственный университет, г. Новосибирск, Россия

Системная биология интегрирует данные, знания, экспериментальные и теоретические подходы из таких наук, как биология, медицина, физика, химия, математика и информатика. Целью системной биологии является изучение организации, механизмов развития и функционирования живых систем на основе информации, закодированной в их геномах. Важнейшая компонента системной биологии – высокопроизводительные экспериментальные технологии. Полученные экспериментальные данные анализируются методами биоинформатики на базе высокопроизводительных вычислительных систем. Такой экспериментально-вычислительный кластер «Системная биология» создан в Новосибирском научном центре и функционирует на базе ряда институтов биологического, математического и информационного профиля. В рамках нашего консорциума активно ведутся, в том числе, исследования в области генных сетей, являющихся одним из центральных объектов системной биологии. Однако, с учетом огромных и стремительно накапливающихся объемов данных исследователи физически лишены возможности не просто освоения имеющейся информации, а даже знакомства с ней. В ответ на этот вызов началась разработка компьютерных систем для автоматического извлечения знаний из баз данных и текстов научных публикаций. Одна из таких систем - ANDCell, входящая в десятку наиболее мощных мировых систем этого класса, создана в нашем институте. Таким образом, методы системной компьютерной биологии не просто позволяют интегрировать знания и факты, но и дают возможность предсказания, планирования эксперимента и получения новых знаний о живых системах.

В докладе представлены современные представления о системной биологии, описание полученных результатов в ИЦиГ СО РАН в ходе исследований живых систем на различных иерархических уровнях их организации и прогноз возможного развития данного научного направления.

SYSTEMS BIOLOGY: INTEGRATION OF EXPERIMENTAL AND COMPUTER APPROACHES

Kolchanov N.A.^{1,2},

Academician of the Russian Academy of Sciences (RAS),

director of ¹Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia

²Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

Systems biology integrates data, knowledge, experimental and theoretical approaches of the sciences such as biology, medicine, physics, chemistry, mathematics and computer science. The aim of systems biology is the study of organization, mechanisms of development and functioning of living systems on the basis of information encoded in their genomes. The most important component of systems biology is experimental high-performance technology. The experimental data are analyzed by methods of bioinformatics using high-performance computing systems. Such experimental computing cluster “Systems biology” is created in the Novosibirsk Scientific Center and operates on the basis of a number of biological, mathematical and information Institutions. In framework of our consortium is actively underway, including studies on

gene networks, which is one of the central objects of systems biology. However, given the enormous and rapidly accumulating amount of data, researchers are physically unable to not only cope with the available information, and even glance over its. In response to this challenge the computer systems to automatically extract knowledge from databases and text of scientific publications are began to develop. One of these systems is ANDCell that created in our Institute. ANDCell is among the top ten most powerful world systems of this class. Thus, the methods of systems biology not only enable the integration of knowledge and facts but also make it possible to predict, experiment design and production of new knowledge about living systems.

The report presents the current conception of systems biology, a description of the ICG SB RAS results in studies of living systems at different hierarchical levels of their organization and forecast the possible development of this scientific direction.

БИОЛОГИЧЕСКИ ВАЖНЫЕ НУКЛЕОЗИДЫ: СОВРЕМЕННЫЕ ТЕНДЕНЦИИ В БИОТЕХНОЛОГИИ И ПРИМЕНЕНИИ

Михайлопуло И.А. ¹,

член-корр. Национальной АН Беларуси

Мирошников А.И. ²,

академик Российской академии наук

¹*Институт биоорганической химии, Национальная Академия Наук, ул. Академика Купревича 5/2, 220141 Минск, Беларусь, igor_mikhailo@yahoo.de*

²*Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова, Российская Академия Наук, ул. Миклухо-Маклая 16/10, 117997 ГСП, Москва В-437, Россия*

Нуклеозиды охватывают большую группу природных и химически модифицированных аналогов, которые характеризуются большим структурным разнообразием и широким спектром биологической активности. Аналоги природных нуклеозидов, а также нуклеозидные антибиотики, являются одним из наиболее важных классов противовирусных лекарственных средств, и ряд представителей этой группы широко используются в лечении различных опухолевых заболеваний. Нуклеозиды, модифицированные по гетероциклическому основанию или/и углеводному фрагменту, являются очень ценными компонентами олигонуклеотидов, представляющих потенциальный интерес для медицины, придавая этим олигомерам более высокую стабильность в биологических жидкостях и улучшая их взаимодействие с мишенями в сравнении с природными олигомерами.

В настоящей работе мы рассматриваем современные тенденции в биотехнологии нуклеозидов и их медицинском применении [1]. Технология, использующая биокатализаторы, как правило, заменяет многостадийные химические процессы, при этом значительный успех в получении нуклеозидов достигается посредством рациональной комбинации химических методов и биохимических превращений. Внимание будет сосредоточено на химико-ферментативном синтезе нуклеозидов и на ферментах метаболизма нуклеиновых кислот, которые представляют интерес в качестве биокатализаторов. Три подхода к химико-ферментативному синтезу нуклеозидов рассматриваются в настоящей работе, а именно, (i) реакция трансгликозилирования с использованием нуклеозид фосфорилаз или *N*-дезоксирибозилтрансфераз в качестве биокатализаторов, (ii) 1-фосфатов α-D-пентофураноз в качестве ключевых гликозилирующих агентов, и (iii) каскадное превращение D-пентоз в одной колбе в нуклеозиды с использованием триады ферментов: рибокиназы, фосфопентомутазы и нуклеозид фосфорилаз.

Настоящее исследование выполняется при финансовой поддержке Международного Научного и Технологического Центра (МНТЦ; проект №B-1640).

Литература

1 I.A. Mikhailopulo and A.I. Miroshnikov, New trends in Nucleoside Biotechnology. *Acta Naturae*, 2010, **2**, 36-58.

BIOLOGICALLY IMPORTANT NUCLEOSIDES: MODERN TRENDS IN BIOTECHNOLOGY AND APPLICATION

Igor A. Mikhailopulo¹,

Corresponding member of the National Academy of Sciences Belarus

Anatoly I. Miroshnikov²,

Academician of the Russian Academy of Sciences (RAS)

¹*Institute of Bioorganic Chemistry, National Academy of Sciences, Acad. Kuprevicha 5/2, 220141 Minsk, Belarus. E-mail: igor_mikhailo@yahoo.de*

²*Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Miklukho-Maklaya 16/10, 117997 GSP, Moscow B-437, Russia*

Nucleosides embrace a large family of natural and chemically modified analogues of great structural diversity and a broad spectrum of biological activity. Analogues of natural nucleosides as well as nucleoside antibiotics are one of the most important classes of antiviral drugs and a number of representatives of this family are extensively used in the treatment of a variety of cancers. Base and/or sugar modified nucleosides are very valuable constituents of artificial oligonucleotides of medicinal potential making these oligomers more stable in biological fluids and improving their targeting properties vs natural oligomers.

In the present work, we outline modern trends in biotechnology of nucleosides and their medicinal applications [1]. The biocatalyst technology typically replaces multistep chemical processes and considerable progress in the preparation of nucleoside analogues was achieved by advisable combination of chemical methods and biochemical transformations. Emphasis is made on the chemo-enzymatic synthesis of nucleosides and on enzymes of nucleic acid metabolism that may be of interest as biocatalysts. Three approaches to the chemo-enzymatic synthesis of nucleosides will be addressed, viz., (i) the transglycosylation reaction employing nucleoside phosphorylases (NP) or *N*-deoxyribosyltransferases (DRT) as biocatalysts, (ii) 1-phosphates of α -D-pentofuranoses as key glycosylating agents, and (iii) one pot cascade transformation of D-pentoses into nucleosides using triad of enzymes: ribokinase, phosphopentomutase and nucleoside phosphorylases.

Acknowledgements: Financial support by the International Science and Technology Centre (project #B-1640) is gratefully acknowledged.

References

1 I.A. Mikhailopulo and A.I. Miroshnikov, New trends in Nucleoside Biotechnology. *Acta Naturae*, 2010, **2**, 36-58.

СИСТЕМНАЯ БИОЛОГИЯ И ПРОБЛЕМЫ БИОТЕХНОЛОГИИ

Згода В., Тихонова О., Курбатов Л., Копылов А., Москалева Н., Чеглаков И., Новикова С., Прусов К., Арчаков А.

НИИ ИБМХ РАМН, Погодинская 10, Москва, 119121

Дифференцировка клеток промиелоцитарной клеточной линии HL60 может быть индуцирована ретинойевой кислотой. Для оценки изменений экспрессии белков, генов во ходе дифференцировки клеток использовались высокопроизводительные методы анализа, такие как транскриптомика, протеомика и метаболомика.

Полногеномный транскриптомный анализ экспрессии генов в процессе искусственной дифференцировки клеточной линии HL 60 позволил выявить достоверные различия в экспрессии более 1500 генов. Из них, после добавления активатора дифференцировки, более чем в два раза усилилась экспрессия 134, 207, 364, 393 и 1197 генов через 30 минут, 60 минут, 3 часа, 24 часа и 96 часов соответственно.

Для протеомного анализа образцов клеток линии HL60 использовали 3D LC-MS/MS метод, с помощью которого удалось идентифицировать более 1270 белков. Количественную оценку проводили без использования изотопных меток, путем сравнения результатов профилирования гидролизатов образцов. В ходе анализа показано достоверное увеличение и уменьшение содержания для 72 и 31 белков, соответственно.

В ходе метаболомных исследований проводили хромато-масс-спектрометрический анализ низкомолекулярных соединений экстрагированных из образцов клеток. Полученные метаболомные профили представляющие совокупность сигналов комплекса низкомолекулярных соединений в образцах содержали около 2000 соединений каждый. Из 3619 обнаруженных m/z, было найдено 89 соединений, содержание которых уменьшается и 68 соединений, концентрация которых увеличивается в процессе дифференцировки.

Для интерпритации полученных результатов мы использовали интегрированное программное обеспечение Explain (<http://www.biobase.de>). Объединение и сравнение данных по изменению транскриптома с данными по анализу протеома и метаболома позволило идентифицировать транскрипционные факторы, потенциально задействованные в процессе дифференцировки.

Благодарности: данная работа поддержана грантами РФФИ № 09-04-12127-офи_м и 10-04-13304-РТ_оми.

SYSTEMS BIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY PROBLEMS

Victor Zgoda, Olga Tikhonova, Leonid Kurbatov, Artur Kopylov, Natalia Moskaleva, Ivan Cheglakov, Olesia Urasova, Victoria Argentova, Sveta Novikova and Alexander Archakov
*Institute of Biomedical Chemistry RAMS, Pogodinskaya str. 10,
Moscow, 119121, Russia, vic@ibmh.msk.su*

Differentiation of HL60 promyelocytic leukemia cells into granulocytes may be induced by all-trans-retinoid acid (ATRA). In this study we have applied a systems biology approach to study a molecular mechanism of HL60 differentiation induced by ATRA.

To characterize alterations of protein and gene expressions during leukemia cell differentiation induced by ATRA and to elucidate downstream signaling and molecular mechanisms of the ATRA action, we have used high throughput methods including metabolomics, transcriptomics and proteomics.

Transcriptome analysis of mRNA isolated from HL60 at different time intervals after differentiation initiation was performed using the whole genome microarray technology. Totally, at least 7800 genes were expressed under conditions of the cell line cultivation. Among them 23, 64, 184, 275 и 1807 genes were identified as being differentially expressed after first 30 min, 1 h, 3 h 24 h and 96 h of differentiation initiation comparing to control, respectively.

Proteomic experiments were performed using 3D LC-MS/MS. This method includes separation of the whole cell lysate by macroporous RP-C18 chromatography yielding 5 protein fractions with subsequent “shotgun” proteomics analysis of trypsin digested mRP fractions. This resulted in identification of more than 1270 proteins in the HL60 cell line. Quantitative, the label free analysis of obtained proteomic data allowed to reveal increased and decreased expressions for 72 proteins and 31 proteins, respectively.

Finally, metabolomic analysis of the same samples was performed by the method of LC-MS profiling using a high resolution Q-TOF mass spectrometer. After computational alignment and normalization of the chromatogram the statistically significant changes were detected for 23 compounds (unidentified m/z values).

For interpretation of obtained transcriptomic and proteomic data we have used the integrated computational tool Explain (<http://www.biobase.de>). Combination of the high throughput techniques together with the computational analysis can be useful for understanding of the molecular mechanism and downstream signaling of HL60 cells differentiation.

Acknowledgments: this work was supported by Russian Foundation for Basic Research N 10-04-13304-PT_omi and Federal Agency of Science and Innovations (FASI) grant N 14.740.11.0761

СЕКЦИЯ 1. «БИОТЕХНОЛОГИЯ И МЕДИЦИНА. НАУКА, ФАРМАЦЕВТИКА, ДИАГНОСТИКА»

SECTION 1. "BIOTECHNOLOGY AND MEDICINE. SCIENCES, PHARMACEUTICAL INDUSTRY, DIAGNOSTIC"



СПОНСОР СЕКЦИИ: ЗАО «ШАГ» WWW.SCHAG.RU
SPONSOR OF SECTION: ZAO "SHAG"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ ORAL REPORTS

ВЕКТОРНЫЕ ЛИПОСОМАЛЬНЫЕ СИСТЕМЫ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ГЛИОМ

Чехонин В.П., Баклаушев В.П., Юсубалиева Г.М., Гурина О.И.

ГНЦССП им. В.П. Сербского, РГМУ им. Н.И. Пирогова

Проблему адресной доставки противоопухолевых препаратов в очаг глиомы широко пытаются решать с помощью нанобиотехнологических подходов (Alam MI et al, 2010). В случае инвазивных глиальных опухолей наиболее актуальной зоной для адресной доставки лекарств является периферия опухоли, где происходит активная инвазия глиомных клеток. Интенсивно мигрирующие клетки глиомы позитивны по коннексину 43 (Cx43). Определенную роль в активной миграции Cx43-позитивных глиомных клеток в перитуморальной зоне играют щелевые контакты между ними и GFAP-позитивными реактивными астроцитами, которые также в большом количестве продуцируют Cx43 (Chekhonin VP et al., 2010).

В данной работе была предпринята попытка визуализации Cx43-позитивных клеток в глиоме и перитуморальной зоне с помощью внутривенного введения моноклональных антител к E2-экстраклеточному фрагменту Cx43, связанных с различными диагностическими метками (радиоизотопная, флюоресцентная, парамагнитная) в экспериментах на крысах с моделированной интракраниальной глиомой С6.

Эксперимент выполнен на 35-ти половозрелых крысах Вистар на 18 сутки после имплантации глиомных клеток в мозг, когда размер глиомы, в соответствии с проведенной ранее морфометрией, составлял 20 — 30% объема полушария. Моделирование глиобластомы осуществляли с помощью стереотаксической имплантации клеток глиомы С6 ($5 \cdot 10^5$ на крысу) в стриатум. Моноклональные антитела ко второму экстраклеточному фрагменту Cx43 (MAbE2Cx43) получали по описанной ранее методике (Chekhonin VP et al., 2010).

Эксперименты с радиоактивными метками проводили в условиях радиоизотопного блока ИБХ РАН. Очищенные препараты неспецифических иммуноглобулинов мыши (IgGm) и MAbE2Cx43 конъюгировали с ^{125}I (37 МБк на 200 мкг белка) с помощью Йодогена (Sigma) в 50 мМ фосфатном буфере, pH 7,2. Освобождались от несвязавшегося йода и определяли радиохимическую чистоту конъюгатов антител. Препараты меченных ^{125}I антител вводили 10 крысам с глиомой С6 (5 крысам ввели MAbE2Cx43 и пяти — IgGm) в бедренную вену под кетаминным наркозом в дозе 25 $\mu\text{g/kg}$ веса животного. Для оценки элиминации антител у крыс забирали кровь сразу через кратные интервалы времени. Через 72 часа после введения антител крыс наркотизировали, перфузировали транскардиально PBS и выделяли левое и правое полушарие мозга и внутренние

органы. В препаратах крови и органов с помощью сцинтилляционного гамма-счетчика оценивали радиоактивность и рассчитывали накопление антител в % от введенной дозы на 1 г сырого вещества.

Флюоресцентное мечение MAbE2Cx43 и IgGm проводили с помощью Alexa Fluor 660 Protein Labelling kit (Invitrogen) в соответствии с рекомендациями производителя. MAbE2Cx43, меченные Alexa Fluor 660 вводили в бедренную вену 5-м крысам с глиомой C6 в концентрации 500мкг/кг веса. Еще 5 крысы получили 500 мкг/кг IgGm, меченных Alexa Fluor 660. Спустя 48 часов крыс наркотизировали, перфузировали транскардиально 4% охлаждённым раствором параформальдегида на PBS, приготавливали срезы толщиной 40 мкм. Детекцию флюоресценции на срезах проводили с помощью сканирующей лазерной конфокальной микроскопии на приборе Leica TCS SP5 STED (Институт биологии развития им. Н.К.Кольцова РАН).

Иммунолипосомальные наноконтейнеры конструировали по методике Kamps et al., модифицированной в соответствии с задачами данного эксперимента. В роли векторных молекул выступали IgGm и MAbE2Cx4. В качестве маркеров наноконтейнеров применяли хорошо известный T1-контраст Gd-DTPA. Иммунолипосомальные наноконтейнеры стерилизовали фильтрованием (Milliex filter, 0,22mm Millipore Bedford MA USA) и вводили внутривенно 10 крысам с глиомой в концентрации по общему белку 500 mg на кг веса. Пять крыс получили не векторные липосомы (3) и раствор Gd-DTPA(2). Прижизненную визуализацию глиомы выполняли с помощью МРТ на томографе BioSpec 70/30 фирмы Bruker с постоянным магнитным полем 7 Тесла.

Результаты и их обсуждение

Таким образом, распределение MAbE2Cx43 после внутривенного введения крысам с экспериментальной глиомой оценивали с помощью несколько различных экспериментальных подходов. При внутривенном введении препарата меченых ^{125}I антител, анализ радиоактивности крови показал их длительную циркуляцию крови. Период полувыведения для антител из кровотока составил 6 часов. MAbE2Cx43 быстрее элиминировались из кровотока, чем IgGm. Спустя 72 часа в крови оставалось $7,3 \pm 0,4\%$ MAbE2Cx43 и $15,5 \pm 1,2\%$ ($M \pm \sigma$) IgGm по отношению к расчетной начальной концентрации C^0 . Распределение меченных ^{125}I антител по органам существенно не отличалось для MAbE2Cx43 и IgGm.

Накопление радиоактивности в мозге оценивали в правом полушарии (ПП) с глиомой, и в левом интактном полушарии (ЛП). Ни MAbE2Cx43, ни IgGm не накапливались в нормальной нервной ткани ЛП (значения радиоактивности не превышали 0,005% от введенной дозы). У крыс, получивших MAbE2Cx43, в ПП с глиомой через 72 часа значения радиоактивности составили $0.27 \pm 0.01\%$ введенной дозы на грамм сырого вещества. Это более чем в 50 раз выше, чем значение радиоактивности в нормальной ткани мозга и в 5 раз выше, чем аналогичное накопление в опухоли IgGm. Эти результаты позволили сделать вывод о специфическом захвате MAbE2Cx43 опухолевой тканью, вследствие взаимодействия их с антигеном-мишенью, презентированным на глиомных клетках и реактивных астроцитах перитуморальной зоны.

Применение MAbE2Cx43, конъюгированных с Alexa Fluor 660, через 48 часов после их внутривенного введения в дозе 500 мкг/кг, позволило визуализировать специфическую флюоресценцию в клетках глиомы и перитуморальной зоны. При уменьшении вводимой дозы до 50 мкг/кг антител интенсивность флюоресценции заметно падала, однако Cx43-позитивные клетки детектировались по-прежнему надёжно. Внутривенное введение IgGm с Alexa Fluor 660, не приводило к визуализации каких либо структур.

При внутривенном введении препарата Gd-DTPA в течение первых 30 минут наблюдалось выраженное накопление контраста в глиоме. Элиминация препарата Gd-DTPA происходила через час. Введение не векторных липосом, равно как и липосом с неспецифическим вектором не сопровождалось накоплением сигнала в пораженном полушарии. Внутривенное введение наноконтейнеров-Gd-DTPA с вектором MAbE2Cx43 сопровождалось заметным повышением интенсивности T1 сигнала по периферии опухоли уже через 6 часов. Более четкая визуализация

накопления наноконтейнеров с вектором MAbE2Cx43 в зоне перитуморальной глиомной инвазии наблюдается через 24 и 48 часов.

Заключение. Получены моноклональные антитела к экстраклеточному фрагменту E2 Cx43 специфически захватывающиеся живыми Cx-43-позитивными клетками глиомы, реактивными астроцитами и астробластами перитуморальной зоны в экспериментах *in vivo*.

Адресная доставка в перитуморальную область с помощью MAbE2Cx43 имеет очевидные перспективы. Во-первых, при хирургической резекции опухоли важно правильно определить её границы с учётом всех имеющихся участков перивазальной и периневральной инвазии. Поскольку реактивные астроциты и астробласты сопровождают все такие участки, их визуализация позволит чётко отграничить область инвазии глиомы от нормальной ткани. Во-вторых, в новейших исследованиях показано, что именно в перитуморальной области идёт наиболее активная инвазия глиомы. В этой области локализуются стволовые опухолевые клетки, поддерживающие пул активно мигрирующих радио- и химиорезистентных клеток глиомы.

Полученные *in vivo* результаты дают основания рекомендовать, что MAbE2Cx43 для адресной доставки диагностических и лекарственных препаратов в перитуморальную зону инвазии низкодифференцированных глиом.

ПРОБЛЕМЫ СОЗДАНИЯ НАНОДИСПЕРГИРОВАННЫХ ФОРМ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Гумеров Ф.М.

*Казанский государственный технологический университет, Казань,
Россия, gum@kstu.ru*

Фармокопейные субстанции, представленные в виде микро- и нанораз-мерных частиц обладают уникальными свойствами и достоинствами, открывающими новые возможности в терапии самых различных заболеваний.

Сверхкритические флюидные среды и технологии, их использующие (сверхкритические флюидные технологии), представляют собой одно из наиболее перспективных направлений получения микро- и наночастиц фармпрепаратов.

Проблема получения микро- и наночастиц фармпрепаратов уже выходит за пределы лишь лабораторных исследований, переходя в плоскость практической реализации и использования. Тем не менее, многообразие частных случаев позволяет сохранять повышенный интерес к задаче и проблемам, сопутствующим их решению. Речь идет, прежде всего, об обеспечении свойствами и характеристиками фазовых равновесий для термодинамических систем в рамках разрабатываемой технологии, об улавливании частиц, решении проблем агломерации и, наконец, соблюдения правил охраны труда и техники безопасности при получении диспергированных форм и, в первую очередь, в процессе лабораторных исследований.

Два основных и принципиально отличных, но взаимодополняющих друг друга, подхода к диспергированию с использованием сверхкритических флюидных сред предполагают, соответственно, растворимость (метод RESS) и нерастворимость (различные варианты метода антирастворителя) микронизируемого материала во флюиде. Это обуславливает изучение бинарных или тройных систем в первом случае и, начиная с тройных, многокомпонентных систем во втором. Научные вопросы гидродинамики, зародышеобразования и, соответственно, проблема моделирования процессов диспергирования с установлением технологических закономерностей.

PROBLEMS OF CREATING NANODISPERSED FORMS OF PHARMACEUTICALS

F.M. Gumerov

Kazan State Technological University, Kazan, Russia, gum@kstu.ru

Pharmacoepial substances presented as micro- and nano-sized particles possess unique properties and advantages which open new opportunities in therapy of wide variety of illnesses.

Supercritical fluid media and related technologies (supercritical fluid technologies) are one of the most prospective directions in obtaining micro- and nanoforms of pharmaceuticals.

Numerous publications have been issued on this problem; nevertheless we would like to draw attention to a review article which successfully combines the bases, systematization of the approaches and factual material.

The problem of obtaining micro- and nanoforms of the pharmaceuticals already extends beyond the limits of laboratory investigations, coming to practical implementation and application. Nevertheless, vast variety of individual cases maintain elevated interest to the issue and problems accompanying their solution. The primary question are the providing the properties and characteristics of phase equilibrium for the thermodynamic systems within the limits of the technology developed; capturing the particles; solving agglomeration problems and, finally, observing production safety during obtaining of the dispersed forms, and first of all, during laboratory investigations.

Two basic approaches to dispersion, different, but supplementary to one another, employing supercritical fluid media anticipate, accordingly, solubility (RESS method) and insolubility (various options of the antisolvent method) of the micronized material in the fluid. This stipulates the investigation of binary and ternary systems in the first case and multicomponent (starting from the ternary) systems in the second. Of high science intensity are the questions of hydrodynamics, nucleation and, respectively, the problem of modeling the dispersion processes with the determination of the technological behavior.

THAR TECHNOLOGY (USA) laboratory systems can be successfully used in the part of the experimental implementation of the dispersion processes at the investigations stage, for instance, in RESS and SAS variants.

НАНОКОМПЛЕКСЫ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ С ПЕПТИДАМИ КАК ИНГИБИТОРЫ РЕПЛИКАЦИИ ВИЧ-1 И ВИРУСНОЙ ИНТЕГРАЗЫ

Агапкина Ю.Ю., Зацепин Т.С., Готтих М.Б.

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Химический факультет и
Институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, Москва, Россия*

Вирус иммунодефицита человека первого типа (ВИЧ-1) поражает иммунную систему человека и приводит к ВИЧ-инфекции, последняя стадия которой известна как синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД). Сегодня распространение ВИЧ-инфекции достигло уровня эпидемии, однако до сих пор не существует способов лечения, позволяющих полностью устранить ВИЧ из организма. Тем не менее, разработаны схемы лечения, которые могут существенно замедлить развитие заболевания. Современная терапия ВИЧ-инфекции включает в себя препараты, ингибирующие два ключевых фермента ВИЧ – обратную транскриптазу и протеазу. Длительное применение антиретровирусной терапии осложняется такими проблемами, как возникновение резистентности ВИЧ к антиретровирусным препаратам, а также их высокая токсичность. Поэтому

продолжается активный поиск новых ингибиторов ВИЧ. Перспективной является разработка ингибиторов третьего фермента ВИЧ – интегразы, обеспечивающей встраивание вирусного генома в геном зараженной клетки. В настоящее время только один ингибитор интегразы – Исентресс (Ральтегравир) одобрен для лечения ВИЧ-инфицированных больных.

Мы показали, что конъюгаты коротких одноцепочечных олигонуклеотидов с гидрофобными молекулами являются ингибиторами интегразы ВИЧ-1. Такие соединения особенно интересны тем, что их ингибирующее действие обусловлено разрушением комплекса интегразы с ее субстратом - вирусной кДНК. Подробно исследовано влияние структуры конъюгата олигонуклеотида с гидрофобной молекулой на его способность ингибировать интегразу ВИЧ-1. Показано, что и олигонуклеотидная, и гидрофобная части конъюгата играют важную роль в ингибировании интегразы. Предложена структура ингибитора, обладающего наибольшей ингибирующей активностью.

Изучено проникновение комплексов этих конъюгатов с различными носителями в клетки. Найден носитель пептидной природы, формирующий с олигонуклеотидным ингибитором наночастицы, активно проникающие в цитоплазму клетки. Эти наночастицы нетоксичны и обеспечивают подавление репликации ВИЧ-1 в клетках с EC_{50} менее 10 нМ.

Работа поддержана грантами РФФИ-НЦНИЛ № 09-04-93108 и 09-04-93109.

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ ЭНХАНСЕРЫ ДЕЙСТВИЯ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ АДЕНОВИРУСОВ ДЛЯ ОНКОЛОГИИ

Шепелев М.В., Коробко Е.В., Коробко И.В.

*Учреждение Российской академии наук Институт биологии гена РАН,
ул. Вавилова, д. 34/5, Москва 119334*

Препараты на основе аденовирусных векторов постепенно входят в клиническую практику при лечении онкологических заболеваний. В то же время, накопленные данные свидетельствуют о необходимости комбинации аденовирусных препаратов с традиционными противоопухолевыми воздействиями для достижения максимально эффективного результата. Особенно привлекательной является комбинация аденовирусных препаратов с противоопухолевыми воздействиями, которые, помимо прямого действия на опухолевые клетки, непосредственно влияют на экспрессию кодируемых терапевтическими аденовирусами белков. В докладе будут суммированы данные по таким противоопухолевым воздействиям и представлены полученные нами результаты по обнаружению нового класса противоопухолевых препаратов, обладающих способностью увеличивать экспрессию кодируемых терапевтическими аденовирусами белков, и обсуждены возможные молекулярные механизмы их действия. Результаты наших исследований расширяют спектр противоопухолевых препаратов, комбинированное применение которых с аденовирусными препаратами позволит достичь максимально эффективного воздействия на опухолевые клетки. Расширение спектра таких препаратов позволит с большей гибкостью проводить подбор сопутствующей аденовирусным препаратам терапии с учетом индивидуальных особенностей опухолей.

PHARMACOLOGICAL ENHANCERS FOR THERAPEUTIC ADENOVIRUSES IN ONCOLOGY

Shepelev M.V., Korobko E.V., Korobko I.V.

Institute of Gene Biology, Russian Academy of Sciences, 34/5 Vavilov str., Moscow 119334

Adenoviruses for cancer treatment gradually enter clinical practice for cancer treatment. However the data accumulated by now demonstrate that adenovirus-based drugs are to be used in combination with other anti-tumor interventions to reach maximal efficiency. The most attractive is the combination of therapeutic adenoviruses with anti-cancer drugs which besides their direct action on tumor cells would affect expression of therapeutic proteins encoded by recombinant adenoviruses. The data on the currently available anti-cancer drugs with these properties will be summarized. Our results on the identification of a novel class of anti-cancer drugs capable to improve expression of proteins coded by therapeutic adenoviruses will be presented, and possible molecular mechanisms of their action will be discussed. Our results broaden the spectrum of anti-cancer drugs potentiating performance of therapeutic adenoviruses to improve overall efficiency of treatment. Expansion of the list of such drugs delivers flexibility in choosing personalized therapeutic regimen which accompanies adenovirus-based anti-cancer treatment, accounting for individual tumor drug sensitivity.

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ НОКАУТ КАК ПЛАТФОРМА ДЛЯ ПОИСКА НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Котелевцев Ю.В.

Лаборатория Модификации генома стволовых клеток, Пуццинский Государственный Университет, г.Пуццино, 142292, Московская область, Россия

Centre for Cardiovascular Science, Queen's Medical Research Institute, College of Medicine and Veterinary Medicine, 47 Little France Crescent, Edinburgh, EH16 4TJ, UK

По существующим оценкам геном человека содержит от 1000 до 5000 генов, продукты которых являются потенциальными мишенями для лекарств. Разработка лекарственного препарата - длительный и чрезвычайно дорогостоящий процесс, в самом начале которого, необходимо оценить потенциальные возможности модификации сигнального пути предполагаемым препаратом. Существуют объективные ограничения для использования фармакологических подходов, в особенности, когда речь идет о тысячах мишеней. Альтернативным подходом является изучение фенотипов нокаутных мышей с целью подтверждения правильности выбранной мишени. Этот подход будет продемонстрирован на примере стероид-модифицирующего фермента 11 β -оксистероид дегидрогеназы первого типа (HSD11B1). Нами было показано, что нокаут HSD11B1 способствует повышению чувствительности к инсулину и препятствует ожирению у мышей на высококалорийной диете. Эти наблюдения стимулировали ряд программ по созданию лекарств, направленных на лечение диабета второго типа, основанных на ингибиторах HSD11B1. Мыши с нокаутом второй изоформы фермента HSD11B2 страдают от повышенного давления и предрасположены к атеросклерозу. Это наблюдение определило поиск ингибиторов HSD11B1 с минимальным эффектом на HSD11B2. В настоящее время запатентовано более 150 таких ингибиторов. Несколько препаратов, созданных на их основе, прошли успешные клинические испытания в фазе II b.

Другим примером является кондиционный нокаут рецептора эндотелина типа Б (ENRB) в почечном эпителии, приводящий к солезависимой гипертензии, что свидетельствует о необходимости

использования высокоселективных антагонистов рецепторов типа А (ENRA), а не смешанных антагонистов, которые разрабатывались на первом этапе создания лекарственных препаратов для лечения легочной гипертензии. Исследование фенотипов мышей с кондиционным нокаутом всех элементов эндотелиновой системы (ET-1, ENRA, ENRB) дало важную информацию о возможных побочных эффектах фармацевтических средств, а также выявило новые области применения лекарств, разрешенных к использованию.

Международный консорциум мышиных нокаутов (www.knockoutmouse.org) располагает более чем 1000 аллелей флоксированных, или модифицированных для тканеспецифической инактивации генов в эмбриональных стволовых (ES) клетках. В течение последующих нескольких лет будет завершено флоксирование всех генов *M.musculus*. Введение правильно выбранных аллелей флоксированных генов на фоне мышиных линий, предрасположенных к основным заболеваниям человека, открывает новые возможности для поиска и создания новых лекарственных средств.

GENETIC KNOCKOUT AS AN ESSENTIAL PLATFORM FOR DRUG DISCOVERY

Yuri Kotelevtsev

Pushchino State University, Pushchino, Moscow Region, 142292, Russian Federation

Centre for Cardiovascular Science, Queen's Medical Research Institute, College of Medicine and Veterinary Medicine, 47 Little France Crescent, Edinburgh, EH16 4TJ, UK

Current estimates argue that the human genome encodes between 1000 and 5000 gene products that are potential drug targets. Because the allocation of resources to drugs modifying a specific pathway requires conclusive target validation in a given indication, the large number of potential targets exceeds the capacity of the pharmaceutical industry to explore them all via biochemical approaches. An alternative approach is via the phenotypic analysis of knockout mice. This approach will be illustrated by the development of a steroid-modifying enzyme, 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 (HSD11B1) as a drug target for the treatment of type 2 diabetes. Knockout mice for HSD11B1 were found to increased insulin sensitivity and were refractory to the development of obesity. This prompted investigations into the potential of HSD11B1 inhibitors as anti-diabetic agents. Further, mice lacking a second gene encoding a different isoform the enzyme, HSD11B2, were discovered to exhibit hypertension and were prone to develop atheroma. This led to a second thrust of drug development towards antidiabetic molecules with high affinity for HSD11B1 but only low affinity for HSD11B2. To date the phenotypes of these two mouse strains has prompted the patenting of more than 150 compounds, several of which are now in phase IIb clinical trials.

In a second example, knockout mice for endothelin receptor type B in renal epithelium were found to have salt sensitive hypertension. This has focused attention on the development of specific agonists of type A receptors as anti-hypertensive agents. At the same time the different phenotypes of these animals have suggested potential side-effects as well as other potential indications for drugs targeting the endothelin system.

Non-profit international knockout consortia (www.knockoutmouse.org) have now prepared a library of mouse embryonic cell lines that will permit the phenotypic analysis of tissue-specific inactivation of more than 1000 different genes. The ultimate aim of modifying and analyzing all relevant genes in the mouse genome is achievable within the next few years. Breeding of carefully selected inducible knockout alleles into mouse strains prone to develop major disease conditions is opening exciting new opportunities for drug discovery.

ПРИМЕНЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ ВАРФАРИНОМ У ПАЦИЕНТОВ ЗАПАДНО-СИБИРСКОГО РЕГИОНА РОССИИ

Кох Н.В.¹, Воронина Е.Н.¹, Лифшиц Г.И.¹, Цветовская Г.А.¹,
Филипенко М.Л.¹, Хвостов М.В.², Чернонос А.А.¹

¹ИХБФМ СО РАН, г. Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева 8, 630090

²НПОХ СО РАН, г. Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева 9, 630090

Целью нашей работы было изучить частоту встречаемости полиморфизмов генов CYP2C9*2, *3 (R144C и I359L), C+1173T VKORC и G>A rs2108622 (V433M) CYP 4F2 у пациентов Западно-Сибирского региона России, а также оценить вклад этих генетических маркеров в изменение терапевтической дозировки варфарина для данной группы пациентов. В исследование вошло 127 пациентов из Западно-Сибирского региона, принимающих варфарин более 1 года (средний возраст 51±12 лет) с минимальной дозой 1,25мг и максимальной 15мг. Эффективность принимаемой дозы варфарина оценивалась с помощью МНО. Носительство аллельных вариантов генов определялось с помощью полимеразной цепной реакции. Вариант CYP2C9*1/*1 был обнаружен у 74% обследованных пациентов, CYP2C9*1/*2 у 18%, CYP2C9 *2/*2 у 1%, CYP2C9*1/*3 – 7%. Пациенты с генотипами CYP2C9 *3/*3 и CYP2C9*2/*3 не были выявлены. Для VKORC1 C+1173T (rs9934438): частота C/C 43%, C/T – 46%, и с генотипом T/T - 11%. Для CYP 4F2 rs2108622 G>A частота G/G 61%, G/A – 33% и с генотипом A/A - 6%. Частоты встречаемости генотипов исследуемых локусов соответствуют закону Харди-Вайнберга. Получены достоверные отличия средних ежедневных доз варфарина в зависимости от генотипа VKORC: для пациентов с генотипом CC средняя доза составила 7,4±2,3мг, с генотипом CT - 5,0±2,0мг с генотипом TT - 3,1±0,9мг ($p_{(CC-CT)}=5 \cdot 10^{-6}$, $p_{(CT-TT)}=0,005$, $p_{(CC-TT)}=10^{-6}$). Не было получено достоверных различий подобранной дозы варфарина в зависимости от генотипа CYP2C9. С учетом генотипа VKORC1, при носительстве аллелей CYP2C9*2, *3 наблюдалась тенденция к уменьшению средней суточной дозы. Таким образом, из генетических маркеров, наибольший вклад в подбор терапевтической дозировки варфарина в Западно-Сибирской популяции вносит генотип VKORC1.

Работа была поддержана Междисциплинарным интеграционным проектом Президиума СО РАН (2009-2011 гг.) № 90 «Медицинская протеомика и метаболомика человека. Химические и генетические подходы к персонализированной терапии»

THE USE OF GENETIC TESTING FOR PERSONALIZED OPTIMIZATION OF WARFARIN THERAPY IN PATIENTS OF THE WEST SIBERIAN REGION OF RUSSIA

Kokh N.V.¹, Voronina E.N.¹, Lifshits G.I.¹, Tsvetovskaja G.A.¹,
Filipenko M.L.¹, Kvostov M.V.², Chernonosov A.A.¹

¹Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of SB RAS, Lavrentjev Ave. 8, Novosibirsk 630090 Russia

²Novosibirsk Institute of Organic Chemistry of SB RAS,
Lavrentjev Ave. 9, Novosibirsk 630090 Russia

The aim of our study was to investigate the frequency of occurrence of CYP2C9 *2, *3 (R144S and I359L), C+1173T VKORC and G>A rs2108622 (V433M) CYP 4F2 genes polymorphisms in patients of the West Siberian region of Russia, as well as to assess the contribution of these genetic markers to the change

of therapeutic dosage of warfarin for this group of patients. The study included 127 patients (mean age 51 12 years) from the West Siberian region taking warfarin more than 1 year. Average daily dose of warfarin in the study group was 5.8 ± 2.3 mg, with a minimum dose of 1.25 mg and 15 mg maximum. Effectiveness of warfarin was assessed by the International Normalized Ratio. Presence of alleles was determined by polymerase chain reaction. Variant CYP2C9 *1/*1 was detected in 74% of patients, CYP2C9 *1/*2 in 18%, CYP2C9 *2/*2 in 1%, CYP2C9 *1/*3 in 7%. Patients with genotypes CYP2C9 *3/*3 and CYP2C9 *2/*3 were not revealed. For VKORC1 C+1173T (rs9934438): frequency of C/C genotype was 43%, C/T - 46%, and T/T - 11%. For CYP4F2 rs2108622 G>A: frequency of genotype G/G was 61%, G/A - 33%, A/A - 6%. Frequencies of genotypes corresponded to the Hardy-Weinberg equilibrium. Significant differences of average daily dose of warfarin depending on the VKORC genotype were revealed: for patients with genotype CC average dose was 7.4 ± 2.3 mg, with genotype CT - 5.0 ± 2.0 mg, with genotype TT - 3.1 ± 0.9 mg (p (CC-CT) = $5 \cdot 10^{-6}$, p (CT-TT) = 0.005, p (CC-TT) = 10^{-6}). There were not significant differences in selected doses of warfarin depending on the CYP2C9 genotypes. Presence of CYP2C9 *2 or *3 alleles resulted in tendency to decrease of average daily dose of warfarin based on VCORK1 genotype. Thus, genotype VKORC1 among other genetic markers contributes most to the titration of a therapeutic dosage of warfarin in the West Siberian population.

ПРИМЕНЕНИЕ СВЕРХКРИТИЧЕСКИХ ФЛЮИДНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В ОРГАНИЧЕСКОМ СИНТЕЗЕ И МОДИФИЦИРОВАНИИ ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ ДЛЯ БИОХИМИИ И ФАРМАЦЕВТИКИ

Леменовский Д.А., д.х.н., Шляхтин А.В., Брусова Г.П.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Химический факультет

На основе литературных данных и собственных результатов рассмотрены достижения последних лет в использовании сверхкритических флюидов в интересах биохимии и фармацевтики. В центре внимания, прежде всего, успехи в тонком органическом и неорганическом синтезах. В качестве наиболее исследованных на сегодняшний день выступают реакции гидрирования, гидроформилирования, окисления, синтез биорезорбируемых полимеров, а также процессы с участием энзимов. Рассмотрены особенности протекания реакций в СК-средах, преимущества и эффективность в сравнении с традиционными методами синтеза.

Кроме того, в докладе кратко представлены успехи последних лет в модификации уже готовых лекарственных форм с целью повышения и коррекции их эффективности. В этот перечень входят: различные пути микроизации лекарственных форм, повышения скорости их растворения в воде, регулирования скорости их высвобождения из специально созданных носителей, изменения способов их введения в организм.

SUPERCRTICAL FLUIDS IN ORGANIC SYNTHESIS AND TRANSFORMATION OF KNOWN SUBSTANCES FOR PHARMACY AND BIOLOGY PURPOSES

Lemenovskii D.A., Shlyahtin A.V., Brusova G.P.

Chemistry Department of Moscow State University

The report presents the current review of last years data of supercritical fluids application as a new medium for synthesis biologically important organic and inorganic substances. In focus of interest are hydrogenation, hydroformylation, oxidation reactions, synthesis of bioresorbable polymers and syntheses with enzyme participation. The advantages and industrial perspectives of these syntheses are discussed.

The report also briefly presents the results of supercritical fluids participation in effective transformation of already used drugs. Nano-scale forms of drugs become available and changes the methods of their use.

БИФЕРКОН – СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫЙ КОНЬЮГАТ СУПЕРОКСИДИСМУТАЗА-ХОНДРОИТИНСУЛЬФАТ-КАТАЛАЗА: ВАЗОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА

Максименко А.В., Тищенко Е.Г., Ваваев А.В.

Институт экспериментальной кардиологии,

*ФГУ Российский Кардиологический Научно-Производственный Комплекс Минздравсоцразвития,
3-ья Черепковская ул. 15А, 121 552 Москва, Россия*

Биферкон - биферментный конъюгат (ковалентно сопряженных друг с другом через гликозамингликан эндотелиального гликокаликса хондроитинсульфат) супероксиддисмутазы с каталазой (СОД-ХС-КАТ) проявил вазопротекторную активность при взаимодействии с тромбоцитами, с кольцевым артериальным фрагментом сосуда крысы и при нормализации показателей гемодинамики крыс и кроликов, патологически измененных введением пероксида водорода, моделирующим развитие окислительного стресса. Конъюгат СОД-ХС-КАТ обладал антитромбоцитарным потенциалом благодаря его антиагрегационному действию из-за комбинированных ферментативных активностей и приобретенной надмолекулярной структуры. Влияние на тонус артериального фрагмента было эквивалентным для СОД и КАТ в нативном и сопряженном в конъюгат виде. Нормализующее действие наноконъюгата СОД-ХС-КАТ на величину артериального давления и частоты сердечных сокращений (при их возмущении пероксидом водорода) у крыс и кроликов было достоверно эффективнее контрольных показателей. Обнаружена возможность использования конъюгата СОД-ХС-КАТ в хроническом профилактическом режиме и обоснована целесообразность разработки его пероральных форм. Отмеченные свойства конъюгата СОД-ХС-КАТ, его хорошая переносимость организмом, удовлетворительная острая токсичность придают ему статус лекарственного кандидата, указывая универсальный подход для разработки ферментных наноконъюгатов медицинского назначения.

Данная работа была поддержана грантами РФФИ 06-08-00011, 06-04-08002-офи, 09-08-00023, Росздравом, Росмедтехнологий, а также Минздравсоцразвития России.

BIFERCON – SUPRAMOLECULAR SUPEROXIDE DISMUTASE – CHONDROITIN SULFATE – CATALASE CONJUGATE: VASOPROTECTIVE PROPERTIES

Maksimenko A.V., Tischenko E.G., Vavaev A.V.

*Institute of Experimental Cardiology,
Russian Cardiology Research-and-Production Complex,
3-rd Cherepkovskaya Street 15A, 121 552 Moscow, Russia*

Bienzyme conjugate was obtained by covalent connection one another superoxide dismutase with catalase via endothelial glycocalyx glycosaminoglycans – chondroitin sulfate (SOD-CHS-CAT). This SOD-CHS-CAT conjugate – Bifercon - possessed vasoprotective activity in respect to platelet interactions, tonus of the ring arterial fragment of rat vessel, normalization of hemodynamic rat and rabbit indices changed with hydrogen peroxide administration as oxidative stress model. The SOD-CHS-CAT conjugate had antiplatelet potential due to its antiaggregation action by means of combined enzyme activities and acquired supramolecular structure. The influence on arterial fragment tonus was equal for SOD and CAT in native and connected in conjugate form. Blood pressure and heart rate were significant and effectively normalized with SOD-CHS-CAT nanoconjugate in rats and rabbits (after hydrogen peroxide administration as perturbation stimulus). At the first time we have found in vivo the chronic prophylaxis action for antioxidant bienzyme conjugate. It is important for real development of peroral form of SOD-CHS-CAT conjugate. These results indicate the universal approach to development of enzyme nanoconjugates of medical destination.

The present work was supported by RFBR grants 06-08-00011, 06-04-08002-ofi, 09-08-00023 and Roszdrav, Rosmedtechnology and Minzdravsocrazvitiya.

СВЕРХКРИТИЧЕСКАЯ ФЛЮИДНАЯ ЭКСТРАКЦИЯ И ХРОМАТОГРАФИЯ В РЕШЕНИИ ЗАДАЧ БИОТЕХНОЛОГИИ

Покровский О.И.

Институт общей и неорганической химии РАН им. Н. С. Курнакова, 119991, Москва, Ленинский проспект, 31

Сверхкритическая флюидная экстракция (СФЭ) и сверхкритическая флюидная хроматография (СФХ) – технологии, ныне прочно вошедшие как в лабораторную, так и в промышленную практику. Преимущества этих методов массопереноса, основанных на применении сжатых газов в сверхкритическом состоянии в качестве растворителей вместо традиционных жидкостей, заключаются в возможности использования привлекательных свойств флюидов, промежуточных между свойствами жидкостей и газов. Так, коэффициенты диффузии в сверхкритических флюидах (СКФ) хоть и много меньше газовых, но, как правило, на порядок превышают таковые в жидкостях. В то же время плотность флюида и их растворяющая способность сравнимы с жидкостными. К тому же, растворяющей способностью сверхкритического флюида можно тонко управлять путем малых вариаций давления и температуры. Это, а также ряд иных особых свойств СКФ, как то: отсутствие поверхностного натяжения, высокая проникающая способность, наличие особых механизмов теплопереноса и т.д. делает сверхкритические флюиды привлекательной средой для осуществления множества технологических процессов.

При использовании живых организмов для решения различных технологических задач часто возникает необходимость эффективного осуществления процессов избирательного массопереноса в системах, не выдерживающих воздействия агрессивных растворителей, жестких условий либо

не приемлющих химического загрязнения. Часто здесь на помощь могут прийти сверхкритические технологии – СФЭ и СФХ. В докладе будут освещены получившие признание сферы применения этих методов в биотехнологиях: выделение физиологически активных веществ из природного сырья и их очистка, очистка синтетических лекарственных препаратов, ремедиация почв, очистка водных стоков, выделение продуктов брожения из биомасс после ферментации, обнаружение микробиологической контаминации в образцах воды и другие. Будут рассмотрены преимущества, которые дает использование сверхкритических технологий в решении перечисленных задач над традиционными методами.

APPLICATION OF SUPERCRITICAL FLUID EXTRACTION AND CHROMATOGRAPHY IN BIOTECHNOLOGY

Pokrovskiy O.I.

Institute of General and Inorganic chemistry, 119991, Moscow, Leninskiy prospect, 31

Supercritical fluid extraction (SFE) and supercritical fluid chromatography (SFC) are well established techniques in nowadays laboratory and industrial practice. The advantages of these mass-transfer techniques which are based on using dense gases in a supercritical state as solvents instead of traditional liquids consist in the ability to employ promising features intermediate between those of gases and liquids. Thus, diffusion coefficients in supercritical fluids (SFC) though being much less then in a gaseous state are usually an order of magnitude higher then in liquids. And at the same time fluidic density and solution strength are comparable to those in liquids. Besides SCF solution strength can be tuned by pressure and temperature variations. All these as long as some other properties like lack of surface tension, high penetrability and special mechanisms of heat-transfer make supercritical fluids a luring media for many mass-transfer related technologies.

Mass-transfer and fractionation problems frequently occur during biotechnology processes developments which aim to use living organisms in solving technological problems. It takes place when a living system cannot stand an action of chemically aggressive solvent, severe process conditions, particularly high temperatures or maybe when any kind of chemical contamination is inappropriate. Both SFE and SFC can be helpful in these circumstances. Fields of supercritical fluid application in biotechnology which has gained momentum will be explored in the report: extraction, fractionation and purification of high value physiologically active compounds from natural products; purification of synthetic drugs; soil remediation; sewage sludge cleaning; post fermentation products extraction; fractionation of cellular biomass; microbiological contamination detection in water supplies etc. Advantages provided by supercritical decisions adoption into processes mentioned above will be discussed.

НОВЫЙ ПОДХОД К ОПРЕДЕЛЕНИЮ КАЧЕСТВА ОРИГИНАЛЬНЫХ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ И ДЖЕНЕРИКОВ

Ревельский И.А., Глазков И.Н., Самохин А.С., Чепелянский Д.А., Ревельский А.И.

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Химический факультет,
119991, Москва, Ленинские горы, дом 1, строение 3, ГСП-1*

Мы предложили новую методологию контроля качества лекарственных средств, которая в отличие от существующих подходов как за рубежом, так и в России позволяет:

Многokrатно сократить время определения содержания активного вещества в фармпрепаратах и субстанциях за счет использования универсального и высокопроизводительного метода анализа;

Обеспечить более достоверное установление числа примесей в этих препаратах и их идентификацию (число зарегистрированных примесей в 5-10 раз больше, чем при определении существующими методами анализа);

Обеспечить возможность осуществления быстрого скрининга образцов лекарственных средств на фальсификаты;

Обеспечить возможность быстрой первичной оценки безопасности лекарственных средств, по их воздействию на структурное состояние мембран клеток крови (метод предложен нами)

Обеспечить возможность организации (в перспективе) системы действенного контроля качества лекарственных средств, благодаря как универсальности метода определения активного вещества в лекарственных средствах, так и более достоверному обнаружению числа примесей по сравнению с общепринятыми методами, и сопоставление их безопасности.

NEW APPROACH TO QUALITY CONTROL OF ORIGINAL PHARMACEUTICAL PRODUCTS AND RESPECTIVE GENERICS

Revelsky I.A., Glazkov I.N., Samokhin A.S., Chepeliansky D.A., Revelsky A.I.

*119991, Russia, Moscow, Leninsky Gory, Lomonosov Moscow State University,
Chemistry Department*

We have proposed new methodology of pharmaceutical products quality control which, contrary to existing approaches as in RF and abroad, has allowed:

fast and universal determination of active component content in pharmaceutical products and substances without respective standards use (based on elemental analysis)

to provide more reliable recognition of the number of impurities being present in these products and their identification (the number of registered impurities was 5 – 10 times more, then in case of existing methods use)

to provide possibility of fast pharmaceutical samples screening for counterfeits

to obtain multi impurities profiles (for semivolatiles and nonvolatiles) for compared pharmaceutical products due to combined use of new methods of impurities isolation (developed by us) and of their registration

to provide possibility of fast preliminary estimation of pharmaceutical products safety due to their influence on the structure state of blood cell membranes

to provide possibility of organization (in perspective) of the system for reliable quality control of pharmaceutical products due to universal active component content determination in these products, reliable impurities profiles registration for compared products and comparison of their safety.

МОДУЛЬНЫЕ НАНОТРАНСПОРТЕРЫ – НОВАЯ МНОГОЦЕЛЕВАЯ ПЛАТФОРМА ДЛЯ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВ

Соболев А.С.

Институт биологии гена РАН, ул. Вавилова 34/56 119334, Москва, Россия

Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Россия

Важным вызовом тем, кто создает специфические и эффективные средства лечения, служит парадоксальная ситуация: необходимость использовать поверхностные молекулярные маркеры, чтобы обеспечить клеточную специфичность лекарства, тогда как достижение максимальной эффективности требует доставки лекарства внутрь клетки, в ее определенный субклеточный компартмент, обычно – в ядро. Нами разработаны модульные нанотранспортеры (МНТ), объединяющие эти два внешне противоречивых свойства в одной химерной молекуле и состоящие из: 1) интернализуемого лигандного модуля, 2) модуля с последовательностью ядерной локализации, 3) эндосомолитического модуля и 4) модуля-носителя. Эти модули сохраняют свои функции в составе МНТ: проявляют высоко-аффинное связывание с рецептором мишени и димерами альфа/бета-импортинов, а также образуют поры в липидных бислоях при pH эндосом. Противораковые лекарства (фотосенсибилизаторы, эмиттеры альфа-частиц), доставляемые МНТ, приобретают клеточную специфичность и в 20-3000 раз большую цитотоксичность. МНТ эффективно экспрессируются и могут быть легко очищены с сохранением функций модулей, которые легко заменяемы, что означает возможность приспособления МНТ для выполнения различных целей. Нами показана эффективность МНТ *in vivo* при доставке фотосенсибилизаторов в 3 различных типа опухолей. МНТ обладали очень низкой токсичностью и иммуногенностью на мышах. МНТ накапливались в опухолях мышей с высоким отношением опухоль : не-опухоль и преимущественно ядерной локализацией. Фотосенсибилизаторы, доставляемые МНТ, проявили существенно большую противоопухолевую эффективность по сравнению со свободными фотосенсибилизаторами.

MODULAR NANOTRANSPORTERS: A NEW MULTI-PURPOSE PLATFORM FOR DRUG DELIVERY

Sobolev A.S.

Institute of Gene Biology RAS, 34/5 Vavilov St., 119334, Moscow Russia

Biological Faculty, Moscow State University, 119991, Moscow, Russia

A major challenge in the development of specific and effective targeted treatments is the paradoxical situation: one needs to exploit surface molecular targets for achieving tumor selectivity and nevertheless needs to deliver the therapeutic inside the target cell, e.g. to the cell nucleus because subcellular targeting is generally required for maximizing the therapeutic effect. We created modular nanotransporters (MNT) unifying these 2 contradictory features into one chimeric macromolecule consisting of: (i) an internalizable ligand module, (ii) a module with nuclear localization sequence, (iii) an endosomolytic module, and (iv) a carrier module. The modules retained their functions within the MNT: they showed high-affinity interactions with target receptors and alpha/beta-importin dimers, and form holes in lipid bilayers at endosomal pH. Anti-cancer therapeutics (photosensitizers, alpha-particle emitting radionuclides) carried by MNT acquired 20-3000 times greater cytotoxicity and cell specificity if compared with free therapeutics. The different modules of the MNT, which are highly expressed and easily purified to retain full activity of each of the modules, are interchangeable, meaning that they can be tailored for particular applications. We

demonstrated an in vivo efficacy of the MNT delivering photosensitizers to three different mouse tumors. The MNT demonstrated very low toxicity and immunogenicity on mice. MNT accumulated in tumors with high tumor:non-tumor ratios and displayed preferential nuclear accumulation. Photosensitizers transported by MNT demonstrated significantly higher anti-tumor efficacy if compared with free photosensitizers.

ГЕННО-ИНЖЕНЕРНЫЕ ФЕРМЕНТЫ ДЛЯ МЕДИЦИНСКОЙ ДИАГНОСТИКИ И ФАРАМАЦЕВТИКИ

Тишков В.И.^{1,2,3}, Хороненкова С.В.¹, Алексеева А.А.^{1,2}, Гончаренко К.В.^{1,2}, Серенко А.А.^{1,2}, Комарова Н.В.^{1,3}, Голубев И.В.^{1,2}, Рыженкова К.В.^{1,2}, Газарян И.Г.^{1,2}, Хушпульян Д.М.¹, Березин А.И.^{1,2}, Степашкина А.В.^{1,2}, Федорчук В.В.^{1,2}, Федорчук Е.А.^{1,2}, Чубарь Т.А.^{1,2,3}, Савина Л.И.¹, Савин С.С.^{1,3}

¹ООО "Инновации и высокие технологии МГУ", 109559, Москва, Цимлянская ул., д.16, оф.96,

²Химический факультет Московского Государственного Университета имени М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы, д.1/11,

³Институт биохимии имени А.Н.Баха РАН, 119071, Москва, Ленинский проспект, 33, корп. 2.

E-mail: vitishkov@gmail.com

Ферменты, благодаря своей высокой активности и селективности, находят широкое применение в самых разнообразных областях нашей жизни. Особенно активно внедрение ферментов происходит в медицинской диагностике и фармацевтической промышленности. К сожалению, применение нативных, «природных» ферментов сильно ограничено из-за их низкой доступности, невысокой стабильности и, самое главное, профиль их субстратной специфичности и оптимальные условия работы часто не совпадают с требованиями реальных процессов. В данном докладе будут представлены наши результаты по созданию высокопродуктивных штаммов *E.coli* – продуцентов рекомбинантных NAD⁺- и NADP⁺-зависимых формиадегидрогеназ (FDH), негликозилированных пероксидаз табака (TP) и из корней хрена (HRP), оксидазы D-аминокислот из *T.variabilis* (TvDAAO), высокостабильной и активной пенициллинацилазы из *A.faecalis* (AfPA) и высокоспецифичной гидролазы эфиров α-аминокислот (AAEH), а также данные по белковой инженерии этих ферментов. Увеличение стабильности хемилюминесцентного сигнала позволяет повысить чувствительность различных методов анализа с использованием пероксидаз. Мутантные формы TvDAAO высокоспецифичные к определенным D-аминокислотам могут быть использованы для ранней диагностики нейродегенеративных и других заболеваний. Новые мутантные TvDAAO, AfPA, AAEH и NAD⁺- и NADP⁺-специфичные FDH будут использованы в существующих и новых процессах получения антибиотиков и оптически активных соединений.

Работа поддержана Российским Фондом Фундаментальных Исследований, гранты 10-04-01334, 10-04-00887, 11-04-00920, 11-04-00959 и 11-04-00962 и Министерством образования и науки РФ, госконтракт № 16.512.11.2148

GENETIC ENGINEERING ENZYMES FOR MEDICINE DIAGNOSTICS AND PHARMACEUTICAL INDUSTRY

Tishkov V.I.^{1,2,3}, Khoronenkova S.V.¹, Alekseeva A.A.^{1,2}, Goncharenko K.V.^{1,2}, Serenko A.A.^{1,2}, Komarova N.V.^{1,3}, Golubev I.V.^{1,2}, Ryzhenkova K.V.^{1,2}, Gazaryan I.G.^{1,2}, Hushpuliyan D.M.¹, Berezin A.I.^{1,2}, Stepashkina A.V.^{1,2}, Fedorchuk V.V.^{1,2}, Fedorchuk E.A.^{1,2}, Chubar T.A.^{1,2,3}, Savina L.I.¹, Savin S.S.^{1,3}

¹*Innovations and High Technologies MSU Ltd., 109559 Moscow, Russian Federation*

²*Department of Chemical Enzymology, Faculty of Chemistry, M.V.Lomonosov Moscow State University, 119991 Moscow, Russian Federation*

³*A.N. Bach Institute of Biochemistry, Russian Academy of Sciences, 119071 Moscow, Russian Federation*
E-mail: vitishkov@gmail.com

Enzymes are widely used in our life and especially in medicine diagnostics and pharmaceutical industry. Unfortunately, high cost of preparation from natural sources, non-optimal substrate specificity profile and narrow optimum of activity does not permit to use efficiently “natural” enzymes. Methods of genetic engineering and protein design are applied to prepare biocatalyst with pre-scribed properties at low cost. Here we report about construction of recombinant *E.coli* strains super-producing practically important enzymes - NAD⁺- and NADP⁺-specific formate dehydrogenases (FDH), non-glycosylated peroxidases from tobacco (TP) and horseradish (HRP), D-amino acid oxidase from *T.variabilis* (TvDAAO), highly active and stable penicillin acylase from *A.faecalis* (AfPA) and hydrolase of esters of α -amino acids (AAEH). Rational design of the enzymes resulted in peroxidases with increased chemiluminescent signal stability, mutant TvDAAO with high specificity to certain D-amino acids (early diagnostics of neurodegenerating and other diseases). New mutant TvDAAO, AfPA, AAEH and NAD⁺- and NADP⁺-specific FDHs were successively tested in processes of synthesis of antibiotics and chiral compounds.

This work was supported by Russian Foundation for Basic Research, grants 10-04-01334, 10-04-00887, 11-04-00920, 11-04-00959 and 11-04-00962, and Ministry of Education and Science of Russian Federation, State Contract № 16.512.11.2148.

ТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ДОКСОРУБИЦИНА НА ЭМБРИОНЫ DANIO RERIO. УСИЛЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА P53

Чеглаков И.Б.¹, Беляева Н.Ф.¹, Золотарёв К.В.¹, Каширцева В.Н.¹, Мишин А.В.²

¹*Учреждение Российской Академии медицинских наук Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАМН*

119121 Москва, Погодинская ул., 10

²*ООО «ЭкоБиоФарм». 107078 Москва, Б. Козловский пер., 11 стр. 1*

p53 – сигнальный белок, обеспечивающий генетическую стабильность клетки. В ответ на повреждение ДНК p53, являясь фактором транскрипции для множества генов, вызывает остановку клеточного цикла, репарацию ДНК и/или апоптоз. Доксорубицин – цитотоксический противоопухолевый препарат, механизм действия которого включает ингибирование топоизомеразы II, что приводит к выключению участка ДНК из транскрипции. Модель зебрафиш (*Danio rerio*) удобна для скрининга различных соединений на генотоксичность. В задачу нашей работы входил анализ экспрессии генов p53 в ответ на действие доксорубицина на эмбрионы зебрафиш, и регулируемого этим белком гена bax (активатор апоптоза). ПЦР в реальном времени проводили с

использованием флуоресцентного красителя SYBR Green на амплификаторе “Stratagene MX 3005P”. В качестве нормализующего гена использовали ген β -актина. Математическую обработку данных и наглядное их представление выполняли с помощью программного продукта MxPro™ («QPCR Software»). Установлено, что через 48 ч воздействия доксорубина наблюдаются видимые дефекты развития эмбрионов: отёки перикарда и желточного мешка, искривления хвоста и задержка роста. Кроме того, действие доксорубина приводило к снижению частоты сердцебиения эмбрионов с 148 ± 3 удар./мин в контроле до 132 ± 3 удар./мин в опыте. При концентрации доксорубина 0,04 мг/мл, выживаемость эмбрионов относительно контроля составляла от 88 до 100%. В этих условиях экспрессия гена p53 возрастала в 2,6 раза, а гена bax в 1,7 раза, что свидетельствует об индукции доксорубином апоптоза. Таким образом, полученные нами результаты подтверждают возможность использования эмбрионов *Danio rerio* для выявления генотоксичности по экспрессии маркерных генов.

TOXIC ACTION OF DOXORUBICIN UPON DANIO RERIO EMBRYOS. UPREGULATION OF P53 GENE EXPRESSION

I. Cheglakov¹, N. Belyaeva¹, K. Zolotarev¹, V. Kashirtseva¹, A. Mishin²

¹*Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry of RAMS,*

10 Pogodinskaya Str. 119121 Moscow, Russia

²*EcoBioPharm LLC, 11-1 B. Kozlovsky Lane 107078 Moscow, Russia*

P53 is a signaling protein providing genetic stability of a cell. P53 being a transcription factor for a lot of genes affects cell cycle arrest, DNA reparation and (or) apoptosis. Doxorubicin is a cytotoxic anticancer drug which mechanism of action includes topoisomerase II inhibition resulting in switching the affected DNA part off from transcription process. The zebrafish (*Danio rerio*) model is convenient for screening genotoxicity of different substances. The purpose of our investigation was analysis of the expression of p53 and its proapoptotic target bax gene as a response to doxorubicin action upon zebrafish embryos. The Real-time PCR analysis has been carried out using SYBR Green fluorescent dye and Stratagene MX 3005P amplifactor. β -actin gene was used as a normalizing gene. Experimental data has been mathematically ordered and visualized with QPCR Software. Visible developmental defects in embryos such as pericardial and yolk sac edemas, tail malformations, slow growth cases were observed after 48 hours of doxorubicin treatment. Doxorubicin has also decreased heart rate of the embryos from 148 ± 3 beats per minute in controls to 132 ± 3 beats per minute. At 0.04 mg/ml of doxorubicin relative survival of the embryos was about 88 – 100% in comparison with that of the controls. In these conditions p53 and bax expression was upregulated by 2.6 and 1.7-fold respectively that shows apoptosis induction by doxorubicin. Thus, our results confirm the opportunity to apply *Danio rerio* embryos for indication of genotoxicity by marker genes expression.

ПРОТОКОЛЫ РЕАБИЛИТАЦИИ ДЕТЕЙ С ПАТОЛОГИЕЙ В ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИННОВАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ БЫСТРОГО ПРОТОТИПИРОВАНИЯ

Рогинский В.В., Иванов А.Л., Евсеев А.В., Попов В.К., Панченко В.Я.

Введение

Технологии быстрого прототипирования используются в России при подготовке операций в челюстно-лицевой области с 1998 года [1]. За более чем десятилетие развития были разработаны и внедрены многочисленные схемы и протоколы хирургического лечения на основе планирования с использованием быстрого прототипирования. В настоящее время они вошли в рутинные схемы лечения пациентов с целым рядом хирургических заболеваний челюстно-лицевой области [2,3]. В данной работе приводятся сведения об использовании разработанных алгоритмов с оценкой их эффективности.

Материалы и методы

Всего технологии использованы у 200 пациентов в возрасте от 3 месяцев до 18 лет с различными диагнозами. Схема обследования включала в каждом случае проведение компьютерной томографии в аксиальной проекции с толщиной среза 0,5-2 мм или спиральной компьютерной томографии. Данные обследования получали в виде файлов в формате DICOM, которые обрабатывались при помощи специализированного программного обеспечения (Materialise Mimics) с целью преобразования в трехмерный вид. Такие цифровые модели переводились в твердые копии с масштабе 1:1 при помощи установок быстрого прототипирования. Для получения стереолитографических моделей использовались технологии лазерной стереолитографии (установка ЛС-250) для 149 пациентов (74,5%), FDM (установка Stratasys FDM-3000) для 49 пациентов (24,5%), 3D-printing (установка Contex Zprinter 310 Plus) для 2 пациентов (1%).

Результаты

Применяемые технологии быстрого прототипирования имеют точность выше разрешающей способности компьютерной томографии (размер пиксела 0,1 мм), что делает возможным их использование при подготовке хирургических операций. Каждая из представленных технологий имеет свои особенности. Лазерная стереолитография – более высокая точность, полупрозрачный материал, механическая и аппаратная постобработка, средняя скорость изготовления модели. FDM – непрозрачный материал повышенной прочности, аппаратная постобработка, использование водорастворимого материала поддержки, возможность изготовления моделей из воска, низкая скорость изготовления. 3D-printing – непрозрачный материал белого цвета, низкая себестоимость моделей, высокая скорость изготовления.

На основе технологий быстрого прототипирования были разработаны и применены следующие методики планирования лечения пациентов с патологией в челюстно-лицевой области: 1) использование стереолитографической модели с целью уяснения анатомических особенностей конкретного пациента, 2) создание многокомпонентных моделей с выделением зоны поражения (опухоли) для определения объема операции, 3) изготовление индивидуального эндопротеза на модели методом скульптуры, 4) изготовление модели эндопротеза из воска для получения литьевых форм, 5) изготовление литьевых форм непосредственно методом быстрого прототипирования, 6) изготовление прототипа эндопротеза из основного материала для использования при создании литьевых форм, 7) проведение пробной операции на модели, 8) изготовление хирургических шаблонов для определения костной резекции с одномоментным устранением сформированного дефекта, 9) припасовка используемых во время операции конструкций – титановых пластин, титановых сеток, КДУ и пр., 10) использование модели для интраоперационной навигации.

Во всех случаях использование стереолитографических моделей было признано полезным.

Выявлены следующие преимущества: 1) повышение точности диагностики, 2) сокращение времени операции, 3) повышение точности изготовленных конструкций – эндопротезов, пластин, сеток, КДУ, 4) сокращение времени операции, 5) увеличение объема реконструктивного вмешательства, 6) сокращение количества хирургических этапов, 7) достижение стабильного эстетического и функционального результата хирургического лечения, 8) создание новых уникальных методик.

Заключение

Технологии быстрого прототипирования позволили внедрить инновационные методы в хирургическое лечение заболеваний челюстно-лицевой области, где достижение хорошего эстетического результата особо важно. Хирург получил инструмент, благодаря которому он может детально изучить операционную область заранее до проведения операции. Создание рутинных методик привело к возникновению новых требований и стандартов качества лечения целого ряда заболеваний. Технологии быстрого прототипирования не теряют своей актуальности в условиях эволюции цифровых технологий виртуального трехмерного компьютерного планирования, поскольку являются необходимым звеном в переводе цифровой информации в аналоговый вид, а значит делают возможным использование результатов виртуального планирования в лечении конкретного пациента.

Литература

Рогинский В.В., Попов. В.К., Евсеев А.В. и др. Стереолитографическое биомоделирование в детской челюстно-лицевой хирургии. // Детская стоматология, 2000.

Иванов А.Л. Использование методов компьютерного и стереолитографического биомоделирования в детской челюстно-лицевой хирургии. // Кандидатская диссертация. – Москва. – 2003.

Рогинский В.В., Арсенина О.И., Иванов А.Л. и др. Планирование хирургическо-ортодонтического лечения пациентов с деформациями челюстей. 2005.

ПОСТЕРЫ
POSTERSИЗМЕНЕНИЯ МЕМБРАН КЛЕТОК ПРИ ДЕЙСТВИИ ПЕРСПЕКТИВНЫХ
НЕЙРОПРОТЕКТОРОВ СЕМЕЙСТВА ИХФАНОВ

Алексеева О.М., Миль Е.М., Бинюков В.И., Албантова А.А., Голощапов А.Н.,
Бурлакова Е.Б., Ягольник Е.А.¹, Ким Ю.А.²

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Россия,

119334, Москва, ул. Косыгина д.4. (495)939-74-09, olgavek@yandex.ru,

1Тульский государственный университет, 2Институт биофизики клетки РАН, Пущино

Первыми мишенями при введении экзогенного вещества в организм животных являются мембраны клеток и растворимые белки крови. Деструктивные свойства таких веществ ярко проявляются при превышениях концентрационных ограничений. В работе было исследовано влияние перспективных мультитаргетных нейропротекторов семейства ИХФАНов. Это гибридные антиоксиданты, созданные в ИХФ РАН на базе экранированного фенола фенозана путем добавления в молекулу жирнокислотного остатка и холинового фрагмента. Таким образом, пытались получить химеру с мультитаргетными свойствами: жирнокислотных «хвост» позволяет молекуле «заякориться» в мембране, холиновых фрагмент придает антихолиновую активность и фенольная часть – антиоксидантные свойства. По-видимому, такая молекула приобретает значительную деструктивную функцию. Причем синергически увеличиваются все ее роли и антихолинэстеразная, и антиоксидантная – за счет закрепления в мембране и увеличения микровязкости мембраны при встраивании жирнокислотного «хвоста». Кроме того, по сравнению с фенозаном, проявляется большая деструктивная роль по отношению к мембране. Фенозан начинает изменять микродоменную структуру мембраны в значительно больших (2- 3 порядка) концентрациях. Появляется собственная фаза для ИХФАН-10 в зависимости от длины жирнокислотного остатка. Большие и средние концентрации разрушают бислой, малые и сверхмалые уменьшают кооперативность системы.

Влияние этих веществ на конформацию растворимого белка – бычьего сывороточного альбумина, определенное по тушению собственной флуоресценции, указывает на разрыхление структуры при высоких и средних концентрациях (выше 10^{-7} М), и при малых и сверхмалых концентрациях защита от проникновения воды внутрь молекулы, увеличивающаяся с увеличением длины жирнокислотного остатка ИХФАНов.

При воздействии на целую клетку мультитаргетный гибридный ИХФАН проявляет проапоптозный эффект, в то время как Фенозан обладает противоапоптозными свойствами.

CHANGES OF CELL MEMBRANES UNDER THE ACTION OF PERSPECTIVE NEUROPROTECTORS OF ICHFANS FAMILY

O.M. Alekseeva, E. M. Mil, V. I. Binyukov, Albantova A.A., Yu.A. Kim¹, E. A. Yagolnik², E.B. Burlakova, A.N. Goloshapov

N.M. Emmanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, Russia, 119334, Moscow, St.. Kosygin, 4. (495) 939-74-09, olgavek@yandex.

¹*Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia*

²*Tulsky State University*

First by targets at the introduction of exogenous substances in animal organism are the cell membranes and soluble blood proteins. The destructive properties of such substances vividly occur when exceeding the concentration limitations. In work influence of perspective multitargets neuroprotectors of ICHFANs family has been examined. This hybrid antioxidant, created in Institute of Chemical Physics wounds based on screened phenol of phenosan by the addition of molecule of fatty acids remainder and choline fragment. So that tried to obtain chimera with multitargets properties: fatty acids <the tail> permits molecule <to anchor> in membrane, the choline fragment gives the anticholineesterase activity and the phenol part - the anti-oxidant properties. Evidently, such molecule gains great destructive function. While all of its roles synergistically increase and anticholineesterase and antioxidant - at expense fixation in membrane and micro viscosity increase of membrane when building in fatty acids <tail> occurs. Besides compared to phenosan was occurred the big destructive role in relation to membrane. The phenosan begins to modify the microdome structure of membrane in much (to 2- 3 orders) concentrations. The own phase for ICHFANs were appeared at the membrane, subject to length of fatty acids remainder. The big and medium consistencies destroy the belayer, low and ultra small reduce the system cooperativity.

Impact of these substances on conformation of soluble protein - bovine serum albumin, certain on extinction of intrinsic fluorescence, indicates the structure loosening when high and medium consistencies (above 10⁻⁷M), and when low and ultra small concentrations the defense against water encroachment inside of molecule, mounting with lengthening of fatty acids remainder of ICHFANs.

When affecting the whole cell multitargets hybrid ICHFANs exhibit the proapoptotic effect, while the phenosan has antiapoptotic properties.

ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ БЕЛКОВ – ОСНОВНЫХ МАРКЕРОВ АПОПТОЗА (P53 И BCL-2) ПРИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ

Албантова А.А., Миль Е.М., Гуревич С.М., Козаченко А.И., Наглер Л.Г.

Институт биохимической физики РАН им. Н.М. Эмануэля, Москва, Россия

В последние десятилетия отмечается большой рост и развитие новых онкологических заболеваний. Существенными причинами увеличения числа злокачественных новообразований являются, с одной стороны, ухудшение социально-экономических условий, снижение жизненного уровня населения, распространение табакокурения, загрязнение окружающей среды, с другой – недостаточный уровень профилактических мероприятий в сфере онкологии и несвоевременное лечение.

Одним из основных процессов метаболизма клеток является процесс обновления клеток путем апоптоза, замедление которого приводит к старению, а усиление может вызывать клеточную гибель. Обнаружено, что курение сигарет, в том числе и «легких» вызывает длящийся апоптоз клеток

дыхательных органов, соприкасающихся с сигаретным дымом. При длительном курении, в связи с полиморфизмом генов основных белков апоптоза и в связи с возможностью более легкой мутации основных апоптотических генов у части курильщиков, недостаток защитных функций организма может приводить к высокой степени риска рака у курильщиков. Известно, что курильщики находятся в зоне наибольшего риска по частоте возникновения рака легких и дыхательных путей, при которых наблюдаются замещения в гене p53, а также различные изменения в регуляции апоптоза.

Так, в клетках рака легкого, было обнаружено повышение основных маркеров bcl-2 и p53 в 27% случаев и 51% соответственно. С другой стороны, в клеточной линии карциномы курильщика, наблюдается увеличение экспрессии p53, умеренный уровень экспрессии bcl-2 и низкий уровень bax. При этом, обнаружено, что происходит мутация гена p53 (A-->G переход во втором кодоне 220), что приводит к аминокислотным замещениям в белке от тирозина к цистеину.

Поскольку белки регуляторы апоптоза p53 и bcl-2 могут дать важную информацию об изменениях в организме курильщиков, в работе эти параметры были исследованы в сыворотке крови среди: некурящих, бывших курильщиков и сильно курящих пациентов, а также онкологических больных с раком гортани и дыхательных путей.

В нашей работе показано, что у пациентов с онкологическими заболеваниями, содержание белка p53 существенно выше, чем у здоровых доноров. Было обнаружено, что в группе больных средний уровень белка p53 более чем в 3 раза ($p = 0,0002$) превышает уровень p53 в группе здоровых. Следует отметить высокую вариабельность параметра p53 в контрольной группе (от 0,8 до 3,2, один индивидум имел значение $p53=5,7$). Однако колебания значений p53 не коррелировали с интенсивностью курения. Таким образом, в группе онкологических больных уровень p53 значительно повышен, что может быть связано с мутациями гена P53, приводящих к появлению долгоживущего белка p53. В то же время, как было отмечено выше, содержание bcl-2 у онкологических больных не отличается от уровня bcl-2 в группах здоровых доноров (некурящих и курящих 1 типа), что может быть связано со степенью заболевания.

С другой стороны у ряда сильно курящих здоровых пациентов уровень белка bcl-2 резко возростал, по сравнению с малокурящими и некурящими пациентами. Повышение уровня белка bcl-2, регулятора апоптоза митохондрий, который в крови находится в растворимом виде, вероятно, связано с его ролью как антиоксиданта и противовоспалительного белка. При этом усиливалась активность антиоксидантной системы – была повышена активность ферментов, СОД, ГП. Совместное защитное действие антиапоптозного белка Bcl-2 и ферментов антиоксидантной системы - СОД, ГП у некоторых сильно курящих пациентов, вероятно, может быть связано с особенностями генотипа этих пациентов.

CHANGING THE CONTENT OF PROTEINS - THE MAIN MARKERS OF APOPTOSIS (P53 AND BCL-2) IN ONCOLOGICAL DISEASES OF THE RESPIRATORY TRACT

A.A. Albantova, E.M. Miles, S.M. Gurevich, A.I. Kozachenko, L.G. Nagler
Emanuel Institute of Biochemical Physics, RAS, Kosygina str, 4, Moscow, 119334

In the last decades have seen great growth and development of new cancers. Significant reasons for the increase of malignant neoplasms are on the one hand, the deterioration of socio-economic conditions, decline of living standards, the spread of tobacco smoking, environmental pollution, on the other - lack of preventive measures in the field of oncology and delayed treatment.

One of the basic processes of cell metabolism is the process of updating of cells by apoptosis, which

leads to slower aging, and amplification can cause cell death. Found that cigarette smoking, including "light cigarette" is a continuing apoptosis of respiratory organs in contact with cigarette smoke. With long-term smoking, in connection with gene polymorphism of basic proteins and apoptosis in relation to the possibility of a mild mutation of the major apoptotic genes of smokers, the lack of protective functions of the body can lead to high risk of cancer in smokers. It is well known that smokers are in the area of greatest risk on the incidence of lung cancer and respiratory tract, where the observed substitution in the gene p53, as well as various changes in the regulation of apoptosis.

Thus, in cells of lung cancer, was found increased core markers bcl-2 and p53 in 27% and 51% respectively. On the other hand, in the carcinoma cell line smoker, an increase in the expression of p53, a moderate level of expression of bcl-2 and low levels of bax. In this case, it was found that the gene mutation is p53 (A → G transition in the second codon 220), which leads to amino acid substitutions in the protein from tyrosine to cysteine.

As regulators of apoptosis proteins p53 and bcl-2 may provide important information about changes in the body of smokers in these parameters were investigated in serum from: a non-smoking, former smokers and heavily smoking patients and cancer patients with cancer of the larynx and airway.

In our study shows that patients with cancer, p53 protein is significantly higher than in healthy donors. It was found that in patients with an average level of p53 protein in more than 3 times ($p = 0.0002$) exceeds the level of p53 in the healthy group. It should be noted the high variability of the parameter of p53 in the control group (from 0,8 to 3,2, one individual had a value of $P53 = 5.7$). However, the variation of the p53 did not correlate with the intensity of smoking. Thus, in a group of cancer patients significantly increased the level of p53, which may be associated with mutations in the p53 gene, leading to the emergence of long-lived protein p53. At the same time, as noted above, the contents of Bcl-2 in cancer patients is not different from the level of Bcl-2 in groups of healthy donors (non-smokers and smokers with type 1), which may be associated with the degree of the disease.

On the other hand a number of heavily smoking healthy individuals the level of Bcl-2 protein increased sharply compared with Medium smoker and nonsmokers. Increased Bcl-2 protein, regulator of mitochondrial apoptosis, which is in the blood is in soluble form, probably due to its role as an antioxidant and anti-inflammatory protein. At the same time enhances the activity of antioxidant system - has been increased activity of enzymes, SOD, GP. Joint protective effect of antiapoptotic Bcl-2 protein and antioxidant enzymes system - SOD, GP in some heavily smoking patients probably can be related to the genotype of these patients.

МУКОАДГЕЗИВНЫЕ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫЕ МИКРОЧАСТИЦЫ, СОДЕРЖАЩИЕ РЕКОМБИНАНТНЫЙ ИНСУЛИН ЧЕЛОВЕКА И ЕГО АНАЛОГИ

**Балабушевич Н.Г.¹, Печенкин М.А.¹, Зоров И.И.¹, Шибанова Е.Д.²,
 Михальчик Е.В.³, Ларионова Н.И.¹**

¹Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова,
 119991 Москва, Ленинские горы, 1/3

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и А.А. Овчинникова РАН,
 119871, Москва, улица Миклухо-Маклая, 16/10

³Научно-исследовательский институт физико-химической медицины,
 Москва, 119992, Малая Пироговская, 1а

Целью данного исследования является разработка системы пероральной доставки рекомбинантного инсулина человека путем сочетанного воздействия на физико-химические

процессы, понижающие биодоступность гормона.

Микрокапсулирование инсулина проводилось путём последовательной адсорбции декстрансульфата и хитозана на наноструктурированной микроматрице, представляющей собой нерастворимый полиэлектролитный комплекс белка с полианионом. Кроме инсулина человека использованы его аналоги аспарт, имеющий замену Pro^{B28} на Asp, и лизпро, в котором проведена инверсия двух аминокислотных остатков Pro^{B28} на Lys и Lys^{B29} на Pro.

Исследованы свойства полиэлектролитных микрочастиц с гормонами: защита от воздействия pH желудочно-кишечного тракта, поверхностный заряд, мукоадгезивные свойства, связывание ионов Ca⁺², уменьшение деградации белков под действием протеаз тонкого кишечника. С помощью гель-фильтрации изучено влияние способности к самоассоциации инкапсулируемых инсулинов на форму высвобождения белков из микрочастиц. Показано, что инсулины аспарт и лизпро, высвобождающиеся из микрочастиц в виде мономеров большей степени подвержены протеолиту по сравнению с инсулином человека, выделяющимся в виде гексамера. Проанализирована концентрация инсулина человека в крови диабетических крыс после перорального введения микрочастиц.

Обсуждено сочетанное потенциальное влияние свойств полиэлектролитных микрочастиц и микрокапсулируемых рекомбинантных белков на увеличение биодоступности инсулина при пероральном применении.

MUCOADHESIVE POLYELECTROLYTE MICROPARTICLES CONTAINING RECOMBINANT HUMAN INSULIN AND ITS ANALOGUES

N.G. Balabushevich¹, M.A. Pechenkin¹, I.N. Zorov¹, E.D. Shibanova², E.V. Mikcalchik³, N.I. Larionova¹

¹Chemistry Department, Moscow State University, 119991, Moscow, Russia

²Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, RAS, 117997, Moscow, Russia

³Scientific Research Institute of Physical-Chemical Medicine, 119992, Moscow, Russia

The purpose of the present work is to develop a system for recombinant human insulin peroral delivery by affecting both physical and chemical processes which influence insulin bioavailability.

Microparticles containing recombinant human insulin and its analogues aspart & lispro were prepared via alternate adsorption of chitosan and dextran sulfate from solutions onto microaggregates of protein-dextran sulfate insoluble complex. Besides the recombinant human insulin, also its analogues aspart with Pro^{B28} substituted by Asp, and lispro with the inversion of Pro^{B28} to Lys and of Lys^{B29} to Pro, were brought into work.

The following properties of polyelectrolyte hormone-microparticles were studied: protective effect against medium pH and against proteolytic degradation by intestinal proteases, surface charge and mucoadhesive properties, Ca⁺² binding capacity. The influence of insulins self-association ability on the form of their molecules released from the microparticles was studied by gel-filtration. It was shown that aspart and lispro were released in a monomeric form, whereas original recombinant human insulin was released in a hexameric form being less liable to proteolysis. In the diabetic rat model the peroral administration of recombinant insulin microparticles was followed by the assay of its blood level.

The joint effects of properties of polyelectrolyte microparticles and encapsulated recombinant proteins improving their bioavailability at peroral administration are discussed.

ALU И 7SL РНК ИНДУЦИРУЮТ ПРО-АПОПТОТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В КЛЕТКАХ MCF-7 *IN VITRO*

Барякин Д. Н., Семенов Д. В.

*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. ак. Лаврентьева, 8, Новосибирск, 630090, Россия*

Рибонуклеиновые кислоты являются одними из наиболее многофункциональных биополимеров. РНК участвуют в переносе и реализации генетической информации, транспорте аминокислот, направляют и осуществляют ферментативные реакции. Большая часть РНК функционирует и расщепляется в цитоплазме или ядре клетки, но также известно, что РНК содержатся во внеклеточных жидкостях, например, в культуральной среде, кондиционированной клетками млекопитающих, в плазме крови и в плазме молока человека.

Целью данной работы является исследование структуры внеклеточных РНК, циркулирующих в плазме крови человека, и установление возможных биологических функций таких РНК.

Ранее мы установили, что в плазме крови человека циркулируют фрагменты интронов пре-мРНК, L1- и Alu-содержащие транскрипты и короткие олигонуклеотиды, которые могут быть отнесены к разряду малых интерферирующих РНК [1]. Методом RT-PCR подтверждено, что в плазме крови человека, наряду с фрагментами рРНК и мРНК, присутствуют Alu- и L1-содержащие РНК. Установлено, что диапазон изменения концентраций РНК, содержащих Alu-мономеры, существенно шире, чем диапазон изменения концентраций фрагментов рРНК, мРНК GAPDH, а также форм РНК, содержащих Alu-димеры. Принимая во внимание тот факт, что Alu РНК и ее гомолог 7SL РНК являются неспецифическими регуляторами трансляции в клетках человека [2], можно предположить, что и фрагменты этих РНК, циркулирующие во внеклеточном пространстве, оказывают влияние на трансляцию на межклеточном уровне.

С помощью транскрипции *in vitro* РНК полимеразой фага Т7 мы синтезировали синтетические аналоги РНК плазмы крови человека и провели анализ влияния полученных аналогов на жизнеспособность клеток аденокарциномы молочной железы человека MCF-7 [3].

Комплементарный аналог Alu РНК (Alu-), а также прямой (7SL+) и комплементарный (7SL-) аналоги 7SL РНК вызывали снижение жизнеспособности клеток. Были выявлены про-апоптотические морфологические изменения клеток, такие как разрушение межклеточных контактов, открепление клеток от пластиковой подложки, конденсация цитоплазмы клеток и их ядер. Аналоги 7SL+ и 7SL- также индуцировали про-апоптотические изменения цитоплазматической мембраны клеток MCF-7, характеризующиеся экспозицией фосфотидилсерина на внешней поверхности мембраны клеток. Действие AluY_a5 и 7SL РНК сопровождалось снижением трансмембранного потенциала митохондрий клеток MCF-7. При этом не происходило олигонуклеосомной фрагментации ядерной ДНК, что можно объяснить отсутствием в этих клетках ключевого фермента апоптотического каскада – каспазы 3.

В совокупности полученные результаты указывают на то, что Alu и 7SL РНК вызывают подавление жизненно важных процессов и инициацию про-апоптотических изменений в клетках человека.

Работа поддержана грантами: РФФИ № 10-04-01386-а, РФФИ № 10-04-01442-а, ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» № 02.740.11.0715

1. Semenov, D.V., Baryakin, D.N., Kamynina, T.P., Kuligina, E.V., Richter, V.A. Fragments of noncoding RNA in plasma of human blood // Ann. N.Y. Acad. Sci. – 2008. – V. 1137. – P. 130-134.

2. Häslер, J., Strub, K. Alu elements as regulators of gene expression // Nucleic Acids Res. 2006. – V. 34. – N. 19. – P. 5491-7.

3. Semenov, D.V., Stepanov, G.A., Baryakin, D.N., Koval, O.A., Kuligina, E.V., Richter V.A. Extracellular RNA as Regulators of Cellular Processes // Circulating Nucleic Acids in Plasma and Serum / Ed. P.B. Gahan. - Springer Science+Business Media B.V., 2011. – P. 233-237.

INDUCTION OF PRO-APOPTITIC PROCESSES IN MCF-7 CELLS *IN VITRO* BY ALU AND 7SL RNA**Baryakin D. N., Semenov D. V.***Institute of chemical biology and Fundamental medicine,
Lavrentiev Ave.8, Novosibirsk, 630090, Russia*

Ribonucleic acids are one of the most multifunctional biopolymers: RNAs take part into transfer and realization of the genetic information; transport of amino acids; guide and catalyze reactions. Most of RNA molecules functions and is decayed in cytoplasm or in cell nucleus. It is also known that RNAs are contained in extracellular liquids, in culture medium conditioned by mammal cells, in human blood plasma and in plasma of human milk.

The aim of the current work is to determine primary structure of extracellular RNAs circulating in human blood plasma and to identify possible biological functions of such RNA.

We have found that there are fragments of pre-mRNA introns, L1- and Alu-containing transcripts and short oligonucleotides circulating in human blood plasma [1]. It was confirmed by RT-PCR that fragments of rRNA and mRNA were presented in human blood plasma as well as fragments of Alu and L1 RNAs. It was established that the concentration variety of RNA containing Alu-monomer is rather wider than that of fragments of rRNA, mRNA, GAPDH and RNA forms containing Alu-dimers. Taking into account that Alu RNA and it's homologue 7SL RNA are nonspecific regulators of translation in human cells [2], it is possible to assume fragments of the RNAs circulating in extracellular space to affect translation on intercellular way.

By the transcription *in vitro* we synthesized artificial analogues of human blood plasma RNAs and performed the analysis of influence of these analogues on viability of a human mammary gland adenocarcinoma cells (line MCF-7) [3].

Complement analogue of Alu RNA (Alu-) and both direct (7SL+) and complement (7SL⁻) analogues of 7SL RNA decreased the cell viability. Such pro-apoptotic morphological cell changes as destruction of intercellular contacts, removal of cells from a plastic substrate, condensation of cytoplasm of cells and their nuclei has been revealed. Analogues 7SL+ and 7SL- also induced pro-apoptotic changes of cytoplasmatic membrane of MCF-7 cells characterized by exposition of phosphatidylserine on the outer leaflet of cell membrane. The action of Alu and 7SL PHK was accompanied by decrease of mitochondrial transmembrane potential of MCF-7 cells. However, no oligonucleosome fragmentation of nuclear DNA was detected. That could be explained by the lack of key enzyme of the apoptotic cascade (caspase 3).

Our results point out the possibility that Alu and 7SL RNAs cause suppression of the cell vital *processes which is accompanied by the initiation of pro-apoptotic changes of human cells.*

The work was supported by the Russian Ministry of Education & Science (02.740.11.0715), RFBR grant № 10-04-01386-a and RFBR grant № 10-04-01442-a

1. Semenov, D.V., Baryakin, D.N., Kamynina, T.P., Kuligina, E.V., Richter, V.A. Fragments of noncoding RNA in plasma of human blood // Ann. N.Y. Acad. Sci. – 2008. – V. 1137. – P. 130-134.
2. Häslér, J., Strub, K. Alu elements as regulators of gene expression // Nucleic Acids Res. 2006. – V. 34. – N. 19. – P. 5491-7.
3. Semenov, D.V., Stepanov, G.A., Baryakin, D.N., Koval, O.A., Kuligina, E.V., Richter V.A. Extracellular RNA as Regulators of Cellular Processes // Circulating Nucleic Acids in Plasma and Serum / Ed. P.B. Gahan. - Springer Science+Business Media B.V., 2011. – P. 233-237.

УГЛЕВОДСОДЕРЖАЩИЕ НАНОЧАСТИЦЫ ДЛЯ СЕЛЕКТИВНОГО ТРАНСПОРТА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Большебородова А.К., Курочкина Н.А., Себякин Ю.Л.

*Московская государственная академия тонкой химической технологии
им. М.В. Ломоносова, 119571, г. Москва, пр-т Вернадского, д.86*

Гликоконъюгаты - компоненты плазматической мембраны, играющие важнейшую роль в различных биологических процессах, основанных на специфичном связывании определённых углеводных последовательностей с белками лектинами, например, передаче сигналов, межклеточном узнавании и других. Атипичный путь гликозилирования на поверхности опухолевых клеток влечет за собой чрезмерную экспрессию лектиноподобных рецепторов, что приводит к их высокой аффинности по отношению к моно- и олигосахаридным остаткам.

Известно, что клетки печени, а также некоторые виды опухолей отличаются повышенным уровнем белков, способных связываться с остатками D-галактозы. Был выделен и охарактеризован маннозо-связывающий лектин, играющий важную роль в неспецифическом иммунного ответе против различных микроорганизмов, например, микобактерий туберкулеза.

В данной связи, получение углеводсодержащих соединений и создание на их основе транспортных систем являются перспективным направлением развития адресной доставки биологически активных соединений. В настоящее время в качестве носителей, способных выполнять подобные функции, используются неогликоконъюгаты – синтетические производные.

В нашей работе для целей селективной доставки разработана схема получения ряда новых углеводных амфифилов, содержащих D-галактозу, D-лактозу или D-маннозу. Благодаря структурному разнообразию, синтезированные конъюгаты могут быть использованы при создании липосомальных транспортных систем для лечения различных заболеваний печени, а также туберкулеза.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 08-04-01150).

CARBOHYDRATE-CONTAINING NANOPARTICLES FOR SELECTIVE TRANSPORT OF BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS

Bolsheborodova A.K., Kurochkina N.A., Sebyakin J.L.

*Moscow State Academy of Fine Chemical Technology Named After M.V.Lomonosov
119571, Moscow, Vernadsky pr., 86*

Glycoconjugates are components of the plasmatic membrane, which play a crucial role in various biological processes based on specific binding of certain carbohydrate-protein sequences with lectins, such as signal transduction, intercellular recognition, and others. Atypical course of glycosylation on their surface results in over-expression of lectin-like receptors that encompass high affinity for mono- and oligosaccharide moieties.

It is known that liver cells and some types of tumors defined by abnormal level of proteins capable of binding with the D-galactose moieties. In addition mannose-binding lectin was isolated and characterized. It plays an important role in the nonspecific immune response against various microorganisms such as Mycobacterium Tuberculosis.

In this regard obtaining of carbohydrate-containing compounds and creation transport systems on their basis are being promising direction in development of targeted delivery of biologically active compounds.

Currently, as a carrier capable of performing similar functions are used neoglycoconjugates - synthetic derivatives.

In our work scheme of synthesis a number of new carbohydrate amphiphiles containing D-galactose, D-lactose or D-mannose was developed for purposes of target delivery. Due to the structural diversity of synthesized conjugates, they can be used to make liposomal transport systems for the treatment of various liver diseases, and also tuberculosis.

This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research (Grant № 08-04-01150).

К СОЗДАНИЮ НОВОГО АНТИКАНЦЕРОГЕННОГО ПРЕПАРАТА ИЗ ПРОБИОТИКОВ И ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ УЗБЕКИСТАНСКОГО ПРОПОЛИСА

Элова Н.А.¹, Миралимова Ш.М.¹, Огай Д.К.¹, Еникеева З.М.²

¹Институт микробиологии АН РУз, 100143, Ташкент, ул. Дурмон йули, 30

²Республиканский Онкологический Научный Центр МЗ РУз

Ранее нами был установлен антиканцерогенное действие мертвых клеток *Propionibacterium avidum* 1 при внутрибрюшинном введении экспериментальным мышам BALB/c за 3 и 6 дней до перевивки штамма Аденокарциномы Толстого Кишечника (АКАТОЛ).

Целью данной работы является изучение антиканцерогенной активности комплексного препарата, состоящего из *Propionibacterium avidum* 1, *Lactobacillus casei* 925 и спиртовой фракции Узбекистанского прополиса.

Материалы и методы. Препараты вводили мышам BALB/c перорально трехкратно ежедневно в течение 10 дней. Испытывали 3 варианта препарата: пробиотик + 1% фракции прополиса, пробиотик + 2.5% фракции прополиса, пробиотик + 5% фракции прополиса. По истечении 10 дней перевивали опухолевые клетки АКАТОЛ, забивали животных через 7, 14 и 21 день.

В каждой группе определяли массу опухоли, печени, забирали селезенки для иммунологического контроля. Определяли процент Торможения Роста Опухоли (%ТРО) по массе и объему, активность натуральных киллерных клеток в гомогенате селезенки.

Установлено, что в первом варианте (1% фракции прополиса) через 7 дней после перевивки %ТРО по массе составил 76.32%, по объему – 79.87%, снижение перевиваемости на 57%; через 14 дней эти показатели составили 83.75%, 88.04% и 43% соответственно; через 21 день – 67.87%, 54.56% и максимальное снижение перевиваемости опухоли – 71%.

Во второй группе (с 2.5% фракции прополиса) противоопухолевый эффект наблюдался только через 14 дней (ТРО по массе 71.31%, по объему – 77.32%), на 21 день наблюдалась стимуляция опухолеобразовательного процесса (рост опухоли по массе 137.65%, по объему – 152.84%).

В третьей группе с добавлением к пробиотику 5% спиртовой фракции прополиса снижение перевиваемости опухолей на 7, 14 и 21 день составило соответственно 43%, 14% и 86%. ТРО по массе 84.98%, по объему – 99.32% на 7-й день, 55.72% по массе и 78.02% по объему – на 14 день и 75.29% по массе и 70.24% по объему – на 21 день.

Иммунологические показатели по уровню экспрессии рецепторов CD₁₆ натуральных киллерных клеток показали, что происходит активация туморисидальной активности в 1.7 раз по сравнению с контролем.

CREATING OF NEW ANTICARCINOGENIC PREPARATION CONSISTING OF THE PROBIOTICS AND PHENOLIC COMPOUNDS OF THE PROPOLIS OF UZBEKISTAN

Elova N.A.¹, Miralimova Sh.M.¹, Ogay D.K.¹, Enikeeva Z.M.²

¹*Institute of Microbiology of Academy of Sciences of the RUz,
100143, Tashkent, Dormon yuli str, 30*

²*The Republic Oncological Scientific Center of Healthcare Ministry of the RUz*

Earlier we have established anticancer activity of the killed cells of *Propionibacterium avidum* 1 when introabdominal introducing to experimental BALB/c mice before 3 and 6 days of inoculation of the Colon Adenocarcinoma (ACATOL) strain.

The aim of this work is to study the anticarcinogenic activity of the complex preparation consisting of *Propionibacterium avidum* 1, *Lactobacillus casei* 925 and the alcohol fraction of the propolis of Uzbekistan.

Materials and methods. Preparations were introduced to BALB/c mice *per os* 3 times every day during 10 days. We have tested 3 versions of preparations: probiotic + 1% of propolis fraction, probiotic + 2.5% of propolis fraction and probiotic + 5% of propolis fraction. In 10 days the ACATOL tumor cells were inoculated and mice were killed in 7, 14 and 21 days after date of tumor inoculation.

In every group the tumor and liver weight were measured and the spleen was taken out for immunological tests. The percent of the tumor growth inhibition (%TGI) by weight and by volume and activity of the natural killer cells in the spleen homogenates were measured.

It was established that in the first variant (1% of propolis fraction) in 2 days after tumor inoculation % TGI by weight was 76.32%, and by volume – 79.87%, transplatability decreased for 57%; in 14 days these indicators were 83.75%, 88.04% and 43% accordingly; in 21 days – 67.87%, 54.56% and the maximum decreasing of the transplatability – 71%.

In the second group (with 2.5% of propolis fraction) antitumor action was observed just in 14 days (%TGI by weight was 71.31%, by volume – 77.32%), in 21 days the stimulation of tumor forming was observed (growth of tumor for 137.65% by weight and for 152.84% by volume).

In the third group when 5% of alcohol fraction of propolis was added to probiotic, decreasing of tumor transplatability in 7, 14 and 21 days was 43%, 14% и 86% accordingly. TGI by weight 84.98%, by volume – 99.32% in 7th day, 55.72% by weight 78.02% by volume – in 14th day and 75.29% by weight and 70.24% by volume – in 21st day.

Immunological indicators by the level of expression of CD₁₆ natural killer cells' receptors have showed that the 1.7 times activation of tumoricidal activity is going on in comparison with control.

МЕХАНИЗМ ИНДУКЦИИ АПОПТОЗА КЛЕТОК MCF-7 ПОД ДЕЙСТВИЕМ РЕКОМБИНАНТНОГО АНАЛОГА ПОТЕНЦИАЛЬНОГО ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПЕПТИДА – ЛАКТАПТИНА

Фомин А.С., Семенов Д.В., Коваль О.А., Кулигина Е.В., Рихтер В.А.

*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. ак. Лаврентьева, 8, Новосибирск, 630090, Россия*

Ранее мы установили, что в человеческом молоке присутствуют белковые факторы способные вызывать апоптотическую гибель клеток аденокарциномы молочной железы человека MCF-7. С помощью ряда хроматографических подходов из молока был выделен, охарактеризован и идентифицирован один из таких белковых факторов - протеолитический фрагмент каппа-казеина

человека с молекулярной массой 8 кДа (лактаптин) [1]. Также, мы получили и охарактеризовали генно-инженерный аналог лактапина RL2, индуцирующий апоптотическую гибель клеток аденокарциномы MCF-7 [2]. Было показано, что апоптотическая гибель клеток MCF-7 под действием RL2 сопровождается активацией эффекторной каспазы 7 [3].

В данной работе было проведено полногеномное исследование изменений транскриптома клеток аденокарциномы молочной железы человека MCF-7 под действием рекомбинантного аналога лактапина RL2 методом гибридизации РНК на чипах Illumina (США). Было установлено, что при действии RL2 на клетки MCF-7 происходит последовательное (8, 18, 28 ч) снижение копийности генов в группах мРНК, кодирующих белки трансляционной машины (белки рибосом, в том числе и белки рибосом митохондрий), компонентов аппарата синтеза АТФ в митохондриях, белки транскрипционного и репликативного аппарата. При этом происходит увеличение копийности мРНК в группе, кодирующей белки р53-зависимой активации апоптоза, в том числе и мРНК белка р53.

С помощью метода аффинной хроматографии в тандеме с масс-спектрометрией (MALDI-TOF) мы провели анализ белков клеток MCF-7, взаимодействующих с RL2. При этом были выделены и идентифицированы 3 белка цитоскелета клеток MCF-7: α и β цепи тубулина – строительного компонента микротрубочек и α -актинин-1 – структурный белок актиновых филаментов.

Методом проточной цитофлуориметрии нами было показано, что при действии RL2 на клетки MCF-7 происходит диссипация трансмембранного потенциала митохондрий.

Методом вестерн-блот анализа было показано, что при инкубации клеток аденокарциномы молочной железы человека MCF-7 в присутствии рекомбинантного аналога лактапина RL2 происходит активация инициаторных каспаз 8 и 9.

Известно, что нарушение динамики микротрубочек, формирующих веретено деления клетки при митозе, приводит к остановке клеточного цикла в G_2/M фазе, что, в свою очередь, может приводить к каспаз-зависимой или каспаз-независимой апоптотической гибели клетки, регулируемой р53 [4]. Повышение уровня экспрессии р53 может приводить к формированию митохондриальных пор, диссипации трансмембранного потенциала и к активации каспазы 9 [5].

Таким образом, полученные результаты позволяют предположить, что механизм действия рекомбинантного аналога лактапина RL2 на клетки аденокарциномы молочной железы человека MCF-7 включает в себя взаимодействие RL2 с белками микротрубочек, нарушение динамики веретена деления, остановку клеточного цикла в G_2/M фазе, что приводит к р53 регулируемой апоптотической гибели по митохондриальному пути.

1. Некипелая В.В., Семенов Д.В., Потапенко М.О., Кулигина Е.В., Кит Ю.Я., Романова И.В., Рихтер В.А. Доклады Академии Наук. 2008. Т. 419. С. 268-271.

2. Фомин А. С., Семенов Д. В., Кулигина Е. В., Коваль О. А., Бабкина И. Н., Тикунова Н. В., Матвеева В. А., Матвеев Л. Э., Рихтер В. А. Генно-инженерные аналоги потенциального противоопухолевого пептида лактапина. Вестник НГУ. 2010. Т. 8. вып. 1. С. 17 – 26.

3. Semenov D.V., Fomin A.S., Kuligina E.V., Koval O.A., Matveeva V.A., Babkina I.N., Tikunova N.V., Richter V.A. Action of recombinant analogs of novel milk pro-apoptotic peptide lactaptin on cultured human cells. *Protein J.* 29. 3. 174-80, 2010

4. Vakifahmetoglu H., Olsson M., Zhivotovsky B. Death through a tragedy: mitotic catastrophe. *Cell Death and Differentiation* 15, 1153–1162, 2008

5. Kroemer G, Galluzzi L, Brenner C. Mitochondrial Membrane Permeabilization in Cell Death. *Physiol Rev* 87: 99–163, 2007

Работа поддержана грантами: РФФИ № 10-04-01109-а, ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» № 02.740.11.0715

MECHANISM OF MCF-7 CELLS APOPTOSIS TRIGGERED BY RECOMBINANT ANALOG OF POTENTIALLY ANTI-TUMOR PEPTIDE – LACTAPTIN

Fomin A.S., Semenov D.V., Koval O.A., Kuligina E.V., Richter V.A.

*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS,
Lavrentiev Ave., 8, Novosibirsk, 630090, Russia*

Previously we have found the proteins of human milk which are capable to induce the apoptotic death of human mammary adenocarcinoma cells MCF-7. Lactaptin – one of the pro-apoptotic proteins of human milk – was purified, characterized and identified as proteolytic fragment of kappa-casein [1]. Subsequently we constructed the recombinant analog of lactaptin (RL2) which induced apoptosis of MCF-7 cells [2]. Apoptosis of MCF-7 was characterized by activation of pro-caspase 7 leading to accumulation of active form of the enzyme [3].

In the present work we have done whole-genome HT assay for expression profiling of RL2 treated MCF-7 cells (Illumina, USA). We have shown that RL2 initiated the consecutive decrease (8, 18, 28 hour) of mRNAs levels for the following gene groups: translation machinery (ribosomal proteins, as well as mitochondrial ribosomal proteins), several components of mitochondrial ATP-synthase complex, several proteins of transcription and replication machinery. At the same time we observed increasing level of p53 mRNAs as well as mRNAs of p53 upregulated MCF-7 genes.

Identification of human MCF-7 cells proteins interacting with RL2 was accomplished by affinity purification coupled with tandem mass spectrometry method. We identified 3 proteins of cytoskeleton interacted with RL2: α and β chains of tubulin and α -actinin-1. Tubulin forms heterodimers and assembles into microtubules; α -actinin-1 is a homodimer that cross-links actin filaments into parallel bundles.

We performed flow cytometry assay of RL2 treated MCF-7 cells. It was shown that RL2 induced dissipation of MCF-7 cells mitochondrial transmembrane potential ($\Delta\psi$).

Western blot analysis of lysates of MCF-7 cells treated by recombinant analog of lactaptin showed the accumulation of initiator caspases 8, 9 active forms.

It is well known that cell cycle arrest at G_2/M phase can occur when microtubules dynamic of mitotic spindle is suppressed. During G_2/M arrest cells can die through caspase-dependent or caspase-independent apoptosis upregulated by p53 [4]. Overexpression of p53 can lead to mitochondrial membrane permeabilization, loss of $\Delta\psi$ and activation of initiator caspase 9 [5].

Accordingly to data obtained we can suggest that possible mechanism of apoptotic death of human mammary adenocarcinoma cells MCF-7 induced by recombinant analog of lactaptin RL2 includes the following steps: interaction of the RL2 with microtubule proteins, suppression of mitotic spindle dynamics, cell cycle arrest at G_2/M phase and p53 upregulated apoptosis through intrinsic mitochondrial pathway.

1. Nekipelaya V.V., Semenov D.V., Potapenko M.O., Kuligina E.V., Kit Y.Y., Romanova I.V., Richter V.A. Dokl. Biochem. Biophys. 2008. V. 419. P. 58-61.

2. Fomin A.S., Semenov D.V., Kuligina E.V., Koval O.A., Matveeva V.A., Babkina I.N., Tikunova N.V., Richter V.A. Genetically engineered analogs of potentially anti-tumor peptide - lactaptin. Vestnik NSU. 8. 1. 17 – 26, 2010

3. Semenov D.V., Fomin A.S., Kuligina E.V., Koval O.A., Matveeva V.A., Babkina I.N., Tikunova N.V., Richter V.A. Action of recombinant analogs of novel milk pro-apoptotic peptide lactaptin on cultured human cells. *Protein J.* 29. 3. 174-80, 2010

4. Vakifahmetoglu H., Olsson M., Zhivotovsky B. Death through a tragedy: mitotic catastrophe. *Cell Death and Differentiation* 15, 1153–1162, 2008

5. Kroemer G, Galluzzi L, Brenner C. Mitochondrial Membrane Permeabilization in Cell Death. *Physiol Rev* 87: 99–163, 2007

Was supported by the Russian Ministry of Education & Science (02.740.11.0715) and RFBR grant 10-04-01109

АНТИАГРЕГАЦИОННЫЕ СРЕДСТВА КЛАССА 3,5-ЗАМЕЩЕННЫХ ИЗОКСАЗОЛОВ И ИХ 4,5-ДИГИДРОПРОИЗВОДНЫХ

Фомин М.А.¹, Демина О.В.², Лаптев А.В.¹, Лукин А.Ю.¹, Беликов Н.Е.¹, Швеи В.И.¹, Варфоломеев С.Д.², Ходонов А.А.¹

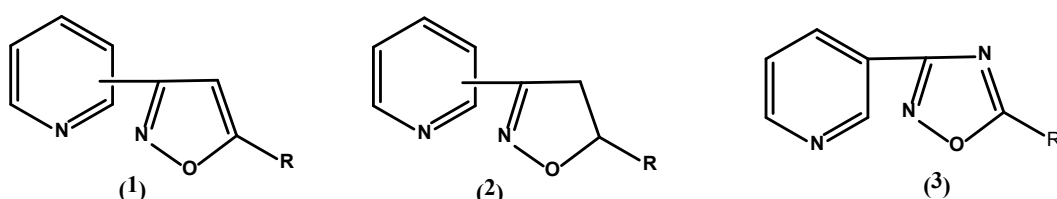
¹ Московская государственная академия тонкой химической технологии
им. М.В. Ломоносова, 119571, Москва, пр. Вернадского, 86;

² Учреждение Российской академии наук Институт биохимической физики
им. Н. М. Эмануэля РАН, Москва.

Ключевые слова: изоксазолы, 1,2,4-оксадиазолы, антиагрегационные средства.

Направленная регуляция системы гемостаза человека, позволяющая предотвращать различные патологии сердечно-сосудистой системы, включая инфаркт и инсульт, – одна из актуальнейших проблем фундаментальной и прикладной науки. Тромбоциты, образующие первичный «белый» тромб на поврежденной стенке кровеносного сосуда, являются одним из ключевых звеньев системы гемостаза. Исследование взаимодействия потенциальных антиагрегационных средств различной химической природы с тромбоцитами позволяет выявить возможный механизм действия данных веществ и необходимо для разработки новых антиагрегационных средств с меньшими побочными эффектами.

Ранее нами было показано, что соединения класса 3,5-замещенных изоксазолов (1) обладают антиагрегационной активностью. Для определения фармакофорного фрагмента и выявления механизма действия соединений (1) нами были синтезированы их 4,5-дигидропроизводные (2) и биоизостеры – 3,5-замещенные 1,2,4-оксадиазолы (3). Антиагрегационная активность этих соединений была исследована *in vitro* с использованием трех индукторов агрегации – арахидоновой кислоты, аденозиндифосфата и адреналина.



Py: 2-, 3- и 4- пиридил
R: -C₆H₅, -C₅H₁₁, -C₆H₁₃,
-CH₂OH, -COOMe, -COOEt,
-CH₂X (X=Cl, Br)

R': -C₆H₅, -C₆H₁₃

ANTIAGGREGATORY AGENTS OF 3,5-SUBSTITUTED ISOXAZOLES AND THEIR 4,5-DIHYDRO DERIVATIVES

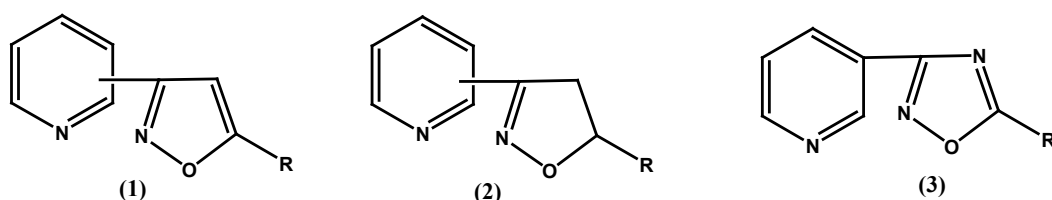
M.A. Fomin¹, O.V. Demina², V. Laptev¹, A.Yu. Lukin¹, N.E. Belikov¹, V.I. Shvets¹,
S.D. Varfolomeev², A.A. Khodonov¹

¹ M.V. Lomonosov Moscow State Academy of Fine Chemical Technology, Department of Biotechnology and Bionanotechnology; Vernadskogo avenue, bd. 86, Moscow, Russia, 119571;

² N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics of Russian Academy of Sciences, Moscow

Key words: isoxazoles, 1,2,4-oxadiazoles, platelets, antiaggregatory agents

The direct regulation of human hemostasis allowed to prevent different pathologies of cardio-vascular system, including the stroke and infarction, is one of the issues of the day of fundamental and applied science. Platelets formed primarily “white” thrombus at the damaged wall of blood vessels are the one of the key parts of the hemostasis. The investigation of the interaction between potent antiaggregatory agents of different chemical nature and platelets allows to the understanding of the possible action mechanism of these compounds, and these studies are necessary for the development of new antiaggregatory drugs possessed weak side effects. It was shown by us earlier that the compounds (1) belong to 3,5-substituted isoxazoles class had the antiaggregatory activities. For the determination of pharmacophore fragments of compounds (1) and their action mechanism exposure the 4,5-dihydro derivatives (2) of compounds (1) and 3,5-substituted 1,2,4-oxadiazoles (3) as bioisosteres of the same compounds were synthesized by us. The antiaggregatory activities of these compounds were studied *in vitro* with the usage of three inductors of platelet aggregation, such as arachidonic acid, adenosine diphosphate and adrenaline.



Py: 2-, 3- and 4-pyridyl
R: -C₆H₅, -C₅H₁₁, -C₆H₁₃,
-CH₂OH, -COOMe, -COOEt,
-CH₂X (X=Cl, Br)

R': -C₆H₅, -C₆H₁₃

ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСНЫХ ПРИРОДНЫХ ГИПОЛИПИДЕМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ НА ИНГИБИРОВАНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ БИОПЛЕНОК

Готовцева В.Ю.¹ Борисова Н.А.², Бибикова М.В.²

¹Московский государственный университет инженерной экологии,
105066, г. Москва, улица Старая Басманная, 21/4

²ОАО «ГосНИИСинтезбелок», 109004, г. Москва, ул. Б. Коммунистическая, 27

В настоящее время медицинская микробиология стоит перед сложной проблемой распространения полирезистентных возбудителей инфекционных заболеваний. Формирование резистентных штаммов связано со способностью микроорганизмов образовывать биопленки – сообщество микроорганизмов, объединенное вырабатываемым ими адгезивным матриксом, внутри которого микроорганизмы обмениваются генетическим материалом, определяющим, в частности,

их устойчивость, а также защиту от воздействия иммунологических механизмов организма и действия антибактериальных препаратов. Чувствительность бактерий к антибиотикам в биопленках в сравнении с планктонной культурой снижается в 100-1000 раз. Показано, что в состав поверхностной оболочки биопленки входят липиды. Нами был проведен скрининг ингибиторов формирования биопленок среди отобранных ранее природных гиполипидемических соединений.

В работе были исследованы спиртовые экстракты из мицелия 16 культур актиномицетов, проявляющих гиполипидемические свойства. В качестве тест-культур на образование биопленок использовали штамм *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 и *Micobacterium sp.* 3207. Отобрано 5 препаратов, ингибирующих образование биопленок. Препарат № 59 при концентрации 1 мкг/мл подавлял образование биопленок *Ps. aeruginosa* ATCC 27853 на 20%. Отобранные препараты сами не оказывали антибиотического действия в отношении планктонной тест-культуры, однако при добавлении совместно с гентамицином в питательную среду с бульонной культурой, усиливали действие антибиотика, снижая его МПК в 2 раза.

Установлено, что подавление образования биопленок, формируемых *Micobacterium sp.* 3207 под влиянием препарата №6 наблюдается при 1 мкг/мл (29% подавления роста) и постепенно повышаясь, достигает максимума при 100 мкг/мл (65% подавления роста). При действии на планктонную культуру в дозе 1 мкг/мл наблюдается максимум подавления роста (95%).

INFLUENCE OF COMPLEX NATURAL HYPOLIPIDEMIC COMPOUNDS ON THE INHIBITION OF FORMATION OF BACTERIAL BIOFILMS

Gotovtseva V.Y.¹, Borisova N.A.², Bibikova M.V.²

¹ Moscow State University of Environmental Engineering,
105066, Moscow, Staraya Basmannaya st., 21/4

² "State Scientific-Research Institute of the synthesis of protein",
109004, Moscow, Bolshaya Communisticheskaya st., 27

Currently, medical microbiology is facing a challenge because of the spread of multiresistant pathogens causing infectious diseases. Formation of resistant strains associated with the ability of microorganisms to form biofilm - a community of microorganisms, combined by producing an adhesive matrix, within which microorganisms exchange genetic material that determines, in particular, their stability, as well as protection from exposure to the immunological mechanisms and antibacterial drugs. The sensitivity of bacteria to antibiotics in biofilms compared to planktonic culture reduced by 100-1000 times. It is shown that biofilm includes lipids in the surface membrane. We carried out screening of biofilm formation inhibitors among the previously selected natural lipid-lowering compounds.

We studied ethanolic extracts of mycelium isolated from 16 cultures of actinomycetes revealing hypolipidemic properties. As a test-culture on the formation of biofilms we used a strain of *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Micobacterium sp.* 3207. We selected 5 compounds that inhibit the formation of biofilms, one of them, № 59 at a concentration of 1 mkg/ml inhibited the formation of biofilms *Ps. aeruginosa* ATCC 27853 at 20%. Selected compounds themselves did not have antibiotic activity against the planktonic test-culture, but when added together with gentamicin in culture medium with broth culture, it enhances the activity of antibiotic, reducing its MIC in twice.

Established that the suppression of biofilms formation formed by *Micobacterium sp.* 3207 under the influence of the compound № 6 is observed at 1 mkg/ml (29% growth inhibition) and gradually increased, reaching maximum at 100 mkg/ml (65% growth inhibition). Maximum growth inhibition of planktonic culture reaches when applied in a dose 1 mkg/ml (95%).

СКРИНИНГ СТАТИНОБРАЗУЮЩИХ ШТАММОВ ГРИБА *ASPERGILLUS TERREUS*

Гулямова Т.Г., Рузиева Д.М., Насметова С.М., Расулова Г.А., Лобанова К.В., Абдульмянова Л.И.

100128, Узбекистан, Ташкент, ул. А.Кадыри, 7Б, Институт микробиологии
e-mail: imbasru@uzsci.net

Изучена статинообразующая активность 30 местных штаммов гриба *Aspergillus terreus*, выделенных в разное время из различных природных субстратов и сохраняемых в коллекции Института микробиологии АН РУз. Предварительный отбор культур проводили по величине зон подавления роста тест-культуры *Neurospora crassa* (ВКМ-875). В результате проведенных исследований было установлено, что из 30-ти исследуемых штаммов *A. terreus* только 10 штаммов образуют зоны подавления от 5 до 19 мм, что свидетельствовало об их способности в различной степени продуцировать ловастатин. Из них наиболее высокое количество ловастатина было отмечено в 4 штаммах- *A. terreus*-2, *A. terreus*-4, *A. terreus*-6 и *A. terreus*-20, где его содержание соответствовало от 1,3 до 2,8 мкг/мл образца.

При ВЭЖХ - анализе на хроматограммах экстрактов как основной метаболит статиновой природы во всех четырех штаммах нами был выявлен ловастатин. Однако, в отличие от остальных штаммов, при разделении экстрактов штамма *A. terreus*-4 проявлялся минорный пик, соответствующий по времени удерживания симвастатину.

При глубинном культивировании на картофельно-глюкозной среде содержание в штаммах *A. terreus* 6, 2, 4 и 20 составило 22, 36, 80 и 121 мг/л среды, соответственно, на разных сроках культивирования. Таким образом, исходное содержание ловастатина в местных штаммах аспергилл дает основание считать их вполне перспективными для подбора и оптимизации условий культивирования.

SCREENING OF STATIN SYNTHESIZING STRAINS OF *ASPERGILLUS TERREUS*

Gulyamova T.G., Ruzieva D.M., Nasmetova S.M., Rasulova G.A., Lobanova K.V., Abdulmyanova L.I.

Institute of microbiology, 7b A.Kadyri street, Tashkent, Uzbekistan, 100128, imbasru@uzsci.net

Statin synthesizing activity of 30 indigenous strains of *Aspergillus terreus* was studied. These strains were isolated earlier from different natural sources and are preserved at the collection of the Institute of microbiology. Preliminary selection was conducted according to zone of growth suppression of test-culture *Neurospora crassa* (VKM-875). It was established that out of 30 studied strains of *A. terreus* only 10 strains produce zone of growth suppression varying from 5 to 19 mm, which testified their ability to synthesize lovastatin at different quantities. The highest lovastatin quantity was observed in 4 strains *A. terreus*-2, *A. terreus*-4, *A. terreus*-6 and *A. terreus*-20, where its content varied from 1.3 to 2.8 µg/ml.

HPLC analysis revealed that lovastatin is present as the main metabolite of statin nature in all 4 strains. But, unlike other studied strains, extraction of strain *A. terreus*-4 presented the minor peak corresponding by the retention time to simvastatin.

Submerged cultivation of *A. terreus* strains 6, 2, 4 and 20 on potato-glucose medium revealed lovastatin content at 22, 36, 80 and 121 mg/l of medium, respectively, on different terms of cultivation. Thus, initial lovastatin content in indigenous strains of *Aspergillus terreus* allows to consider them as potential producers for section and optimization of cultivation conditions.

СОСТАВ И СТРОЕНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ РЯДА РАСТЕНИЙ ЕВРОПЕЙСКОГО СЕВЕРА РОССИИ

Зубова Ю.О., Злобин А.А.

ГОУ ВПО «Вятский государственный университет»,
610000, г. Киров, ул. Московская, д.36

Заболевания, связанные с нарушениями иммунитета, являются серьезной медицинской и социальной проблемой, поэтому создание лекарственных препаратов, в том числе выделенных из возобновляемого растительного сырья, веществ, регулировать иммунные процессы, является одним из наиболее актуальных направлений современной биоорганической химии и медицины.

В ходе выполнения работы получены и охарактеризованы пектиновые полисахариды надземной части чистотела большого, крапивы двудомной, кипрея узколистного, зверобоя продырявленного, земляники лесной, чертополоха, купальницы европейской, манжетки обыкновенной и плодов рябины обыкновенной.

Методами метилирования, ГЖХ-МС, а также ЯМР-спектроскопии исходных пектиновых полисахаридов и их фрагментов, полученных с помощью ферментативного и частичного кислотного гидролиза, показано, что они представлены галактуронами и/или рамногалактуронами, а состав их нейтральных моносахаридов (арабиноза, галактоза, ксилоза, манноза, глюкоза) характерен для боковых углеводных цепей рамногалактуронана-I.

Показано, что 1%-ные водные растворы пектиновых полисахаридов манжетки обыкновенной, кипрея узколистного, купальницы европейской, земляники лесной и крапивы двудомной обладают выраженным антимикробным действием в отношении клеток *Escherichia coli*. Кроме того, 1%-ные растворы пектиновых полисахаридов рябины обыкновенной, купальницы европейской, чертополоха и чистотела большого обладают способностью подавлять рост клеток *Pseudomonas aeruginosa*, а 1%-ные водные растворы пектинов манжетки обыкновенной, кипрея узколистного и чертополоха ингибируют рост клеток *Staphylococcus aureus*.

Полученные результаты могут быть в дальнейшем использованы для разработки на основе пектиновых полисахаридов данных растений препаратов, обладающих антимикробным действием.

ОБРАЗОВАНИЕ «НЕКУЛЬТИВИРУЕМЫХ» ФОРМ МИКОБАКТЕРИЙ СОПРОВОЖДАЕТСЯ ГИПЕРСЕКРЕЦИЕЙ ВНЕКЛЕТОЧНОГО ПОЛИСАХАРИДА

Назарова Е.В.^{1,2}, Ильина А.С.¹, Шлеева М.О.², Морозова Н.С.¹, Сорокоумова Г.М.¹, Селищева А.А.³, Капрельянц А.С.², Швец В.И.¹

¹Московская государственная академия тонкой химической технологии
им. М.В. Ломоносова, 119571 Россия, Москва, проспект Вернадского, д. 86

²Институт биохимии им. А.Н.Баха РАН,
119071 Россия, Москва, Ленинский проспект, д. 33, стр. 2

³Биологический факультет Московского государственного университета
им. М.В. Ломоносова, 119991 Россия, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12

Углеводные полимеры выполняют разнообразные функции у микроорганизмов, в том числе и у микобактерий. Они используются в качестве резерва энергии, служат для построения каркаса клеточной стенки, внеклеточных капсул, при образовании биопленок. Все эти защитные барьеры, составленные из полисахаридов, обеспечивают надежное сопротивление патогена воздействиям

организма-хозяина. Кроме того, выживание микобактерий в суровых условиях хозяина обусловлено их способностью образовывать дормантные формы, которые принято приписывать латентной форме микобактериальных инфекций, одной из которых является туберкулез. Однако на сегодняшний день не существует данных о наличии внеклеточных полисахаридов у микобактерий при образовании дормантных форм.

В данной работе проводили исследование культуральной жидкости *in vitro* модели «некультивируемого» состояния микобактерий (рост клеток *Mycobacterium smegmatis* в модифицированной среде Hartman's-de Bont). При использовании для экстракции лиофилизата культуральной жидкости хлороформа наблюдали образование геля во всем объеме системы. Для выделения гелеобразующего соединения применяли последовательное многократное осаждение геля метанолом и ацетоном. Масса этого вещества пятнадцатикратно превосходила значение массы клеток. Полученное соединение демонстрировало отсутствие растворимости в разнообразных растворителях (ТГФ, ДМСО, ДМФА), в большом диапазоне pH (0,6-13,2). Данные ИК- и ЯМР-спектроскопии свидетельствуют о полисахаридной природе данного соединения.

Таким образом, впервые было обнаружено внеклеточное вещество полисахаридной природы, секретируемое в больших количествах при переходе микобактерий в состояние покоя, которое может выступать либо в роли запасаемого питательного вещества, либо являться резервуаром, позволяющим микобактериям внутри него адаптироваться к неблагоприятным условиям окружающей среды.

FORMATION OF “NON-CULTURABLE” FORMS OF MYCOBACTERIA IS ACCOMPANIED BY HYPERSECRETION OF EXTRACELLULAR POLYSACCHARIDE

Nazarova E.V.^{1,2}, Ilyina A.S.¹, Shleeva M.O.², Morozova N.S.¹, Sorokoumova G.M.¹, Selischeva A.A.³, Kaprelyants A.S.², Shvets V.I¹

¹*M.V.Lomonosov Moscow State Academy of Fine Chemical Technology,
119571 Russia, Moscow, prosp. Vernadskogo, 86*

²*A.N. Bach Institute of Biochemistry of Russian Academy of Science,
119071 Russia, Moscow, Leninskii prosp., 33/ 2*

³*Faculty of Biology, M.V.Lomonosov Moscow State University,
119991 Russia, Moscow, Leninskie gori, 1/12*

Carbohydrate polymers perform various functions for microorganisms including mycobacteria. They are used as an energy reserve, serve for construction of cell wall framework, extracellular capsule, and for biofilms formation. All these protective barriers composed of polysaccharides provide solid resistance of pathogen to host organism effects. Moreover mycobacteria survival inside of host severe environment is due to their ability to produce dormant forms, which are commonly attributed to latent forms of such mycobacterial infections as tuberculosis, for instance. However still there are no data concerning presence of extracellular polysaccharides during mycobacterial dormant cells formation.

In the present study we investigated culture liquid of *in vitro* model of mycobacteria “non-culturable” state (cultivation of *Mycobacterium smegmatis* cells in modified Hartman's-de Bont medium). Application of chloroform for culture liquid lyophilizate extraction was showed to result in gel formation in the whole volume of system. Multiple consecutive sedimentation of gel with methanol and acetone was used for gel-forming compound isolation. Mass of that substance was fifteen times as much as mycobacterial biomass. Obtained compound was insoluble in different solvents (tetrahydrofuran, dimethylsulfoxide, dymethylformamide), in a broad range of pH (0,6-13,2). IR- and NMR-spectroscopy data indicated polysaccharide nature of analyzed compound.

Thus we have detected for the first time an extracellular substance of polysaccharide nature being secreted in large quantities while mycobacteria enter a “non-culturable” state. This polysaccharide may serve as reserve nutrient or function as container inside of which mycobacteria adapt to unfavorable environment.

МИКРОРНК МЕЖГЕННОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ УЧАСТВУЮЩИЕ В РАЗВИТИИ РАКА ТОЛСТОЙ КИШКИ ЧЕЛОВЕКА

Исабекова А.С., Иващенко А.Т.

НИИ проблем биологии и биотехнологии КазНУ им. аль-Фараби, пр. аль-Фараби 71, Алматы, 050038, Казахстан, e-mail: a_ivashchenko@mail.ru

МикроРНК (miRNA) клеток животных происходят из межгенных участков и интронов. Нарушение экспрессии miRNA часто вызывает развитие онкозаболеваний, поэтому предлагается использовать miRNA для диагностики рака толстой кишки (РТК). Составлена база, включающая 295 межгенных miRNA. Нами проведен анализ работ по определению профиля экспрессии miRNA у больных. Из 295 miRNA отобраны 18, которые связаны с развитием РТК: let-7a-1, miR-21, miR-29a, miR-34a, miR-92, miR-96, miR-106a, miR-130a, miR-133b, miR-143, miR-145, miR-183, miR-200c, miR-203, miR-214, miR-221, miR-222, miR-320. Для определения наиболее значимых и перспективных miRNA в диагностике РТК был проведен анализ всех генов-мишеней предсказанных PicTar алгоритмом и отобраны те, mRNA которых имеют пять и более взаимодействующих с ними miRNA. Таких генов в общей сложности 114, из них mRNA 59 генов связывают по пять miRNA, 37 генов - по шесть, 9 генов - по семь, гены *ATXN1*, *ESRRG*, *KLF12*, *OGT*, *SLC1A2*, *ZFPM2* - по восемь, гены *OTUD4*, *SOBP* - по девять и ген *CPEB4* - 12 miRNA. Из этих генов только для *KLF12* установлено участие в развитии РТК. Нами создана база из 126 онкогенов, участвующих в онкогенезе РТК. Гены-мишени 18 miRNA были сравнены с созданной базой онкогенов и выявлено 32 общих генов: *ABC1*, *ADAMTS18*, *ADAMTSL3*, *AKT3*, *APC*, *CCND1*, *CSMD3*, *CNTN4*, *DBC1*, *DLC1*, *ERCC6*, *EP300*, *EPHA3*, *EYA4*, *FBXW7*, *FGFR3*, *IRS2*, *KIAA1409*, *KIT*, *KRAS2*, *MAP2K4*, *MET*, *MLL3*, *PKNOX1*, *PLCG1*, *PRKD1*, *PTEN*, *PTPN12*, *PTPRD*, *RET*, *TGFBR1*, *UHRF2*. Были выявлены 11 наиболее встречаемые межгенные miRNA взаимодействующие с экспериментально определенными 32 онкогенами. Эти miRNA (let-7a-1, miR-34a, miR-92, miR-96, miR-106a, miR-130a, miR-133b, miR-203, miR-214, miR-221, miR-320) предложены нами как маркеры для диагностики РТК, которые перекрывают все 32 гена. Ген *KLF12* имеет сайты связывания с miR-29a, miR-34a, hsa-miR-92, hsa-miR-106a, hsa-miR-203, miR-221, miR-222, miR-320 и шесть из них входят в список из 11 miRNA.

INTERGENIC MICRORNA IN HUMAN COLON CANCER DEVELOPMENT

Isabekova A.S., Ivashchenko A.T.

*SRI Problem Biology and Biotechnology, Al-Faraby KazNU,
av. Al-Faraby, 71, Almaty, 050038, Kazakhstan, e-mail: a_ivashchenko@mail.ru*

MicroRNA (miRNA) of animal cells appears to be expressed from intergenic region and introns. Alteration in miRNA expression is induced development of cancer and it is suggested to use miRNA for colon cancer (CC) diagnostics. Database including 295 intergenic miRNA has been made. We have

analysed the data of identification of profile of miRNA expression in patients with CC. Out of 295 intergenic miRNA 18 have been selected which under the literary data are connected with CC development: let-7a-1, miR-21, miR-29a, miR-34a, miR-92, miR-96, miR-106a, miR-130a, miR-133b, miR-143, miR-145, miR-183, miR-200c, miR-203, miR-214, miR-221, miR-222, miR-320. For definition of the most significant and perspective miRNA in CC diagnostics all target genes have been analysed that predicted by PicTar algorithm and genes have been selected, mRNA of which have five and more binding miRNAs. The total number of such genes is 114, 59 genes mRNA connect with five miRNA, 37 genes - with six, nine genes - with seven, *ATXN1*, *ESRRG*, *KLF12*, *OGT*, *SLC1A2*, *ZFPM2* genes - with eight, *OTUD4*, *SOBP* genes - with nine and *CPEB4* gene - twelve miRNAs. Among these genes only for *KLF12* participation in CC development was established. We have created database with 126 oncogenes taking part in oncogenesis of CC. 18 miRNAs target genes have been compared to the created base of oncogenes and thirty two general genes have been revealed: *ABC1*, *ADAMTS18*, *ADAMTSL3*, *AKT3*, *APC*, *CCND1*, *CSMD3*, *CNTN4*, *DBC1*, *DLC1*, *ERCC6*, *EP300*, *EPHA3*, *EYA4*, *FBXW7*, *FGFR3*, *IRS2*, *KIAA1409*, *KIT*, *KRAS2*, *MAP2K4*, *MET*, *MLL3*, *PKNOX1*, *PLCG1*, *PRKD1*, *PTEN*, *PTPN12*, *PTPRD*, *RET*, *TGFBR1*, *UHRF2*. The most often met intergenic eleven miRNA have been revealed which cooperating with experimentally identified thirty two oncogenes. This miRNAs (let-7a-1, miR-34a, miR-92, miR-96, miR-106a, miR-130a, miR-133b, miR-203, miR-214, miR-221, miR-32) are offered by us as the most significant markers for molecular CC diagnostics which overlap all thirty two genes. *KLF12* gene has binding sites to miR-29a, miR-34a, hsa-miR-92, hsa-miR-106a, hsa-miR-203, miR-221, miR-222, miR-320 and six of them correspond to the list offered for diagnostics out of eleven miRNAs.

ВЫЯВЛЕНИЕ АССОЦИАЦИЙ miRNA ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ОНКОЗАБОЛЕВАНИЙ ОРГАНОВ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА ЧЕЛОВЕКА

Ивашенко А.Т., Берилло О.А., Хайленко В.А.

Национальная нанотехнологическая лаборатория КазНУ им. аль-Фараби,
пр. аль-Фараби 71, Алматы, 050038, Казахстан, e-mail: a_ivashchenko@mail.ru

Малые РНК (miRNA) участвуют в посттранскрипционной регуляции экспрессии белок-кодирующих генов вызывающих онкозаболевания. Большинство miRNA действуют на pre-mRNA нескольких онкогенов, которые содержат в интронах miRNA, регулирующие экспрессию других онкогенов. Например, интронная miR-548n гена *DPY19L1* действует на mRNA 17 генов (*COL3A1*, *ERBB4*, *HNRNPK*, *MAP2K4*, *MGAT4B*, *NR2F2*, *SLIT2*, *TP63*, *PRKCA*, *PTK2*, *ST8SIA4*, *TNKS*, *CDH1*, *SMAD4*, *KRAS2*, *TGFBR2*, *CD44*). Каждая из трех miRNA: miR-548c-3p (*RASSF3*), miR-590-3p (*EIF4H*) и miR-641 (*AKT2*) может регулировать экспрессию 16 онкогенов. Большинство miRNA имеют по одному сайту связывания с mRNA соответствующих генов. Однако, есть примеры нескольких сайтов связывания одной miRNA в mRNA одного гена. Так, для miR-590-3p в mRNA генов *TP63*, *TNKS*, *SMAD4* имеется по 4 сайта связывания, в mRNA генов *HNRNPK*, *MRE11A*, *APC* по 3 сайта и в mRNA генов *COL3A1*, *HUWE1* по 2 сайта. Ввиду многочисленных связей регуляции экспрессии генов посредством miRNA, отдельные miRNA не могут служить селективными маркерами онкозаболеваний. Поэтому необходим контроль экспрессии ассоциаций miRNA. В качестве индикаторов отклонения от нормы использованы 229 miRNA, которые действуют на гены связанные с развитием опухолей органов ЖКТ. Анализ связей miRNA с экспрессией генов-мишеней позволил предложить ассоциации miRNA которые могут селективно диагностировать онкозаболевания. Так, изменение экспрессии miR-130a,b, miR-301a,b, miR-328, miR-378, miR-422a, miR-454, miR-499-5p, miR-875-5p характерно для рака пищевода, miR-137 - для рака желудка, miR-

142-3p, miR-146a, miR-149, miR-182, miR-183, miR-18a,b, miR-206, miR-224, miR-31, miR-361-5p, miR-371-5p, miR-375, miR-431, miR-451, miR-487b, miR-490-3p, miR-496, miR-506, miR-542-3p, miR-613, miR-874 для колоректального рака. Селективность ассоциаций miRNA необходимо проверить экспериментально с определением уровня экспрессии miRNA и белков соответствующих генов-мишеней.

REVEALING OF ASSOCIATIONS MIRNA FOR DIAGNOSTICS ONCODISEASE ORGANS OF GASTRIC-INTESTINAL TRACT OF THE HUMAN

Ivashchenko A.T., Berillo O. A., Khailenko V. A.

National Nanotechnology Laboratory of al-Farabi Kazakh National University, avenue al-Farabi, 71, Almaty, 050038, Kazakhstan, e-mail: a_ivashchenko@mail.ru

Small RNA (miRNA) participate in posttranscriptional regulation of expression of protein-coding genes causing oncodisease. The majority of miRNA affect pre-mRNA of several oncogenes which contain intronic miRNA, regulating expression of other oncogenes. For example, intronic miR-548n of *DPY19L1* gene affects mRNA of 17 genes (*COL3A1*, *ERBB4*, *HNRNPK*, *MAP2K4*, *MGAT4B*, *NR2F2*, *SLIT2*, *TP63*, *PRKCA*, *PTK2*, *ST8SIA4*, *TNKS*, *CDH1*, *SMAD4*, *KRAS2*, *TGFBR2*, *CD44*). Each of three miRNAs: miR-548c-3p (*RASSF3*), miR-590-3p (*EIF4H*) and miR-641 (*AKT2*) can regulate expression of 16 oncogenes. The majority of miRNAs have only one binding site with mRNA of corresponding genes. However, there are examples of several binding sites of one miRNA in mRNA single gene. So, for miR-590-3r in mRNA of *TP63*, *TNKS*, *SMAD4* genes are available four binding sites, in mRNA of *HNRNPK*, *MRE11A*, *APC* genes there are three binding sites and in mRNA of *COL3A1*, *HUWE1* gene - two binding sites. Due to numerous communications of expression regulation of genes by means of miRNA, some miRNA can not serve as selective markers of oncodisease. Therefore control of expression of miRNA associations is necessary. 229 miRNA as indicators of norm deviation are used they affect genes connected with development of tumors in organs of gastric-intestinal tract. The analysis of miRNA communications with expression of genes-targets has allowed to offer miRNA associations which can selectively diagnose oncodisease. For example, expression change miR-130a,b, miR-301a,b, miR-328, miR-378, miR-422a, miR-454, miR-499-5p, miR-875-5p is characteristic of esophageal cancer, miR-137 - of gastric cancer, miR-142-3p, miR-146a, miR-149, miR-182, miR-183, miR-18a, b, miR-206, miR-224, miR-31, miR-361-5p, miR-371-5p, miR-375, miR-431, miR-451, miR-487b, miR-490-3p, miR-496, miR-506, miR-542-3p, miR-613, miR-874 - of colorectal cancer. Selectivity of miRNA associations is necessary to be checked experimentally by establishing the of level of miRNAs and proteins expression of corresponding genes-targets.

ВЫДЕЛЕНИЕ И ЯМР-АНАЛИЗ ГЛИКОЛИПИДОВ *LACTOCOCCUS LACTIS* SUBSP. *CREMORIS* БИМ В-493-Д

Ижик А.В.¹, Новик Г.И.¹, Рахуба Д.В.¹, Пасьцяк М.², Гамьян А.², Книрель Ю.А.³

¹ Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск

² Институт иммунологии и экспериментальной терапии ПАН, Вроцлав

³ Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, Москва

Различия в качественном и количественном составе липидных компонентов клеточных стенок бактерий могут служить достаточно удобным и достоверным критерием для родовой хемоидентификации. Штамм *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* БИМ В-493-Д был получен из *Lactococcus* sp., выделенного из молока, методом адаптивной селекции по признаку множественной антибиотикорезистентности (штамм устойчив к кларитромицину, азитромицину, тримоксазолу, ципрофлоксацину, метронидазолу, амоксициллину). Культивирование *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* БИМ В-493-Д для выделения и анализа липидного компонента осуществляли на LB-среде с глюкозой в микроаэрофильных условиях при 30°C в течение 48 ч. Биомассу отмывали от компонентов среды PBS-буфером (рН 7,4) путём центрифугирования культуральной жидкости при 10000 g в течение 20 мин. Липидный компонент экстрагировали смесью хлороформ-метанол (2:1, об/об) в пропорции 15 мл на 1 г сырой биомассы в течение 24 ч при 37°C при постоянном перемешивании. Объединённые экстракты липидов упаривали в вакуумном роторном испарителе при 50°C. Очистку липидного компонента проводили посредством препаративной колоночной хроматографии на колонке с силикагелем Silica gel 60 (70-230 mesh). Липиды элюировали последовательно хлороформом, ацетоном и метанолом, скорость элюции 3 мл/мин. Хлороформенные фракции содержали нейтральные липиды, ацетоновые фракции – гликолипиды, метаноловые – фосфолипиды. Контроль разделения липидов осуществляли с использованием метода ТСХ (50 мг/мл, 5 мкл) на пластинках Silica gel 60 в системе хлороформ : метанол : вода (65:25:4, об/об/об). Хроматограммы обрабатывали 0,5%-ным раствором ванилина (детекция липидов) или орцинола (детекция гликолипидов) в этаноле с 3% H₂SO₄. Для выделения главного гликолипида *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* БИМ В-493-Д из фракции, содержащей гликолипиды, в качестве элюента использовали градиент метанола в хлороформе. Главный гликолипид был дополнительно очищен посредством препаративной ТСХ. ЯМР-анализ показал, что углеводная часть главного гликолипида *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* БИМ В-493-Д состоит из повторяющихся остатков α-D-глюкозы, связанных 1→2-гликозидной связью.

ПУТИ БИОСИНТЕЗА КОБАЛАМИНОВ И ПОРФИРИНОВ АКТИНОМИЦЕТАМИ РОДА *STREPTOVERTICILLIUM*

Каримова Ф.А., Рузиева Д.М., Гулямова Т.Г.

100128, Узбекистан, Ташкент, ул. А.Кадыри, 7Б, Институт микробиологии

e-mail: fakarimova@mail.ru

Многообразие биохимических функций порфиринов и кобаламинов определяет их широкую востребованность в медицине и всестороннее исследование качественных свойств и путей биосинтеза.

В этой связи целью наших исследований явилось изучение биосинтеза кобаламинов и порфиринов в актиномицетах рода *Streptovorticillium*. В результате скрининга был отобран

штамм *Streptovorticillium sp.-7*, обладающий высокой порфирино- и кобаламинсинтезирующей способностью.

Содержание порфиринов и кобаламинов в исследованном штамме составляло 466,0 и 7300 мкг/л соответственно.

Также нами было исследовано влияние питательных сред и условий культивирования на уровень накопления тетрапирролов в *Streptovorticillium sp.-7*.

Сравнительный анализ общего содержания порфиринов и кобаламинов показал, что среда Гаузе является наиболее благоприятной средой для повышения уровня накопления порфиринов и кобаламинов. Общее содержание порфиринов в этой среде составило 8,5 мг/л, в то время как кобаламинов- 21,7 мг/л.

Методом ВЭЖХ-анализа показано накопление интермедиатов порфиринового ряда с преобладанием копропорфирина III и кобаламинов с преобладанием цианокобаламина у штамма *Streptovorticillium sp. – 7*

Таким образом, штамм *Streptovorticillium sp. – 7* является эффективным продуцентом порфиринов и кобаламинов и может служить перспективной основой для биотехнологических разработок.

COBALAMINES AND PORPHYRINS BIOSYNTHESIS PATHWAYS IN *STREPTOVERTICILLIUM SP*

Karimova F.A., Ruzieva D.M., Gulyamova T.G.

Institute of microbiology, 7b A.Kadyri street, Tashkent, Uzbekistan, 100128

Diversity of biochemical functions porphyrins and cobalamines determines their high demand in medicine and comprehensive study of qualitative features and biosynthesis pathways.

The aim of the work was study of biosynthesis of cobalamines and porphyrins in *Streptovorticillium actynomycetes*. As result of screening strain *Streptovorticillium sp.-7* was selected as a culture with high porphyrine and cobalamine synthesizing ability. Porphyrins and cobalamines content in studied strain was 466.0 and 7300 mkg/l, respectively.

We have also studied influence of nutrient media and cultivation conditions on level of tetrapyrroles accumulation in *Streptovorticillium sp.-7*. Comparative analysis of aggregate content of porphyrins and cobalamines revealed that Gauze medium is the most favorable medium for increased level of tetrapyrroles. The total content of porphyrins in this medium was 8.5 mg/l, whereas of cobalamines – 21.7 mg/l.

HPLC-analysis revealed accumulation of intermediates of porphyrine family with prevailing content of coproporphyrin III and cyancobalamine at strain *Streptovorticillium sp. – 7*.

Thus, it was established that strain *Streptovorticillium sp. – 7* is effective producer of porphyrins and cobalamines and may serve as promising culture for biotechnological application.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНОВ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ - КАРБАПЕНЕМАЗ МЕТОДОМ ГИБРИДИЗАЦИОННОГО АНАЛИЗА НА ДНК-МИКРОЧИПАХ

Халилова Ю.И., Уляшова М.М., Рубцова М.Ю., Егоров А.М.

Химический факультет, МГУ имени М.В. Ломоносова,
119992 Москва, Ленинские горы, дом 1, строение 11

В течение последних 20 лет β -лактамы антибиотиков прочно удерживают одно из лидирующих положений в лечении широкого круга тяжелых инфекций, вызываемых грамотрицательными микроорганизмами. Однако эффективность их применения ограничена появлением и распространением устойчивых к ним штаммов микроорганизмов. Основным механизмом устойчивости грамотрицательных бактерий к β -лактамам антибиотикам – продукция β -лактамаз. На настоящий момент известно более 700 ферментов данного типа. Среди них карбапенемазы представляют собой наибольшую угрозу, так как обладают высокой каталитической активностью и широким спектром субстратной специфичности, включающим практически все β -лактамы антибиотиков, в том числе и карбапенемы. Для проведения инфекционного контроля и предупреждения распространения данного механизма резистентности необходимы надежные методы выявления данных ферментов.

Целью данной работы являлась разработка диагностического ДНК-микрочипа для определения устойчивости микроорганизмов к карбапенемам.

Метод гибридного анализа на ДНК-микрочипе состоял из нескольких этапов, включая выделение ДНК из клинического образца, амплификацию генов β -лактамаз с одновременным включением биотина в качестве метки в процессе мультиплексной ПЦР и последующую гибридизацию меченого ПЦР-продукта с олигонуклеотидами, иммобилизованными на поверхности мембранного микрочипа. Молекулы биотина в ДНК-дуплексах выявляли конъюгатом стрептавидин–пероксидазы хрена с последующей колориметрической детекцией фермента. В ходе работы был проведен дизайн олигонуклеотидных зондов и оптимизированы условия гибридного анализа на мембранных микрочипах для определения генов карбапенемаз молекулярных классов А, В и D. Тестирование микрочипов проводили с использованием контрольных штаммов, несущих гены известных карбапенемаз.

Разработанный метод применен для исследования клинических штаммов *Pseudomonas spp.*, *Acinetobacter spp.* и *Enterobacteriaceae spp.* с различным уровнем чувствительности к карбапенемам. Установлена хорошая корреляция полученных результатов с данными фенотипирования.

Метод идентификации генов карбапенемаз на микрочипе характеризуется хорошей точностью и производительностью. Он может быть использован в клинических микробиологических лабораториях для диагностики данного типа устойчивости микроорганизмов к карбапенемам, а также при проведении эпидемиологических исследований.

CARBAPENEMASES' GENES IDENTIFICATION BY HYBRIDIZATION ANALYSIS ON DNA-MICROARRAYS

Khalilova Yu.I., Ulyashova M.M., Rubtsova M.Yu., and Egorov A.M.

Department of Chemistry, M.V.Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

During the past 20 years β -lactam antibiotics hold a leading position in the treatment of a wide range of severe infections caused by Gram-negative bacteria. However, their effectiveness is limited by the emergence and spread of resistant strains of microorganisms. Production of bacterial enzymes β -lactamases is the main mechanism of resistance of Gram-negative bacteria to β -lactam antibiotics. Nowadays, more

than 700 enzymes of this type are known. Among them carbapenemases pose the greatest threat because of their high catalytic activity and a broad spectrum of substrate specificity. It is obvious that the presence of reliable methods for detection of these enzymes in clinical microbiology laboratories is necessary for effective infection control and prevention of dissemination of the mechanism of resistance.

The purpose of this study was to develop a diagnostic DNA microarray to determine the resistance of microorganisms to carbapenems.

The method of hybridization analysis on DNA microarray consisted of several steps, including DNA extraction from clinical samples, amplification of β -lactamase gene with simultaneous biotin-labeling in the process of multiplex PCR and subsequent hybridization of labeled PCR product with oligonucleotides immobilized on the membrane surface of the microchip. Molecules of biotin in the DNA duplexes were detected by conjugate streptavidin-horseradish peroxidase followed by colorimetric detection of the enzyme. The work included design of oligonucleotide probes and optimization of hybridization conditions for identification of carbapenemases' genes.

The developed method was used to study clinical strains of *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp. and *Enterobacteriaceae* spp with different levels of susceptibility to carbapenems. Good correlation was established between the results obtained on the microarrays and phenotyping.

In conclusion, this method shows high accuracy and productivity for the identification and epidemiologic monitoring of carbapenemases in the clinical diagnostic laboratory.

КАТИОННЫЕ СУБМИКРОННЫЕ ЭМУЛЬСИИ В КАЧЕСТВЕ НОСИТЕЛЕЙ БАВ

Колоскова О.О., Буданова У.А., Себякин Ю.Л.

*Московская государственная академия тонкой химической технологии
им. М.В. Ломоносова, г. Москва, проспект Вернадского 86*

Коллоидные системы широко исследуются в области разработки средств доставки лекарственных веществ. Наибольшее внимание уделяется носителям на основе микро- и наночастиц, микро- и наноэмульсий, наносупензий и липосом.

Большой интерес в качестве переносчиков лекарственных средств представляют положительно заряженные субмикронные эмульсии на основе алифатических производных аминокислот вследствие облегченного взаимодействия таких катионных средств доставки БАВ с эпителием.

В ходе работы предложена методология получения катионных мономерных и димерных производных L-глутаминовой и L-аспарагиновой кислот с различной длиной углеводородной цепи.

Проведено системное изучение свойств субмикронных эмульсий при варьировании состава компонентов и соотношения фаз коллоидных систем. Методом фотонно-корреляционной спектроскопии определены размеры и дзета-потенциал агрегатов дисперсной фазы.

Изучено влияние модифицирующих добавок на стабильность коллоидных систем. В качестве стабилизаторов применялись Tween 80 и Brij, различающиеся структурой полярной части (разветвленный и неразветвленный ПЭГ). Эмульсии, содержащие Brij, оказались стабильными уже при 0,5% ПАВ, в то время как для достижения такого же эффекта требуется 1,3% Tween 80.

Разработан эффективный способ включения в состав катионных субмикронных эмульсий 30% модельных терапевтических соединений гидрофильной и гидрофобной природы.

Таким образом, в результате проделанной работы разработана методология получения катионных субмикронных эмульсий, которые обладают большим потенциалом для создания на их основе систем доставки лекарственных препаратов различной природы.

Работа выполнена при поддержке российского фонда фундаментальных исследований (грант № 10-04-01382).

CATIONIC SUBMICRON EMULSIONS AS DELIVERY SYSTEM FOR BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES

Koloskova O.O., Budanova U.A., Sebyakin Yu.L.

*Moscow State Academy of Fine Chemical Technology named after Lomonosov M.V.,
Moscow, Prospect Vernadskogo 86*

Colloidal systems are widely studied in the development of drug delivery. Most attention is paid to carriers on the basis of micro-and nanoparticles, micro-and nanoemulsiy, nanosuspensions and liposomes.

Great interest as carriers of drugs represent positively charged submicron emulsion based on aliphatic amino acid derivatives by facilitating interaction this cationic delivery systems of biologically active substances with epithelium.

During the work the methodology of obtaining cationic monomeric and dimeric derivatives of L-glutamic and L-aspartic acid with varying length of hydrocarbon chain was suggested.

A systematic study of properties of submicron emulsions by varying the composition of components and the phase ratio of colloidal systems was carried. The size and dzeta potential of particle dispersion was determined by method of photon-correlation spectroscopy.

Influence of modifying additives on the stability of colloidal systems were studied. We used Tween 80 and Brij as stabilizers with different parts of the polar structure (branched and unbranched PEG). Emulsions containing Brij, were stable at 0.5% of surfactant, while in order to achieve the same effect requires 1,3% of Tween 80.

Effective way of inclusion in the cationic submicron emulsions 30% of model therapeutic compounds with hydrophilic and hydrophobic nature was developed.

Thus, as a result of the done work the reception methodology for obtaining the cationic submicronic emulsions which possess high potential for working out on their basis of systems delivery of new drugs with the various nature was developed.

This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research (Grant № 10-04-01382).

БИОСЕНСОРНЫЙ СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НАГАЗЫ В КОРОВЬЕМ МОЛОКЕ ДЛЯ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ МАСТИТА КОРОВ

Кондрашина А.В., Громова М.С., Сиголаева Л.В., Курочкин И.Н.

*Химический факультет Московского государственного университета
имени М.В. Ломоносова, 119991*

Фенольные биосенсоры на основе тирозиназы благодаря высокой чувствительности, которая достигается при анализе фенола, могут использоваться для определения активности ферментов, использующих производные фенола в качестве субстратов, в том числе в сильно разбавленных образцах биологических жидкостей и тканей при минимальной интерференции.

Анализ активности нагазы в коровьем молоке позволяет выявлять заболевание маститом у коров на ранних стадиях. При этом заболевании концентрация нагазы в молоке значительно повышается вследствие попадания фермента из крови в молоко через пораженные капилляры. Определение низких концентраций нагазы позволит диагностировать мастит на ранней стадии, что является залогом его успешного лечения.

Цель данной работы заключается в разработке биосенсорного метода анализа активности нагазы в коровьем молоке по субстрату фенил-N-ацетил-β-D- глюкозаминиду (PNAG) и детекции

выделяющегося фенола тирозиназным биосенсором.

Тирозиназный биосенсор создавали путем последовательной адсорбции (метод слой-за-слоем) поли(диметилдиаллиламмоний хлорида) и тирозиназы на поверхность планарного графитового электрода, формируемого методом трафаретной печати. Тирозиназный биосенсор имел следующие аналитические характеристики: чувствительность: $0,9 \text{ A}/(\text{M}\cdot\text{cm}^2)$; линейный диапазон: $1\cdot 10^{-8} \text{ M} - 1\cdot 10^{-5} \text{ M}$; операционная стабильность: 0,6% снижения отклика за одно измерение; предел детекции по фенолу 6 нМ.

Проведена адаптация рассматриваемой биоаналитической системы по детекции фенола в молоке (выбор рабочего потенциала, pH измерения, пробоподготовка, степень разбавления пробы, эффекты матрицы и проч.). В выбранных условиях получена калибровочная зависимость по коммерческому препарату нагазы, оценена чувствительность определения нагазы в чистых средах и в присутствии молока.

ИНДУКЦИЯ ПУТЕЙ РАЗОБЩЕНИЯ ДЫХАНИЯ И ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ У КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ДИАБЕТЕ

Корнеева М.М., Башмаков В.Ю., Попов В.Н.

*Воронежский государственный университет 394006, Россия, г. Воронеж,
Университетская пл., 1*

На сегодняшний день сахарный диабет (СД) является наиболее распространенной гормональной патологией. Статистика свидетельствует об увеличении числа больных к 2030 г в с 6,4% до 7,7%. Именно поэтому вопрос квалифицированного лечения СД становится очевидным и крайне актуальным. Факторы, провоцирующие возникновение СД, многочисленны, но основными из них считаются генетическая предрасположенность и ожирение.

Белки – разобщители семейства UCP (uncoupling proteins) активируются свободными жирными кислотами, снижая образование активных форм кислорода и препятствуя развитию различного рода болезней, в т.ч. и СД. С этой целью, мы проводили эксперименты на крысах – самцах (*Rattus norvegicus* L.), вводя им аллоксан (внутрибрюшинно, 150 мг/кг веса) – химический индуктор СД. Затем разделили крыс на две группы, в одной из них провели антиоксидантную терапию с помощью SkQ1 (250нМ; растворенный в воде). После аллоксановой инъекции уровень глюкозы возрос в 2 раза. Мы изучали экспрессию генов, кодирующих UCP2 и ANT. Было показано, что экспрессия мРНК UCP2 группы крыс, подверженной антиоксидантной митохондриально – направленной терапии, в 2 раза меньше, в отличие от другой группы. Похожая ситуация наблюдалась и с ant геном, но разница была более значимая. Уровень экспрессии после терапии SkQ1 был в 5 раз меньше, чем после индукции аллоксанового диабета. Нами делается предположение о возможном защитном эффекте фибратов, которые уже более 30 лет используют как вещества, способные снижать уровень холестерина в крови. Действие фибратов стимулирует работу рецепторов клеточного ядра, активируемых пероксисомальным пролифератором (PPARs). В виду этих данных мы начали эксперименты по фибратотерапии с целью проверить гипотезу активации расщепления липидов при активации PPAR, в результате чего возможен процесс мягкого разобщения, снижения активных форм кислорода.

THE INDUCTION OF UNCOUPLING RESPIRATION PATHWAY IN RATS UNDO EXPERIMENTAL DIABETES

Korneeva M.M., Bashmakov V.Yu., Popov V.N.

Voronezh State University Universitetskaya pl., 1, Voronezh, 394006, Russia

Diabetes mellitus being one of the most significant concerns is the top priority of many healthcare systems. The world prevalence of diabetes will increase from 6.4% to 7.7% by 2030. Obviously, there is very important question – to find out a quality treatment of this disease. A lot of causes of diabetes, but the most notable are genetic factors and obesity.

The UCPs protein family could be stimulated by free fatty acids resulting in reduction of ROS generation. That could prevent inflammatory processes, different diseases, including diabetes. For this reason in our experiments the chemical inductor of diabetes – alloxan were injected intraperitoneal (150 mg per kg of rat weight) to the male rats (*Rattus norvegicus* L.). Than those alloxan-treated rats were divided into two groups. One of those animal groups had received 250 nM targeted antioxidant SkQ1 solution with water. Others were given water without SkQ1. Glucose level was increased at least twice after injection. We have studied the expression of genes encoding UCP2 and ANT under the condition of experimental type I diabetes and antioxidant therapy. It was shown that in pancreas UCP2 mRNA expression under the condition of mitochondrial-addressed antioxidant therapy is 2.2-fold less than in alloxan-treated rats without the therapy. The similar situation was observed with ant gene, but the difference was more considerable. The expression level under SkQ1 treatment was 5-fold less than under the conditions of alloxan diabetes. We made a suggestion the fibrates have been used for the treatment of hypertriglyceridemia or mixed hyperlipidemia for more than 30 years could reveal protection features. Fibrates commonly act by stimulating the activity of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) and now we have started experiments to check the hypothesis that activation of lipid degradation through PPAR could results in “mild” uncoupling, ROS production reduction.

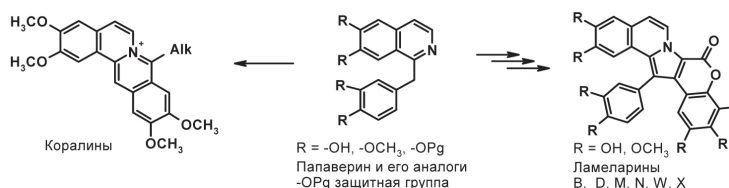
ПАПАВЕРИН В СИНТЕЗЕ НОВЫХ ЛИГАНДОВ ДНК

Криворотов Д.В.¹, Морошкина Е.Б.², Леонтьева Т.В.²

¹НИИ ГПЭЧ ФМБА России, Россия, Ленинградская область, п/о Кузьмоловский, denhome@bk.ru

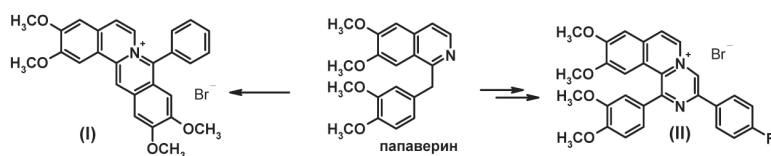
²СПбГУ, Россия, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д.7-9

Некоторые природные соединения, такие как алкалоиды *ламелларины* и *коралины* проявляют высокую противоопухолевую активность, что определяет интерес к изучению способности этих соединений связываться с молекулой ДНК. Эти вещества, возможно, биогенетически связаны с изохинолиновым алкалоидом папаверином. Папаверин непосредственно не образует комплексов с ДНК, но он, в силу особенностей строения, может являться предшественником вышеперечисленных перспективных фармакологических средств, так как их конструирование из папаверина часто оказывается значительно проще, нежели добыча их из природных источников или синтез из более простых веществ.



В рамках работы по изучению реакционной способности производных папаверина был

синтезирован ряд водорастворимых компланарных молекул, таких как 8-фенил-коралина бромид (I) и 3-(4-фторфенил)-1-(3,4-диметоксифенил)-9,10-диметоксипиразино[2,1-*a*]-изохинолиния бромид (II). Изучение поведения рассматриваемых веществ относительно ДНК, методами спектрофотометрии и кругового дихроизма (КД) показало их способность связываться с ДНК.



Величины полученных параметров связывания, соответствуют интеркаляционному взаимодействию с молекулой ДНК для соединения I, тогда как соединение II связывается с ДНК в одной из бороздок двойной спирали.

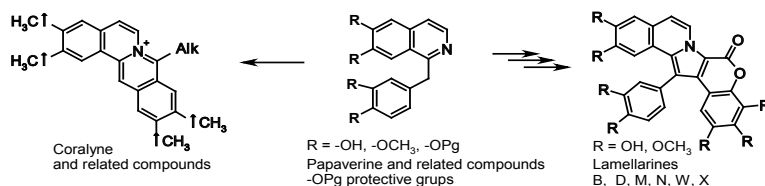
PAPAVERINE IN THE SYNTHESIS OF NEW DNA LIGANDS

D.V. Krivorotov¹, E.B. Moroskina², T.V. Leontyeva²

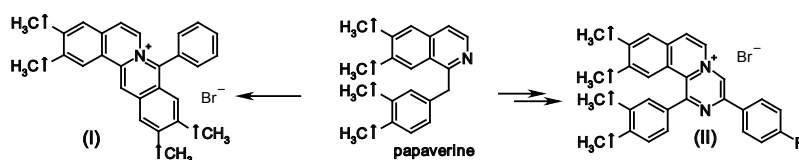
RIHOPHE FMBA of Russia, Russia, 188663, Len.obl., p/o Kuzmolovsky, denhome@bk.ru

SPbSU, Russia, 199034, St-Peterburg, Universitetskaia emb. 7-9

Some natural compounds, such as alkaloids of lamellarin- and coraline classes shows high antitumor activity, which determines the interest in studying the ability of these compounds to bind to the DNA molecule. Biogenetic, these substances may have been related with isoquinoline alkaloid papaverine. Papaverine did not form directly complexes with DNA, but it, due to structural features, may be a precursor of the above promising drugs, as their construction from papaverine is often much easier than mining them from natural sources or synthesis from simple compounds.



When studying the reactivity of papaverine derivatives have been synthesized a number of water-soluble coplanar molecules such as 8-phenyl-Coraline bromide (I) and 1-(3,4-dimethoxyphenyl)-3-(4-fluorophenyl)-9,10-dimethoxy-pyrazino[2,1-*a*]isoquinolinium bromide (II). Studying the behavior of the substances with respect to DNA, methods of spectrophotometry and circular dichroism (CD) have shown their ability to bind with DNA.



The values obtained binding parameters correspond to the interaction of intercalating with the DNA molecule to compound I, while compound II binds to DNA in one of the grooves, the double helix.

ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, УЧАСТВУЮЩИХ В БИОСИНТЕЗЕ РЕТИНОВОЙ КИСЛОТЫ, ПРИ РАКЕ ЖЕЛУДКА

Кропотова Е.С., Опарина Н.Ю., Машкова Т.Д.

*Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН,
Москва, Вавилова 32, 119991*

Ретиновая кислота – основной природный биологически активный метаболит витамина А (ретинола), играющий фундаментальную роль во множестве клеточных процессов, включая эмбриогенез, пролиферацию, тканевую дифференцировку и канцерогенез. Ретиновая кислота и ее производные широко применяются как в профилактике, так и в терапии некоторых злокачественных опухолей. Основные этапы, необходимые для биосинтеза ретиновой кислоты: обратимая реакция окисления ретинола в ретинальдегид, восстановление ретинальдегида в ретинол, необратимое окисление ретинальдегида до активной ретиновой кислоты и реакции вывода ретиновой кислоты из метаболического пути окислением в неактивные производные. Нарушения на всех этапах биосинтеза белка могут привести к онкологической трансформации. Рак желудка относится к наиболее распространенным в мире видам рака. На основе сравнительного анализа транскриптомных баз данных (EST, SAGE и др.) проведена оценка уровня экспрессии ретинол-ассоциированных генов в нормальных и опухолевых тканях желудка и отобран специфичный для желудка набор генов – участников биосинтеза ретиновой кислоты. Для отобранных генов, таких как гены альдокеторедуктаз AKRs, ретинол-дегидрогеназ RDHs, алкогольдегидрогеназ ADHs, и альдегиддегидрогеназ ALDHs, разработаны наборы олигонуклеотидных праймеров и проведен анализ изменения экспрессии генов методом ОТ-ПЦР при раке желудка. Показано, что для большинства генов, белковые продукты которых вовлечены в обратимую реакцию окисления ретинола в ретинальдегид, происходят заметные изменения уровня мРНК в большинстве (до 81%) опухолевых образцов. Наибольшие изменения, ассоциированные с раком желудка, выявлены для мРНК генов *AKR1B1* (понижение в 77% случаев), *AKR1B10* (в 76%), *RDHL* (в 71%), *RDH12* (75%), *ADH7* (75%), *ADH1B* (81%), *ADH1C* (77%). Повышение уровня мРНК выявлено для генов *RDH11* (50%) и *ADH5* (50%). Гены *ALDH1A1* и *ALDH1A3* также проявляли дифференциальную экспрессию при раке желудка (понижение и повышение уровня мРНК в 55% случаев, соответственно). Таким образом, в работе показано, что для большинства исследованных генов-участников биосинтеза ретиновой кислоты при раке желудка наблюдаются достоверные опухоль-ассоциированные изменения экспрессии. Это может свидетельствовать об участии дерегуляции биосинтеза белка в процессе канцерогенеза.

ALTERED EXPRESSION OF GENES INVOLVED IN RETINOIC ACID BIOSYNTHESIS IN STOMACH CANCER

Kropotova E.S., Oparina N.Yu., Mashkova T.D.

Engelhardt Institute of Molecular Biology RAS, 32 Vavilov St., Moscow 119991, Russia

Retinoic acid is the main natural biologically active metabolite of vitamin A (retinol). It plays fundamental role in multiple cellular processes, including embryogenesis, proliferation, tissue differentiation and cancerogenesis. Retinoic acid and its derivatives are widely used both for cancer preventive maintenance and therapy. The main steps of retinoic acid biosynthesis: reversible oxidation of retinol to retinaldehyde, reduction retinaldehyde back to retinol, irreversible retinaldehyde oxidation

to retinoic acid, reactions leading to exclusion of retinoic acid from metabolic pathway by their oxidation to non-active derivatives. Disturbances at all stages of retinoic acid biosynthesis can lead to oncological transformation. Stomach cancer is one of the most common cancers in the world. Comparative analysis of transcriptomic databases (EST, SAGE etc.) was carried out for estimating the expression level of retinol-associated genes in normal and tumor stomach tissues and tissue-specific gene set responsible for retinoic acid biosynthesis was selected. The panel of cDNAs from paired (tumor and histologically normal adjacent tissue) surgical samples obtained from patients with diagnosed stomach cancer. For the set of selected genes, coding aldo-ketoreductases AKRs, retinol dehydrogenases RDHs, alcohol dehydrogenases ADHs, and aldehyde dehydrogenases ALDHs, PCR primers were designed and RT-PCR was carried out. It was shown that for majority of genes, which protein products are involved into reversible reaction of retinol oxidation to retinaldehyde the significant cancer-associated changes in mRNA level occurred in up to 81% of tumor samples. The most frequent changed of mRNA level in stomach cancer were revealed for *AKR1B1* (downregulated in 77% of cases), *AKR1B10* (76%), *RDHL* (71%), *RDH12* (75%), *ADH7* (75%), *ADH1B* (81%), *ADH1C* (77%). Cancer-associated overexpression was shown for *RDH11* (50% of cases) and for *ADH5* (also 50%). *ALDH1A1* and *ALDH1A3* were also differentially expressed in stomach cancer (downregulation and overexpression in 55% of cases, respectively). Therefore, we have demonstrated that stomach cancer is characterized with significant changes of mRNA levels of most of genes involved in retinoic acid biosynthesis. These data could be explained basing on the retinoic acid production disregulation during cancerogenesis.

ЭНТЕРОСОРБЕНТ ИЗ БЕРЕЗОВОЙ КОРЫ ДЛЯ НОРМАЛИЗАЦИИ МИКРОФЛОРЫ КИШЕЧНИКА

Кузнецова С.А.^{1,2}, Кузнецов Б.Н.^{1,2}, Ковальчук Н.М.³, Веприкова Е.В.¹, Маляр Ю.Н.¹

¹Институт химии и химической технологии СО РАН, 660049, г. Красноярск,
ул. К. Маркса, 42, E-mail: ksa@icct.ru

²Сибирский федеральный университет 660041, г. Красноярск, пр. Свободный, 79

³Красноярский государственный аграрный университет, г. Красноярск

Известно, что березовая кора является перспективным сырьем для получения биологически активных соединений. Так, береста (внешняя часть коры березы) содержит до 30 мас.% бетулина. Луб (внутренняя часть коры) содержит до 10 – 11 мас.% таннидов, из которых можно получать дубильные вещества и антоцианидиновые красители. Обработка луба разбавленным раствором NaOH позволяет получать энтеросорбент, который характеризуется способностью сорбировать токсины различной природы и по своим свойствам не уступает промышленному энтеросорбенту марки «Полифепан», получаемому из гидролизного лигнина.

Целью данной работы являлось получение нового энтеросорбента из берёзовой коры и изучение возможностей его использования для нормализации микрофлоры кишечника. Благодаря наличию развитой пористой структуры, энтеросорбент на основе коры берёзы имеет высокую удельную поверхность и способен адсорбировать различные органические и неорганические вещества, в том числе биогенные амины и желчные кислоты, а также токсины белкового происхождения. Полученный энтеросорбент обладает высокой сорбционной способностью, что связано не только с развитой внутренней поверхностью, но и с наличием в его макромолекулах различных функциональных групп. Это позволяет связывать и выводить энтеральным путем газы, алкалоиды, бактериальные клетки и продукты их жизнедеятельности, экзогенные и эндогенные токсины, проникающие в желудочно-кишечный тракт, холестерин, билирубин, а также биологически

активные вещества - серотонин, гистамин, продукты тучных клеток. Энтеросорбент восстанавливает биоценоз кишечника, улучшает липидный обмен, нормализует содержание билирубина, активность трансаминаз и амилазы, снижает концентрацию токсинов в крови, плазме и асцитической жидкости, другие биохимические показатели, нарушенные при экзо- и эндотоксемии.

Эффективность лечебного действия энтеросорбента из берёзовой коры была проверена на цыплятах - бройлерах в сравнении с контрольной группой и группой цыплят, получающих в дополнение к стандартному комбикорму - активированный уголь и энтеросорбент из луба берёзовой коры.

ENTEROSORBENT FROM BIRCH BARK FOR THE NORMALIZATION OF INTESTINAL MICROFLORA

Kuznetsova S.A.^{1,2}, Kuznetsov BN.^{1,2}, Kovalchuk N.M.³, Veprikova E.V.¹, Malyar Yu.N.²

1Institute of Chemistry and Chemical Technology SB RAS, (Russia) 660049 Krasnoyarsk, Marksa street, 42, E-mail: ksa@icct.ru

²Siberian Federal University, (Russia) 660041, Krasnoyarsk, Svobodny pr., 79

³Krasnoyarsk State Agrarian University (Russia), Krasnoyarsk

It is known that birch bark is a promising raw material for production of biologically active compounds. For example, birch bark (the outer part of birch bark) contains up to 30 wt.% betulin. The inner part the bark contains up to 10 - 11 wt.% tannin, of which you can receive tannins and anthocyanidin dyes. The inner birch bark treatment with dilute NaOH solution allows to obtain enterosorbent, which is characterized by the ability to absorb toxins of different nature and their properties are similar with industrial enterosorbent brand «Polyphedan» obtained from the hydrolysis lignin.

Due to the developed porous structure, enterosorbent from birch bark has a high surface area and it can to adsorb the various organic and inorganic substances, including biogenic amines and bile acids, and protein toxins origin. The obtained enterosorbent has a high sorption capacity, which is associated not only with well-developed internal surface, but also with the presence in its macromolecular structure the different functional groups. This allows to connect and remove the enteral gases, alkaloids, bacterial cells and products of their activity, exogenous and endogenous toxins, cholesterol, bilirubin, as well as biologically active substances - serotonin, histamine, the products of mast cells. Enterosorbent restores biocenosis intestine, improves lipid metabolism, and normalizes the content of bilirubin, transaminase activity and amylase, reduces the concentration of toxins in the blood, plasma and ascitic fluid, other biochemical parameters, broken at the exo-and endotoxemia.

The effectiveness of the therapeutic effect of enterosorbent from birch bark was tested on chickens - broilers in comparison with the control group and a group of chickens receiving, in addition to the standard mixed fodder - activated charcoal and enterosorbent from the inner part of birch bark.

ПРИМЕНЕНИЕ МЕХАНОАКТИВАЦИИ АРАБИНОГАЛАКТАНА ЛИСТВЕННОЙ СИБИРСКОЙ ПРИ СИНТЕЗЕ СУЛЬФАТА АРАБИНОГАЛАКТАНА

Васильева Н.Ю.¹, Кузнецова С.А.^{1,2}, Кузнецов Б.Н.^{1,2}, Скворцова Г.П.², Маляр Ю.Н.²

¹Сибирский федеральный университет, 660041, Красноярск, пр. Свободный, 79

²Институт химии и химической технологии СО РАН, 660049, Красноярск, ул.К.Маркса, 42,

E-mail: ksa@icct.ru

Значительный интерес для различных отраслей народного хозяйства, и в первую очередь для медицины, представляют продукты модифицирования арабиногалактана, например, его сульфатированные производные, которые сохраняют водорастворимость и мембранотропность природного полисахарида, обладают антикоагулянтной и гипополипидемической активностью.

Целью нашего исследования являлось изучение возможности интенсификации процесса сульфатирования арабиногалактана за счет повышения его реакционной способности путем предварительной механоактивации. Для синтеза использовали арабиногалактан полученный в лабораторных условиях из водного экстракта древесины лиственницы сибирской и очищенный переосаждением в спирт. Арабиногалактан предварительно подвергли механохимической обработке в активаторе типа АГО-2 при центробежном ускорении, развиваемом мельющими телами – 60 g (размол истиранием). Механохимическая активация проводилась при значениях гидромодуля (соотношении объема образца к объему пиридина) равном 20, в течение 10 мин. За структурным изменением арабиногалактана, происходящим в результате его механической активации, следили по данным ИК-спектроскопии. Сульфатирование арабиногалактана проводили в гетерогенных условиях в пиридине хлорсульфоновой кислотой. Для этого к суспензии арабиногалактана в пиридине при интенсивном перемешивании и температуре 0 – 5 °С. прикапывали хлорсульфоновую кислоту. При изучении процесса сульфатирования варьировали количество сульфатирующего агента, время и температуру реакции. Проведенные исследования показали, что предварительная механохимическая активация арабиногалактана позволила сократить продолжительность сульфатирования в 6 раз и температуру реакции до 50° С.

APPLICATION OF MECHANICAL ACTIVATION OF ARABINOGALACTAN FROM SIBERIAN LARCH FOR SYNTHESIS OF ARABINOGALACTAN SULFATES

Vasilyeva N.Yu.¹, Kuznetsova S.A.^{1,2}, Kuznetsov BN, ^{1,2}, Skvortsova G.P.², Malyar Yu.N. ²

¹Siberian Federal University, 79 Svobodny pr., Krasnoyarsk, 660041 (Russia)

²Institute of Chemistry and Chemical Technology SB RAS,

Marksa str., 42, Krasnoyarsk, 660049 (Russia) E-mail: ksa@icct.ru

Products of modification of arabinogalactan, such as its sulfated derivatives can be used in considerable various branches of the industry, and especially in medicine. are Sulfates of arabinogalactan retain the water solubility and membranotropic natural polysaccharides and have anticoagulant and lipid-lowering activity.

The aim of our study was to investigate the possibility of intensifying the process of sulfation of arabinogalactan by increasing its reactivity by preliminary mechanical activation.

Arabinogalactan was obtained by aqueous extraction of Siberian larch wood and purified by precipitation in alcohol media. Arabinogalactan previously was subjected to mechanochemical treatment in the activator-type AGO-2 at a centrifugal acceleration developed by the grinding bodies - 60 g (grinding abrasion).

Mechanochemical activation was carried out at different liquor ratios (the ratio of the sample volume to the volume of pyridine) is 20, for 10 minutes. The structural changes of arabinogalactan occurring as a result of mechanical activation, monitored were studied by IR spectroscopy. The sulfation of arabinogalactan was carried out in heterogeneous conditions in pyridine with chlorosulfonic acid. Chlorosulfonic acid was dropwise to a suspension of arabinogalactan in pyridine during intensive mixing and a temperature of 0 - 5 °C. In studying the process of sulfation varied number of sulfated agent, time and reaction temperature. Studies have shown that the preliminary mechanochemical activation of arabinogalactan possible to reduce the duration of sulfation process by 6 times and to decrease temperature of sulfation up to 50 °C.

ИССЛЕДОВАНИЕ ГИБЕЛИ РАКОВЫХ КЛЕТОК ИНДУЦИРОВАННОЙ СИСТЕМОЙ CD/UPRT/5-FC ПОД КОНТРОЛЕМ RBIRC5 ПРОМОТОРА

Кузьмин Д.В., Кузьмич А.И., Виноградова Т.В., Копанцев Е.П., Свердлов Е.Д.

Учреждение Российской академии наук Институт биоорганической химии

им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,

117997, Москва, Лаборатория Структуры и Функции Генов Человека.

Цель исследования

Существенным недостатком использования опухоль-специфических промоторов в генотерапии рака является их сравнительно низкая активность. Возможным решением данной проблемы могло бы стать внедрение системы Cre-LoxP. В такой бинарной системе: активационная кассета содержит ген *Cre* под контролем слабого опухоль-специфического промотора; киллерная кассета содержит суицидальный ген, отделённый от сильного конститутивного промотора сигналами полиаденилирования, фланкированными сайтами узнавания Cre рекомбиназы.

Результаты

Были созданы экспрессионные конструкции на основе вектора pGL3-Basic Vector («Promega»), несущие гибридный ген уCD/уUPRT (*FCUI*) под контролем двух промоторов: CMV и BIRC5. Была продемонстрирована эффективность полученных экспрессионных конструкций в фторцитозин-зависимой супрессии клеточного роста на модели клеток линий HEK293, CaluI и A549. Было показано, что с помощью бинарной модифицированной системы Cre-LoxP/pCMV-Stop-*FCUI* можно существенно повысить чувствительность раковых клеток к 5-FC. При этом специфичность экспрессии *FCUI* сохранялась. Были подобраны оптимальные условия для использования данной терапевтической системы.

Заключение

Использование модифицированной системы Cre-LoxP позволило существенно увеличить экспрессию гена *FCUI*, находящегося под контролем опухоль-специфического промотора. Описанная в работе система усиления специфической экспрессии гена *FCUI* в дальнейшем будет испытана на различных культурах раковых клеток и на экспериментальных животных и может быть использована в решении задач генной терапии.

STUDY OF THE PBIRC5 PROMOTER DRIVEN SUICIDE OF CANCER CELLS WITH CD/UPRT AND FLUOROCYTOSINE

Koozmin D.V., Kuzmich A.I., Vinogradova T.V., Kopantsev E.P., Sverdlov E.D.

Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Russian Federation, 117997, Moscow, Laboratory Of Human Genes Structure And Functions

The aim of the research

An important prerequisite for the practical use of the approach is cancer-specific suicide gene expression. Since many tumor specific promoters used for intratumoral expression of suicide genes are relatively weak, it was suggested to use tumor specific expression of Cre recombinase to enhance the expression of the therapeutic transgene driven by a strong promoter, artificially suppressed with a floxed insertion, but reactivated by the excision of this insertion with Cre.

Results

We generated therapeutic plasmids based on pGL3-Basic Vector («Promega»), carrying fusion gene yCD/yUPRT (*FCUI*) under the control of CMV and BIRC5 promoters. We demonstrated the efficiencies of the BIRC5 and CMV promoters in direct expression of *FCUI* gene. We evaluated the cytotoxic potential of pGL3-pBIRC5-*FCUI* and pGL3-pCMV-*FCUI*. For this purpose we transiently transfected HEK293, CaluI and A549 cells with these constructs and tested their survival in the presence of 5-FC. We designed the modified binary Cre-LoxP//pCMV-Stop-*FCUI* system. We enhanced tumor cell sensitivity to 5-FC by co-transfection of expression vectors carrying pBIRC5-*Cre* and pCMV-LoxP-Stop-LoxP-*FCUI* constructs, and demonstrated that Cre-LoxP//pCMV-Stop-*FCUI* system provides the pBIRC5 promoter specificity of the *FCUI* gene expression. Finally, we developed optimized conditions for employment of this therapeutic system.

Conclusion

The expression enhancement we achieved is significant, and the Cre-LoxP mediated tumor-specific expression of the *FCUI* suicide gene under the pCMV promoter, described here, may be helpful in improving the efficiency of the *FCUI* application for gene therapy purposes. In future, this designed therapeutic system could be tested on different tumor cell lines and on experimental animals.

ШТАММ POLYSCIAS FILICIFOLIA (MOORE EX FOURNIER) BAILEY (ARALIACEAE) КАК МОДЕЛЬ ДЛЯ БИОХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИННОВАЦИОННОЙ ТЕХНОЛОГИИ ФИТОПРЕПАРАТОВ

Кузьмина Н.С., Кириллова Н.В., Слепян Л.И.

ГОУ ВПО Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия, 197368 г. Санкт-Петербург, ул. пр. Попова д.14

Сегодня эксперты ВОЗ и ЕЭС считают перспективным реализацию программ по производству лекарственных средств природного происхождения. Особый интерес представляют препараты, обладающие иммуномодулирующим действием. Биотехнология растительных клеток рассматривает вопросы, связанные с изучением клетки как модели живой системы и с созданием инновационных технологий лекарственных препаратов на её основе. В качестве объекта исследования выбраны клетки штамма тропического растения *Polyscias filicifolia* (P.f.). Были изучены ростовые характеристики штамма, активность синтеза белка и ДНК на разных стадиях роста в условиях длительного культивирования. В качестве биохимического маркера была определена активность ферментов

антиоксидантной защиты (АОА): супероксиддисмутаза (СОД), каталазы и пероксидазы. В процессе исследования биомассы в качестве активного начала впервые был определён гликопептидный комплекс (ГПК). Проведена комплексная оценка АОА препаратов, в ходе которой выяснилось, что наибольшей АОА обладают препараты на основе водных вытяжек из биомассы *Polyscias filicifolia*. Кроме того, они обладают низкой токсичностью, высокой иммуностропной активностью, а так же широким спектром фармакологической активности. Для обеспечения высокой эффективности активного начала разработана технология производства новых безопасных фитопрепаратов. Предложено вводить вытяжки в состав трансдермальных терапевтических систем, наносимых на слизистую полости рта, а также в состав интраназальных лекарственных форм. Разработаны показатели качества предложенных фитопрепаратов. Полученные данные подтверждают значение биомассы культуры ткани P.f. в изучении клетки как модели живой системы, а так же в качестве ценного лекарственного сырья для создания инновационных препаратов.

THE STRAIN POLYSCIAS FILICIFOLIA (MOORE EX FOURNIER) BAILEY (ARALIACEAE) AS A MODEL FOR BIOCHEMICAL RESEARCH AND INNOVATIVE PHYTOPREPARATION TECHNOLOGY

Kuzmina N.S., Slepian L.I., Kirillova N.V.

*Saint-Petersburg state chemical pharmaceutical academy (SPCPA),
prof. Popov street 14, 197368 Saint-Petersburg, Russia*

Nowadays experts of the CART and EUROPEAN ECONOMIC COMMUNITY consider the realization of programs on the manufacture of medical products of natural origin perspective. The biotechnology of plant cells considers the problems connected with studying a cell as a model of a live system and with the creation of innovative technologies of medical products on its basis. Of particular interest are the preparations possessing an immunomodulatory action. Cells of the strain of the tropical plant *Polyscias filicifolia* (P.f.) were used as the object of research. We have researched the activity of synthesis of proteins and DNA, characteristics of the strain at different stages of growth during long cultivation. The activity of antioxidant enzymes (AAE) (superoxidedismutases, catalases and peroxidases) and complex of glycopeptids (CGP) of a biomass have been defined as the biochemical markers for the first time. The water extract on the basis of biomass P.f. has been prepared. The new medical remedy and its pharmacological activity have been studied. The greatest AAE, low toxicity, high immunotropic activity, and wide spectrum of pharmacological activity such as antistress, hepatoprotective and other adaptogenic effects have been investigated. The technology of new and safe phytopreparations production with maintenance of high efficiency has been developed. For the production of transdermal therapeutic systems with prolonged action the water extracts P.f. have been used. Other medical remedies with water extracts P.f. which were intranasal forms have been prepared. The quality characteristics for the phytopreparations offered have been created. These results confirm the value of a biomass of P.f. which can find wide practical application as medical remedy and food supplements.

ПРОДУЦИРОВАНИЕ ОКСИДА АЗОТА КЛЕТКАМИ ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ ЧЕЛОВЕКА ПОД ДЕЙСТВИЕМ ИНТЕРФЕРОНА-АЛЬФА И ВИРУСА ПРОСТОГО ГЕРПЕСА 1 ТИПА

Щегловитова О.Н.*, Куроптева З.В.***, Наглер Л.Г.***,
Склянкина Н.Н.*, Болдырева* Н.А., Байдер** Л.М., Белая О.Л.***

*НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи МЗ России,
123098 г. Москва, ул. Гамалеи, 18

**Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН,
119334 г. Москва, ул. Косыгина, 4

***Московский государственный медико-стоматологический университет,
127473 г. Москва, ул. Делегатская, 10/1

К настоящему времени установлено, что оксид азота (NO), продуцируемый эндотелием сосудов (ЭС), обладает большим числом активностей: является основным фактором, влияющим на тонус сосудов, принимает участие в воспалительном процессе и, кроме того, обладает антипатогенным действием в отношении широкого спектра инфекционных агентов. NO синтезируется эндотелиальными клетками кровеносных сосудов (ЭК) конститутивно (eNOS) и при активации (iNOS) физиологическими стимуляторами и вазоактивными соединениями. Нарушение продукции NO ЭС приводит к его дисфункции, что является одним из основных звеньев патогенеза наиболее распространенных заболеваний сердечно-сосудистой системы, в том числе и атеросклероза. Одним из первых этапов атерогенеза является развитие воспалительного процесса в стенке сосуда, который может возникать под воздействием большого числа патогенов, включающих и герпесвирусы. Вирус простого герпеса 1 типа (ВПГ-1), наиболее широко распространенный в человеческой популяции вирус группы герпеса, был обнаружен в биоптатах различных органов и атеросклеротических бляшках. Кроме того известно, что ВПГ-1 вызывает дисфункцию ЭК в экспериментальных условиях *in vitro*. В клинической практике при лечении рецидивов герпетической болезни широко используется интерферон альфа (ИФН-α). Цель данной работы заключалась в изучении продукции NO культурой ЭК человека под влиянием ИФН-α человека, при инфицировании культуры ВПГ-1 и совместном воздействии на культуру ИФН-α и ВПГ-1.

Был изучен синтез NO на модели инфекции ВПГ-1 культуры сосудистого эндотелия человека, полученных из пупочных вен (ЭКПВЧ). Показано, что рекомбинантный ИФН-α активирует продукцию оксида азота ЭКПВЧ и выраженность эффекта зависела от концентрации препарата. Инфицирование клеток эндотелия ВПГ-1 при множественности инфицирования (МИ) 0,1 приводило к быстрой активации синтеза NO, тогда как при низких МИ продукция оксида азота уменьшалась. Предобработка ИФН-α и последующее инфицирование ВПГ-1 клеток эндотелия привели к подавлению продукции NO к 24 часам, и в это же время было отмечено ингибирование репродукции вируса в клетках. Активация синтеза оксида азота в клетках к 48 часам совпадала как с увеличением репродукции вируса в данной серии экспериментов, так и с активирующим действием ИФН-α в отсутствии вирусного инфицирования в первой серии экспериментов.

PRODUCTION OF NITRIC OXIDE BY ENDOTHELIAL CELLS OF VESSELS UNDER THE INFLUENCE OF HUMAN INTERFERON-ALPHA AND HERPES SIMPLEX VIRUS TYPE 1

Shcheglovitova O.N.*, **Kuropteva Z.V.****, **Nagler L.G.****, **Sklyankina N.N.***,
Boldyreva N.A.*, **Bayder L.M.**, **Belaia O.L.*****

* *Gamaleia Resarch Institute of Epidemiology and Microbiology of HM,*
ul. Gamaleia 18, Moscow, 123098 Russia

** *Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences,*
ul. Kosygina 4, Moscow, 119334 Russia

*** *Moscow State Medical and Dental University,*
ul. Delegatskaya 20/1, Moscow, 127473 Russia

It has now been established that nitric oxide (NO), produced by vascular endothelium (EC), has a large number of activities: a major factor affecting vascular tone, is involved in the inflammatory process and, moreover, has antipathogenic action against a broad spectrum infectious agents NO is synthesized by endothelial cells of blood vessels (EC) constitutively (eNOS) and activation (iNOS) physiological stimulants and vasoactive compounds. Impaired production of NO ES leads to its dysfunction, which is one of the basic pathogenesis of most common diseases of the cardiovascular system, including atherosclerosis. One of the earliest stages of atherogenesis is the development of inflammation in the vessel wall, which can occur under the influence of a large number of pathogens, including herpes virus. Herpes simplex virus type 1 (HSV-1), the most widespread in the human population of the herpes virus, was found in biopsies of various organs and atherosclerotic plaques. Furthermore it is known that HSV-1 causes dysfunction of EC in the experimental conditions in vitro. In clinical practice in the treatment of herpes disease recurrent widely used interferon alpha (IFN- α). The purpose of this study was to examine NO production by culture of human EC under the influence of IFN- α human and infection of the culture with HSV-1 and joint action of IFN α and HSV-1.

NO synthesis was studied on a model of infection with HSV-1 culture of human vascular endothelium derived from umbilical veins (EKPVCH). It was shown that recombinant IFN- α activates the production of nitric oxide EKPVCH and severity of the effect depended on the concentration of the drug. Infection of endothelial cells with HSV-1 at a multiplicity of infection (MI) 0,1 resulted in the rapid activation of synthesis of NO, whereas at low MI nitric oxide production decreased. Pretreatment with IFN-a and subsequent infection with HSV-1 of endothelial cells led to suppression of NO production by 24 o'clock, and at the same time, it was noted the inhibition of virus reproduction in cells. Activation of nitric oxide synthesis in the cells for 48 hours coincided with both an increase in virus reproduction in this series of experiments, and with the activating effect of IFN- α in the absence of viral infection in the first series of experiments.

РАНОЗАЖИВЛЯЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ФОРМЫ РАСТИТЕЛЬНОГО СРЕДСТВА

**Ламажапова Г.П.¹, Бальхаев М.И.², Жамсаранова С.Д.¹,
Лубсандоржиева П.-Н.Б.², Николаев С.М.²**

¹*Восточно-Сибирский государственный технологический университет,
670013, Улан-Удэ, ул. Ключевская, 40в*

²*Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН,
670047, Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, д.6*

Развитие современных биотехнологических методов в медицине привело к созданию супрамолекулярных наноразмерных систем для направленной доставки лекарственных препаратов в организм, обеспечивающих улучшение их фармакокинетических свойств, снижение токсичности и повышение биодоступности. Одними из таковых являются липосомы. Известно, что включение в липосомальные структуры ряда биологически активных веществ приводит к усилению их фармакологической эффективности.

Целью настоящей работы явилось исследование репаративных свойств трансдермального средства с липосомальными структурами, содержащими жир нерпы в качестве источника полиненасыщенных жирных кислот и включенный растительный экстракт.

Разработанное ранозаживляющее средство представляет собой гель, содержащий в своем составе полиэтиленгликолевую основу и суспензию липосом, полученных из липидов нерпы с включением водного раствора экстракта какалии копьевидной. Фармакотерапевтическую эффективность геля исследовали на белых беспородных крысах после воспроизведения линейной кожной и плоскостной кожно-мышечной ран, а также химического ожога кожи.

Измеряли прочность рубца после лечения линейной раны, площади раневых поверхностей плоскостной раны и химического ожога, а также изучали гистологическую картину раневых повреждений по срокам заживления. Результаты исследования показали, что применение геля с липосомальной формой фитоэкстракта приводило к ускорению протекания регенеративных процессов в тканях кожного покрова экспериментальных животных по сравнению с применением «свободной» формы растительного средства.

WOUND HEALING EFFECT OF LIPOSOMAL FORM OF PLANT MEANS

**Lamazhapova G.P.¹, Balkhaev M.I.², Zhamsaranova S.D.¹,
Lubsandorzhiyeva P.-N.B.², Nikolaev S.M.²**

¹*East-Siberian State University of Technology, 40v, Kluchevskaya str., Ulan-Ude, 670013*

²*Institute of General and Experimental Biology of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, 6, Sahyanova str., Ulan-Ude, 670047*

The development of modern biotechnology techniques in medicine led to the creation of supramolecular nanosystems for targeted drug delivery into the body that improve their pharmacokinetic properties, reduce toxicity and increase bioavailability. Some of those are liposomes. It is known that the inclusion of biologically active substances into liposomal structures leads to enhancement of their pharmacological efficacy.

The purpose of this study was investigation of reparative properties of transdermal means with liposomal structures containing seal' fat as a source of polyunsaturated fatty acids and included herbal extract.

Developed wound-healing means is a gel containing polyethylene glycol as a base with the addition of suspension of liposomes prepared from seal' lipids including *Cacalia hastata*' aqueous extract. Pharmacotherapeutic effectiveness of the gel was studied on white rats after modeling of linear and planar skin-muscle wounds, as well as the chemical burn of skin.

We measured the strength of the scar after linear wound treatment, wound surface area of planar wound and chemical burns and also studied the histology of wound healings time of injuries. The results showed that application of the gel with liposomal form of phytoextract leads to faster flow of regenerative processes in tissues of the skin of experimental animals when compared with the "free" form of plant means.

НОВЫЕ АЛКИЛЬНЫЕ КАТИОННЫЕ ГЛИЦЕРОЛИПИДЫ - ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ АГЕНТЫ

Маркова А.А.*, Плявник Н.В.*, Штиль А.А.**

* *МИТХТ им. М.В. Ломоносова, 119571, Москва, просп. Вернадского, 86*

** *РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, 115478, Москва, Каширское шоссе, 24*

Бесфосфорные аналоги эдельфозина - соединения класса алкильных катионных глицеролипидов – важные биологически активные соединения. В частности, алкильные катионные глицеролипиды вызывают гибель опухолевых клеток человека. Цитотоксичность этих соединений определяется структурой полярного домена. Наши многолетние структурно-функциональные исследования липидов этого класса включают изменения типа и способов присоединения катионной "головки" и варьирование длины алкильных заместителей. Изучены механизмы гибели клеток лейкоза человека (линия K562) и клеток рака прямой кишки человека (HCT116) при действии липидов с различными гетероциклическими "головками". Новые алкильные глицеролипиды с катионными гетероциклическими доменами *rac-N*-{4-[(2-этокси-3-октадецилокси)проп-1-илоксикарбонил]бутил}-*N*-метилпиперидиний-бромид (**I**), *rac-N*-{4-[(2-этокси-3-октадецилокси)проп-1-илоксикарбонил]бутил}-*N*-метил-4-гидрокси-пиперидиний-йодид (**II**), *rac-N*-{4-[(2-этокси-3-октадецилокси)проп-1-илоксикарбонил]бутил}-*N*-метилморфолиний-йодид (**III**), *rac-N*-{4-[(2-этокси-3-октадецилокси)проп-1-илоксикарбонил]бутил}пиридиний-бромид (**IV**) и *rac-N*-{4-[(2-этокси-3-октадецилокси)проп-1-илоксикарбонил]бутил}-*N'*-этилимидазолий-йодид (**V**) оказались токсичными для исследуемых клеток. Наиболее активное соединение **V** вызывало остановку клеточного цикла в фазе G1 и апоптоз. Установлена способность **V** ингибировать топоизомеразу I в бесклеточной системе. Приведенные данные обосновывают высокую перспективность новых алкильных катионных глицеролипидов для разработки противоопухолевых препаратов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 10-03-00995-а) и ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» (гос. контракт № П 1340).

NOVEL CATIONIC ALKYL GLYCEROLIPIDS, THE PERSPECTIVE CLASS OF ANTINEOPLASTIC AGENTS

Markova A.A.*, Plyavnik N.V.*, Shtil A.A.**

**Lomonosov Moscow State Academy of Fine Chemical Technology,
86 Vernadsky Avenue, Moscow, 119571, Russia;*

***Blokhin Cancer Center, 24 Kashirskoye shosse, Moscow 115478, Russia*

Non-phosphorus analogues of edelfosine comprise a class of alkyl cationic glycerolipids with a wide range of biological activities, in particular, cytotoxicity for tumor cell lines. We found that the cytotoxic potency of these compounds depends on the structure of the polar domain. During last decade we have studied structural and functional properties of alkyl cationic glycerolipids by changing the type and methods of conjugation of the cationic 'head' and varying the length of alkyl substituents. Our studies of mechanisms of cell death revealed that novel alkyl glycerolipids with cationic heterocyclic domains rac-N-{4 - [(2-ethoxy-3-oktadecyloxy) prop-1-iloxy-carbonyl] butyl}-N-methylpiperidiny-bromide (**I**), rac-N-{4 - [(2-ethoxy-3-oktadecyloxy) prop-1-iloxy-carbonyl] butyl}-N-methyl-4-hydroxypiperidiny iodid (**II**), rac-N-{4 - [(2-ethoxy-3-oktadecyloxy) prop-1-iloxy-carbonyl] butyl}-N-methylmorpholiniiiodid (**III**), rac-N-{4 - [(2-ethoxy-3-oktadecyloxy) prop-1-iloxy-carbonyl] butyl}-pyridinium bromide (**IV**) and rac-N-{4 - [(2-ethoxy-3-oktadecyloxy) prop-1-iloxy-carbonyl] butyl}-N'-ethylimidazoliiodid (**V**) were toxic for human leukemia (K562 line) and colon cancer (HCT116) cell lines. The most potent compound **V** caused cell cycle arrest at G1 and apoptosis. This compound also inhibited topoisomerase I in a cell-free system. Together, our data demonstrate that alkyl cationic glycerolipids are promising for development of anticancer drugs.

This work was supported by Russian Foundation for Basic Research (project № 10-03-00995-a) and Federal Program 'Research and scientific-pedagogical personnel of innovation in Russia' (state contract No. P 1340).

ИНГИБИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ЛИЗОФОСФАТИДИЛХОЛИНА И ПРОДУКТОВ ГИДРОЛИЗА КАРДИОЛИПИНА НА РОСТ *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* H37RV *IN VITRO*

Микулович Ю.Л.¹, Андреевская С.Н.², Смирнова Т.Г.², Сорокоумова Г.М.¹, Черноусова Л.Н.², Селищева А.А.¹, Швец В.И.¹

*¹Московская государственная академия тонкой химической технологии
им. М.В. Ломоносова, 119571, Москва, проспект Вернадского, д. 86*

*²Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза РАМН,
107564, Москва, Яузская аллея, д. 2*

В настоящее время все еще остается актуальным создание новых противотуберкулезных препаратов. Ранее нами было показано действие экзогенного липида кардиолипина (КЛ) на рост *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv *in vitro* [1]. Определение механизма этого процесса стало целью данной работы. С помощью автоматизированной системы BACTEC MGIT 960 был исследован рост *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv (МБТ) при культивировании в жидкой среде Дюбо, содержащей различные концентрации лизофосфатидилхолина (лФХ), линолевой кислоты (ЛК), смеси лФХ и ЛК (в соотношении 1:1 по молям), кардиолипина (КЛ) и продуктов его гидролиза, которые образовывались в условиях данного эксперимента. Продукты гидролиза КЛ были

выделены методом препаративной ВЭТСХ и идентифицированы методом MALDI-TOF MS, как ЛК, лизокардиолипид (лКЛ), бислизокардиолипид (ллКЛ), ЛК и др. Методом спектрофотометрии определены значения критических концентраций мицеллообразования (ККМ) вышеперечисленных липидов. Установлено, что действующими на рост МБТ являются концентрации липидов выше их ККМ. Так, например, лФХ в концентрации $9 \cdot 10^{-4}$ М приводил к задержке роста МБТ на 11 дней, смесь лФХ и ЛК ($1 \cdot 10^{-4}$ М) незначительно задерживала, а ЛК ($1 \cdot 10^{-3}$ М) и выше перечисленные продукты гидролиза КЛ ($5 \cdot 10^{-4}$ М) полностью подавляли рост МБТ.

На основании полученных результатов можно предположить, что подавление роста МБТ лизофосфолипидами обусловлено проявлением ими детергентного действия, приводящего к нарушению целостности клетки МБТ.

Работа проведена в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» Федерального агентства по образованию (ГК№П2277).

Андреевская С. Н., Смирнова Т. Г., Жогина Ю. А. и др. // ДАН, 2010, т. 434, с. 371 - 374.

THE INHIBITORY ACTION OF LYSOPHOSPHATIDYLCHOLINE AND CARDIOLIPIN HYDROLYSIS PRODUCTS ON *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* H37RV GROWTH *IN VITRO*

Mikulovich J.L.¹, Andreevskaya S.N.², Smirnova T.G.², Sorokoumova G.M.¹,
Chernousova L.N.², Selishcheva A.A.¹, Shvets V.I.¹

¹ M.V.Lomonosov State Academy of Fine Chemical Technology,
119571, Moscow, Vernadsky prospectus, 86

² Central TB Research Institute of the Russian Academy of Medical Sciences,
107564, Moscow, Yauzskaya alley, 2

The development of new antituberculous drugs is still urgent at present time. The influence of exogenous lipid called cardiolipin (CL) on *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv growth *in vitro* was shown by us earlier [1]. The aim of this study was determination of this process mechanism. The growth of *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv (MBT) was investigated via automatized system BACTEC MGIT 960 when it was being cultivated in liquid Dubo's medium containing different concentrations of lysophosphatidylcholine (lysoPC), linoleic acid (LA), a mixture of lysoPC and LA (1:1 in moles), cardiolipin (CL) and products of CL hydrolysis which were formed at experimental conditions. CL hydrolysis products were separated by preparative HPTLC and identified by MALDI-TOF MS as lysocardiolipin (lysoCL), bislysocardiolipin (bislysoCL), LA and others. Critical micelle concentrations magnitudes (CMC) of lipids listed above were determined with spectrophotometry. Lipids were found to effect on MBT growth at concentrations which were higher than CMC. So, lysoPC at concentration $9 \cdot 10^{-4}$ M resulted in MBT growth delay by 11 days, the mixture of lysoPC and LA (1:1) ($1 \cdot 10^{-4}$ M) delayed slightly MBT growth, while LA ($1 \cdot 10^{-3}$ M) and CL hydrolysis products listed above ($5 \cdot 10^{-4}$ M) suppressed MBT growth completely.

Based on data obtained we can suppose that MBT growth suppression by lysophospholipids is determined by their detergent action which leads to disruption of MBT cell integrity.

Andreevskaya S.N., Smirnova T.G., Zhogina J.A. et al. // DAN, 2010, v. 434, p. 371-374.

МИНИЗАЦИЯ КОЛИЧЕСТВА ЛИПИДОВ ПРИ ПЕРЕХОДЕ МИКОБАКТЕРИЙ В «НЕКУЛЬТИВИРУЕМОЕ» СОСТОЯНИЕ

Морозова Н.С.¹, Назарова Е.В.¹, Шлеева М.О.², Сорокоумова Г.М.¹, Селищева А.А.³, Капрельянц А.С.², Швец В.И.¹

¹ Московская государственная академия тонкой химической технологии имени М.В. Ломоносова, 119571 Россия, Москва, проспект Вернадского, д.86

² Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, 119071 Россия, Москва, Ленинский проспект, д.33, стр.2

³ Биологический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, 119991 Россия, Москва, Ленинские горы, д.1, стр.12

Mycobacterium smegmatis является быстрорастущим непатогенным видом микобактерий, являющимся близким родственником *Mycobacterium tuberculosis*, который позволяет моделировать «некультивируемое» (НК) состояние микобактерий. На основе штамма *M.smegmatis* mc²155 была разработана модель, в которой при культивировании на специально подобранной среде (не содержащей калия с добавлением бычьего сывороточного альбумина - модифицированная среда mHartman's-de-Bont) клетки в стационарной фазе переходили в НК состояние в аэробных условиях [1]. А затем могли быть реактивированы с использованием специальной процедуры «оживления».

Методами адсорбционной хроматографии, ВЭТСХ и МС исследовали липидный состав клеток, находящихся в активно делящимся и НК состояниях. Для исследуемой модели НК состояния было выявлено снижение общего количества липидов: фосфо- и нейтральных липидов. Эти данные не подтверждают результаты, обсуждаемые в литературе, о том, что триацилглицерины (ТАГ) способны накапливаться в клетках в стрессовых условиях (снижение уровня кислорода, увеличение содержания оксида азота (I) и кислотности среды), приводящих к переходу клеток в нереплицируемое состояние [2]. Для исследуемой нами модели НК состояния наличие ТАГ характерно только для начальных часов роста. Можно сделать вывод, что различные модели дормантного состояния отличаются липидными составами клеток, а также, скорее всего, имеют различные механизмы перехода в это состояние.

Работа проведена в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» Федерального агентства по образованию (ГК№П2277).

1. Салина Е.Г. и др. // Микробиология. 2006. Т.75. №4. С.1-7.
2. Low K. L. et al. //Journal of Bacteriology. 2009. V.191. No.16. P. 5037-5043.

THE MINIMIZATION OF LIPID'S AMOUNT WHEN MYCOBACTERIA ENTER INTO "NON-CULTARABLE" STATE

**Morozova N.S.¹, Nazarova E.V.¹, Shleeva M.O.², Sorokoumova G.M.¹,
Selischeva A.A.³, Kaprelyants A.S.², Shvets V.I.¹**

¹ *M.V. Lomonosov State Academy of Fine Chemical Technology,
119571 Russia, Moscow, prosp. Vernadskogo, 86*

² *A.N. Bach Institute of Biochemistry of Russian Academy of Science,
119071 Russia, Moscow, Leninskii prosp., 33/2*

³ *Faculty of Biology, M.V. Lomonosov Moscow State University,
119991 Russia, Moscow, Leninskie gori, 1/12*

Mycobacterium smegmatis is nonpathogenic fast-growing species, being the close relative of the *Mycobacterium tuberculosis*. We developed the model on the basis of *M.smegmatis* mc²155 strain, where the cells are cultivated in special medium (absence of potassium's ions with addition of bovine serum albumin – modified medium mHartman's-de-Bont). In result mycobacterial cells at stationary phase are able to enter a non-culturable (NC) state at the aerobic conditions [1]. The cells in the NC state can be reactivated with use of special procedure of "resuscitation".

The lipid composition of cells in actively divisible state and NC state are investigated with adsorptive chromatography, HPTLC and MS techniques. For this test model it was found that total lipid's amount decreased: the phospholipids and neutral lipids. This data don't confirm available data about accumulation of thiacylglycerols in the cells at stress environment (decrease of an oxygen level, increase of a nitric oxide's level, augmentation of a medium's acidity), when this stress environment leads to the transformation into nonreplicating state [2]. For investigated NC state model present of thiacylglycerols was characteristic at the first hours of growth. It may be concluded that the different models of the dormant state differ from each other with their cell's lipid composition and it is likely to have the different mechanisms of entering dormant state.

1. Salina E.G. et al. // Microbiology. 2006. V.75. No.4. P.1-7.

2. Low K. L. et al. // Journal of Bacteriology. 2009. V.191. No.16. P. 5037-5043.

БИОЦИДНЫЕ АГЕНТЫ НА ОСНОВЕ ГЕМИНА, МОДИФИЦИРОВАННОГО ОСТАТКАМИ АМИНОКИСЛОТ, ПЕПТИДОВ И ИХ АНАЛОГОВ

Окороченков С.А.¹, Желтухина Г.А.¹, Мирчинк Е.П.², Феофанов А.В.³, Небольсин В.Е.⁴

¹ *Московская государственная академия тонкой химической технологии
им. М.В. Ломоносова 119571, г. Москва, пр-т Вернадского, 86*

² *НИИИНА, 119021, г. Москва, ул. Большая Пироговская, 11*

³ *ИБХ РАН, 117437, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10*

⁴ *ООО «Фарминтерпрайсез» 119571, г. Москва, просп. Вернадского, 86*

Распространённость инфекционных заболеваний, токсичность и недостаточная эффективность антимикробных средств, а также развитие резистентности к ним определяет актуальность поиска новых агентов с таким действием среди различных классов соединений, в том числе среди аминокислотных и пептидных производных гемина (ПГ).

В рамках данного научного направления разработаны оригинальные подходы к синтезу этих структур. Способность ряда синтезированных соединений моделировать ферментативные функции

пероксидаз, монооксигеназ, нуклеаз, усиливать ПОЛ в липидной мембране может определять антимикробную активность ПГ.

В ряду синтезированных ПГ выявлены вещества, обладающие выраженной бактерицидной активностью в отношении грамположительных микроорганизмов, в частности, резистентных штаммов *Staphylococcus aureus*, сравнимой с МБК известного антибиотика ванкомицина. С применением методов флуоресцентной спектроскопии и конфокальной микроскопии продемонстрировано выраженное усиление проницаемости модельной и бактериальной мембраны под действием ПГ, представляющее собой один из возможных механизмов их антибактериальной активности. Существенным преимуществом синтезированных соединений является их биосовместимость, биodeградируемость и низкая токсичность в отношении клеток крови.

BIOCIDAL AGENTS BASED ON HEMIN MODIFIED RESIDUES OF AMINO ACIDS, PEPTIDES AND THEIR ANALOGUES

Okorochenkova S.A.¹, Zheltukhina G.A.¹, Mirchink E.P.², Feofanov A.V.³, Nebolsin V.E.⁴

¹M.V. Lomonosov Moscow State Academy of Fine Chemical Technology,
119571, Moscow, Vernadsky av., 86

²GUNA, 119867, Moscow, Bol'shaya Pirogovskaya str. 11

³IBCh, 117997, Moscow, Ul. Miklukho-Maklaya, 16/10

⁴LTD "Pharmenterprises", 119571, Moscow, Vernadsky av., 86

The prevalence of infectious diseases, toxicity and lack of antimicrobial agents effectiveness as well as the growth of resistance to them determines the urgency of finding new agents with antimicrobial action among the various classes of compounds, including the amino acid and peptide hemin derivatives (HD).

As part of this scientific field there was developed original approaches to the synthesis of these structures. Ability of some of these compounds to simulate the enzymatic function of peroxidases, monooxygenases, nucleases, and to increase lipid peroxidation in the lipid membrane could determine the antimicrobial activity of HD.

In a series of synthesized HD there was found compounds possessing high bactericidal activity against gram-positive bacteria, particularly against resistant strains of *Staphylococcus aureus*, comparable to the MBC of well-known antibiotic vancomycin. Using techniques of fluorescence spectroscopy and confocal microscopy we have shown a noticeable increasing of model and bacterial membranes permeability under the action of HD that appears to be one of possible mechanisms of their antibacterial activity. The essential advantage of the synthesized compounds is their biocompatibility, biodegradability and low toxicity to blood cells.

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА АУРЕЛИНА, МЕЧЕННОГО СТАБИЛЬНЫМ ИЗОТОПОМ ^{15}N

Пантелеев П.В., Баландин С.В., Овчинникова Т.В.

Учреждение Российской академии наук Институт биоорганической химии
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
117997, Москва, Миклухо-Маклая 16/10

Эндогенные антимикробные пептиды животного происхождения являются универсальным и эволюционно древним способом защиты организма от патогенов. Фундаментальные структурно-функциональные исследования этих соединений тесно связаны с их важным прикладным значением: природные пептиды могут стать прототипами новых антибиотиков широкого спектра действия, способных решить проблему резистентности к существующим антимикробным веществам.

Аурелин – катионный антимикробный пептид с молекулярной массой 4,3 кДа, выделенный из мезоглеи сцифоидной медузы *Aurelia aurita*, состоящий из 40 аминокислотных остатков и содержащий три внутримолекулярные дисульфидные связи. Важным этапом в структурно-функциональном исследовании аурелина является установление его пространственной структуры. С целью последующего изучения пространственной структуры аурелина методом гетероядерной ЯМР-спектроскопии был получен его генно-инженерный аналог, тотально меченный стабильным изотопом ^{15}N . Экспрессия осуществлялась в клетках штамма *E.coli* BL21(DE3), трансформированных плазмидной конструкцией рЕТ-His8-TrxL-Aug, которая обеспечивает высокий уровень экспрессии аурелина в *E.coli* за счет включения его аминокислотной последовательности в состав гибридного белка на основе модифицированного тиоредоксина А. Необходимость использования белка-носителя была обусловлена не только токсичностью зрелого аурелина для бактериальной клетки, но и возможностью его деградации в гетерологичной системе. Трансформированные клетки культивировали в бедной среде, содержащей ^{15}N хлорид аммония в качестве единственного источника азота. Гибридный белок, содержащий целевой пептид, тиоредоксин А (M37L) и N-концевой октагистиридиновый участок, обеспечивающий его дальнейшую металлохелатную очистку, накапливался в цитоплазме в растворимой форме, а также в тельцах включения. После расщепления гибридного белка по остатку метионина проводился повторный цикл металлохелатной хроматографии для удаления белка-носителя и нерасщепленного гибридного белка. Финальную стадию очистки рекомбинантного аурелина проводили методом обращенно-фазовой ВЭЖХ в градиенте концентрации ацетонитрила. Значение молекулярной массы ^{15}N -меченного аурелина, полученное экспериментально, с высокой точностью совпало с расчетным, составляющим 4360,0 Да.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы (проект НК-602П/19, госконтракт П1159).

BIOTECHNOLOGICAL PRODUCTION OF ^{15}N -LABELED ANTIMICROBIAL PEPTIDE AURELIN**Panteleev P.V., Balandin S.V., Ovchinnikova T.V.***Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry,**Russian Academy of Sciences, Miklukho-Maklaya str. 16/10, 117997 Moscow, Russia*

Endogenous antimicrobial peptides (AMPs) of animal origin are evolutionarily conserved and ubiquitous molecules involved in innate defense mechanisms of a wide range of organisms protecting them against a broad array of pathogenic agents. Basic structural and functional studies of AMPs aim at their potential clinical applications. AMPs are commonly considered as prototypes of new antibiotics with broad-spectrum antimicrobial activity, which are able to solve bacterial resistance problem.

Aurelin is a 4,3 kDa cationic antimicrobial peptide purified from mesoglea of a scyphozoan jellyfish *Aurelia aurita*. The peptide contains 40 amino acid residues including 6 cysteines forming three intramolecular disulfide bridges. Spatial structure determination is an important part of aurelin structure-function relationship study. In order to investigate the aurelin structure by heteronuclear NMR spectroscopy, the peptide recombinant analogue totally labeled with ^{15}N stable isotope has been obtained.

The recombinant protein was expressed in *E. coli* strain BL21 (DE3) transformed by pET-His8-TrxL-Aur plasmid construction. High-level aurelin expression was achieved by placing its coding sequence downstream of modified thioredoxin A carrier protein. Thioredoxin A provided both temporary neutralization of the target product toxicity and the peptide protection from possible degradation in a heterologous expression system. The transformed cells were cultivated in a minimal medium containing $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ as the only source of nitrogen. The recombinant protein composed of the target peptide, thioredoxin A (M37L) and N-terminal octahistidine tag was obtained both in a soluble form and in inclusion bodies. After immobilized metal ion affinity chromatography (IMAC) and specific cyanogen bromide cleavage of the fusion protein the second IMAC was used to eliminate His-tagged thioredoxin. Fine purification of the target peptide was performed by reversed-phase HPLC in a linear acetonitrile concentration gradient. The molecular mass of ^{15}N -labeled aurelin measured by MALDI-TOF mass-spectrometry matched well the calculated value (4360.0 Da).

The work was supported by the Russian Federal Target Program "Scientific and Science-Educational Personnel of Innovative Russia" (project NK-602P/19, state contract P1159).

РАЗРАБОТКА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ С АНТИДЕПРЕССАНТНОЙ АКТИВНОСТЬЮ НА ОСНОВЕ ДИКОРАСТУЩИХ РАСТЕНИЙ СЕВЕРО-ВОСТОКА ЯКУТИИ**Поскачина Е.Р., Сивцева С.В., Ханды М.Т., Охлопкова Ж.М.***ФГАОУ ВПО «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К.Аммосова», 677000, г. Якутск, ул. Белинского, 58*

Изучен качественный и количественный состав эфирного масла *Pinus pumila* (Pall.) Regel, произрастающего в условиях Северо-Востока Якутии. Состав эфирного масла полученного из хвои изучался в сравнении с показателями по популяциям из Японии [1] и Хабаровского края [2, 3]. Анализ состава показал, что основными компонентами эфирного масла являются: α -пинен (27,97%), 3-карен (7,79%), β -пинен (5,20%), терпинолен (5,00%), камфен (4,45%); отмечено высокое содержание δ -кадинена, кариофиллена, гумулена, сантена, трициклена, α -туйена, α -фелландрена,

α-терпинена, линалоола, α-терпинеола, метилхавикола.

Апробировано сочетание психофизиологических методов коррекции депрессивного состояния у больных с наркологической и алкогольной зависимостью. Результаты исследования выяснили эффективность метода ароматерапии на основе эфирного масла *Pinus pumila*, произрастающего в условиях Северо-Востока Якутии, и ритмической магнитной стимуляции в комплексном применении. Наблюдается восстановление нарушенных нейрофизиологических механизмов до уровня отсутствия симптомов депрессии. Эффективность методов подтверждается данными по контрольным группам (плацебо), у которых отсутствует выраженная динамика положительного эффекта.

[1] Yatagai Mitsuyoshi, Sato Toshiya. Terpenes of leaf oils from conifers // Biochemical Systematics and Ecology. 1986. V.14. N5. P. 469-478.

[2] Ткачев А.В. Исследования летучих веществ растений. Новосибирск, 2008. 969с.

[3] Стародубов А.В., Домрачев Д.В., Ткачев А.В. Состав эфирного масла кедрового стланика (*Pinus pumila*) из Хабаровского края // Химия растительного сырья. 2010. №1. С. 81-86.

DESIGNING BIOACTIVE SUBSTANCES WITH ANTIDEPRESSANT POTENCY BASED ON WILD PLANTS FROM NORTH-EAST OF YAKUTIA

Poskachina E.R., Sivtseva S.V., Khandy M.T., Okhlopko Zh.M.

M.K. Ammosov North-Eastern Federal University, 677000, Yakutsk, Belinskogo Str., 58

We have examined qualitative and quantitative composition of essential oil of *Pinus pumila* (Pall.) Regel, growing in the North-East of Yakutia. Composition of essential oil from pine needles was investigated compared to indicators in populations from Japan [1] and Khabarovsk Region of Russia [2, 3]. Analysis of the compound demonstrated that basic components of the essential oil were: α-pinene (27.97%), 3-carene (7.79%), β-pinene (5.20%), terpinolene (5.00%), camphene (4.45%); high contents of δ-cadinene, caryophyllene, humulene, santene, tricyclene, α-thujene, α-phellandrene, α-terpinene, linalool, α-terpineol, and methyl chavicol were registered.

We have evaluated a combination of psychophysiological methods of correcting depression in patients suffering from drug and alcohol abuse. The results of research demonstrated effectiveness of aromatherapy using essential oil of *Pinus pumila* (Pall.) Regel, growing in North-East of Yakutia, combined with rhythmic magnetic stimulation. Reactivation of impaired neurophysiological mechanisms was observed, up to level of complete absence of depression symptoms. The efficiency of the methods was verified by check groups (placebo) data, in which no explicit positive effect dynamics was observed.

[1] Yatagai Mitsuyoshi, Sato Toshiya. Terpenes of Leaf Oils from Conifers // Biochemical Systematics and Ecology. 1986. V.14. N5. P. 469-478.

[2] Tkachyov A.V. Analyses of Plants' Volatile Substances. Novosibirsk, 2008. 969p.

[3] Starodubov A.V., Domrachev D.V., Tkachyov A.V. Composition of Essential Oil of *Pinus pumila* from Khabarovsk Region // Chemistry of Plant Materials. 2010. No.1. P. 81-86.

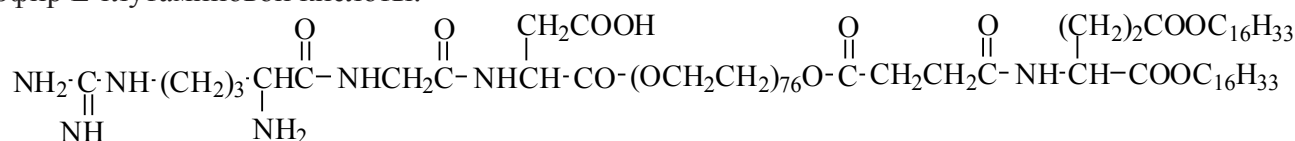
РАЗРАБОТКА СИСТЕМЫ АДРЕСНОГО НАЦЕЛИВАНИЯ С RGD-ПРОИЗВОДНЫМ ПОЛИЭТИЛЕНГЛИКОЛЯ В КАЧЕСТВЕ АКТИВНОГО ЛИГАНДА

Работкина М.А., Себякин Ю.Л.

Московская государственная академия тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова (МИТХТ), г. Москва, пр-т Вернадского 86

Исследования, относящиеся к проблеме доставки лекарств к выбранному участку клеток-мишеней – важная задача современной биотехнологии и медицины. Препараты можно группировать с носителем или заключать в его оболочку, оптимизируя транспортировку. Одним из таких способов является разработка липосомальной формы лекарственных средств.

Нами сконструирована система адресной доставки, которая содержит в своём составе RGD-трипептид (последовательность L-аргинил-глицил-L-аспарагиновая кислота) и полимерный спейсер - полиэтиленгликоль (ПЭГ₃₄₀₀). В качестве гидрофобного домена используется гексадециловый диэфир L-глутаминовой кислоты.



RGD - пептиды обладают сродством к некоторым типам интегринов, которые ответственны за эмбриогенез, дифференциацию, пролиферацию и генную экспрессию, а также за апоптоз и злокачественный рост клетки. Это дает возможность значительно расширить область применения транспортных систем, а также повысить избирательность их действия по отношению к клеткам эпителия растущих сосудов. Производные полиэтиленгликоля, включенные в состав носителей предохраняют липосомы от взаимодействия в русле крови с опсонинами.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых - кандидатов наук МК-3023.2010.3.

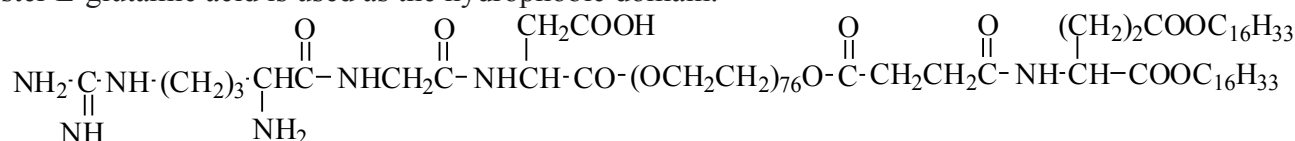
DEVELOP TARGET ADDRESS SYSTEM WITH RGD-DERIVATIVE OF POLYETHYLENE GLYCOL AS AN ACTIVE LIGAND

Rabotkina M.A., Sebyakin J.L.

*Moscow State Academy of Fine Chemical Technology named after Lomonosov M.V.
Moscow, Prospect Vernadskogo 86*

Researches related to the problem of drug delivery to the selected portion of the target cells - an important objective of modern biotechnology and medicine. Drugs can be grouped together with a carrier, or enclosed in its shell to improve transportation. One of such ways is to develop a liposomal form of medicines.

We have designed targeted delivery system, which contains in its composition RGD-tripeptide (sequence of L-arginine-glycyl-L-aspartic acid) and polymeric spacer - polyethylene glycol (PEG3400). Hexadecyl diester L-glutamic acid is used as the hydrophobic domain.



RGD - peptides have an affinity for certain types of integrins, which are responsible for embryogenesis, differentiation, proliferation and gene expression, as well as apoptosis and malignant cell growth. This gives an opportunity to significantly expand the scope of transportation systems, as well as improve the selectivity of their action to the epithelial cells of growing blood vessels. Derivatives of polyethylene glycol, included in the structure of carriers, protect liposomes from the interaction with the opsonins in the mainstream of blood.

This work was supported by the grant of Russian President to support young Russian scientists - candidates of MK-3023.2010.3.

СИНТЕЗ ПОЛИКАТИОННЫХ АМФИФИЛОВ С БИОДЕГРАДИРУЕМЫМ ТИПОМ ЛИНКЕРА

Санников О.А., Маслов М.А., Петухов И.А., Морозова Н.Г., Серебrenникова Г.А.

*Московская государственная академия тонкой химической технологии
им. М.В. Ломоносова, 119571, Москва, проспект Вернадского 86*

Метод генной терапии является многообещающим подходом к лечению наследственных и приобретенных заболеваний. Для достижения терапевтического эффекта необходимо создать транспортную систему, которая сможет эффективно и направленно доставить экзогенные нуклеиновые кислоты (НК) в клетки. На сегодняшний день липофекция – доставка НК с помощью катионных липидов и липосом, является безопасной альтернативой вирусным системам доставки генетического материала, благодаря низкой иммуногенности, возможности транспортировать НК почти неограниченного размера и экономической доступности.

Эндосомальная мембрана является одним из главных биологических барьеров, препятствующих эффективной доставке НК. Для увеличения эндосомального высвобождения было предложено использовать липиды с кислотолабильными связями. Известно, что процесс эндоцитоза сопровождается заметным увеличением кислотности среды от физиологического значения pH 7.4 до 6.5 – 6.0 в эндосомах и 5.0 в первичных или вторичных лизосомах. Поэтому включение в структуру амфифила кислотолабильных связей способствует дестабилизации комплекса НК-катионный амфирил и облегчает высвобождение НК из эндосомального компартмента в цитоплазму, тем самым, увеличивая эффективность трансфекции. В рамках данной работы рассматривается синтез поликатионных амфифилов на основе биосовместимых молекулярных компонентов, присутствующих в эукариотических клетках: липофильного спирта, который обеспечивает слияние с мембраной клетки, и поликатионного домена на основе природного полиамина, способного эффективно компактизировать НК. Связь компонентов осуществляли посредством кислотолабильного ацетального линкера.

Работа выполнена в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» (госконтракт № П715).

SYNTHESIS OF POLYCATIONIC AMPHIPHILES WITH BIODEGRADABLE LINKER

Sannikov O.A., Maslov M.A., Petukhov I.A., Morozova N.G., Serebrennikova G.A.*M.V. Lomonosov Moscow State Academy of Fine Chemical Technology,
119571, Moscow, Vernadsky ave., 86*

Gene therapy is the promising approach for a treatment of hereditary and acquired diseases. For achievement of a therapeutic effect it is necessary to elaborate of transport systems which would be capable for effective targeted delivery of exogenous nucleic acids (NA) into the cells. Today lipofection – delivery of nucleic acids mediated by cationic liposomes or lipids - is the safety alternative to viral gene delivery systems due to a low immunogenicity, a possibility to transfer of unlimited size NA and economic availability.

The endosomal membrane is one of the main biological barriers interfering effective delivery of nucleic acids. The acid-labile lipids were proposed to increase the escape of NA from endosomes. It is known that the endocytosis is accompanied by a significant decrease in the medium acidity from the physiological pH value of 7.4 down to 6.5–6.0 in endosomes and to 5.0 in the primary and secondary lysosomes. Therefore, the inclusion of acid-labile linkages in the lipid structure promotes the destabilization of NA-cationic amphiphile complexes and facilitates the NA release from the endosomal compartment into cytoplasm, thereby enhancing the transfection efficiency. Synthesis of polycationic amphiphiles based on biocompatible components representing into eukaryotic cells has been elaborated. Hydrophobic steroid provides the interaction with cellular membrane, and polycationic spermine moiety is capable to bind and to effectively condense the NA molecule. Two components were linked by acid-labile acetal linker.

This work was supported by the Ministry of Science and Education of the Russian Federation (state contract no. P715)

АДЕНОЗИНТРИФОСФОРНАЯ КИСЛОТА КАК ИНДИКАТОР АКТИВНОСТИ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ – ДОНОРОВ NO

Саратовских Е.А., Психа Б.Л., Санина Н.А.*Институт проблем химической физики Российской академии наук
142432, Россия, г. Черноголовка, пр. ак. Семёнова, д.1
E-mail: easar@icp.ac.ru*

Создание лекарственных препаратов нового поколения - одно из важнейших направлений фундаментальной науки, требующее инновационных подходов. Исследования, направленные на синтез и фармакологическое использование новейших высокоэффективных и малотоксичных препаратов для кардиологии и онкологии активно развиваются в сфере разработки и создания соединений - доноров монооксида азота (NO). Функцию донорирования NO *in vivo* успешно выполняют нитрозильные комплексы железа, которые являются синтетическими аналогами активных участков [2Fe-2S] белков – природных «депо» NO. Исследование механизмов регулирования энергетического метаболизма и стабилизация уровня аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ) в клетках при различных формах заболеваний представляет собой актуальную задачу современной биологии и медицины. Всё это обуславливает интерес к изучению механизмов взаимодействия экзогенных доноров NO и основного макроэргического соединения – АТФ. В работе представлены данные исследования взаимодействия АТФ с донором NO - тиосульфатным нитрозильным комплексом железа (ТНКЖ), обладающим потенциальной антиметастатической и кардиотропной активностью.

Разработана методика, позволяющая контролировать процесс взаимодействия АТФ с предельно низкими концентрациями ТНКЖ (10^{-5} М), в условиях, когда равновесие между компонентами устанавливается мгновенно, что весьма ценно для анализа поведения короткоживущих интермедиатов. По изменению интенсивности флуоресценции, показано образование комплекса [АТФ-ТНКЖ]. Рассчитанная константа комплексообразования ($K_{\text{к/обр}} = k_1/k_2 = (9,2 \pm 0,7) \cdot 10^4$ М/л) достоверно описывает кинетические кривые тушения. Анализ спектров ЯМР и ИК показывает строение комплекса [АТФ-ТНКЖ]: железонитрозильный фрагмент ТНКЖ образует ковалентные связи с адениновым фрагментом АТФ; фосфорные остатки АТФ остаются не затронутыми и сохраняют «энергетический» потенциал макроэргических связей.

ADENOSINE TRIPHOSPHORIC ACID AS AN ACTIVITY INDICATOR OF POTENTIAL NO-DONATING DRUGS

Saratovskikh E.A., Psikha B.L., Sanina N.A.

*Institute of Problems of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences,
pr. N.N. Semenova 1, 142432 Chernogolovka, Moscow Region, Russian Federation
E-mail: easar@icp.ac.ru*

The production of drugs of a new generation is one of the most important directions of basic research that requires innovation approaches. The studies aimed at synthesizing and pharmacological using the newest highly efficient and lowly toxic drugs for cardiology and oncology are being actively developed in the sphere of development and production of compounds that are donors of nitrogen monoxide (NO). The function of NO donating in vivo is successfully performed by the iron nitrosyl complexes, which are synthetic analogs of active sites of [2Fe-2S] proteins, which are natural “depots” of NO. The study of mechanisms of regulation of energy metabolism and stabilization of the level of adenosine triphosphoric acid (ATP) in cells at various forms of diseases is an urgent problem of modern biology and chemistry. Therefore, researchers are interested in studying mechanisms of interaction of exogenic NO donors and ATP, being the main macroergic (high-energy) compound. The data of the study of the interaction of ATP with an NO donor, iron nitrosyl thiosulfate complex (INTC), which possesses potential antimetastatic and cardiotropic activity, are presented. A procedure was developed that makes it possible to control the process of interaction of ATP with ultimately low concentrations of INTC (10^{-5} М) under the conditions where the equilibrium between the components is instantly established, which is valuable for analysis of the behavior of short-lived intermediates. The formation of the complex [ATP-INTC] was shown by a change in the fluorescence intensity. The complex formation constant ($K_{\text{с/форм}} = k_1/k_2 = (9,2 \pm 0,7) \cdot 10^4$ mol/l) reliably describes the kinetic quenching curves. An analysis of the NMR and IR spectra shows the structure of the [ATP-INTC]: the iron-nitrosyl moiety of INTC forms covalent bonds with the adenine moiety of ATP; the phosphoric moieties of ATP are not involved in the reaction and retain the “energy” potential of macroergic bonds.

ОСОБЕННОСТИ РАЗРАБОТКИ И ОПТИМИЗАЦИИ ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ КЛОНОВ-ПРОДУЦЕНТОВ РЕКОМБИНАНТНОГО ИНТЕРФЕРОНА-БЕТА

Серегин Ю.А., Благодатских Е.Г., Лобанова Н.В., Егоров П.А., Сауткина Е.Н., Хамитов Р.А.
 ГНЦ РФ ФГУП НИИ генетики и селекции промышленных микроорганизмов, Россия, Москва, 1-й Дорожный проезд, д. 1

Цель исследования. Работа была направлена на оптимизацию процесса культивирования эукариотических клеточных линий, созданных для производства токсичного рекомбинантного белка - интерферона-бета.

Материалы и методы. Клеточные линии были созданы на основе клеток СНО и содержали ген интерферона-бета под контролем сильных конститутивного и индуцируемого промоторов. Культивирование проводилось в суспензии в среде без содержания сыворотки. Для оценки концентрации белка использовался метод Вестерн-блоттинга.

Результаты. Клетки, постоянно экспрессирующие интерферон-бета, в связи с токсичностью белка имели более низкую скорость удвоения, были склонны к образованию агрегатов, продуктивность не превышала 4 мг/л. Кроме того, эти клоны плохо выдерживали криоконсервацию и росли в культуре в течение максимум 10 пассажей. Клетки, основанные на индуцируемой экспрессионной системе, культивировались без добавления индуктора в течение как минимум 30 пассажей без снижения ростовых характеристик, выдерживали криоконсервацию. После добавления индуктора продуктивность превышала 40 мг/л.

Также была проведена оптимизация состава среды, показавшая, что выбор производителя и добавление некоторых химических веществ (40мМ хлорида натрия, 5 мг/л сульфата декстрана) позволяют повысить продуктивность клеток еще на 60%, в том числе за счет большей длительности цикла культивирования.

Выводы. Для производства рекомбинантного интерферона-бета требуется клеточная линия с индуцируемой экспрессией и тщательная оптимизация состава среды, направленная на снижение токсичности белка.

PARTICULAR POINTS IN DEVELOPMENT AND OPTIMIZATION OF EUKARYOTIC CLONES PRODUCING RECOMBINANT INTERFERON-BETA

Seregin Y.A., Blagodatskikh E.G., Lobanova N.V., Egorov P.A., Sautkina E.N., Khamitov R.A.

Scientific Centre RF, Institute of genetics and selection of industrial microorganisms, Russia, Moscow, 1st Dorozhny proezd, 1

Aim of the study: The study was aimed at optimization of the culturing process of eukaryotic cell lines established for the production of toxic recombinant protein – interferon-beta.

Materials and methods: Cell lines were established on the basis of CHO cells and contain interferon-beta gene under control of strong constitutive and inducible promoters. Cells were cultured in suspension in serum-free medium. Western blotting was used for quantification of protein of interest.

Results: Because of protein toxicity, cells constitutively expressing interferon-beta tended to have lower division rate, to form aggregates, and the productivity was not more than 4mg/l. Moreover, these cells do not survive well after cryoconservation and grow in culture for maximum 10 passages. Cells based on the inducible expression system were cultured without inductor for at least 30 passages without reduction

of growth parameters and withstand cryoconservation. After addition of inductor productivity exceeded 40mg/l.

We also performed medium optimization which indicated that choice of medium supplier and addition of particular chemical compounds (40mM sodium chloride, 5mg/l dextran sulfate) helps to increase cells productivity by 60%, partly because of longer culturing time.

Conclusion: Production of recombinant interferon-beta requires cell line with inducible expression and detailed medium optimization directed to reduce toxic effects of the protein.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СИНТЕТИЧЕСКОГО УЧАСТКА S/MAR ПОВЫШАЕТ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ВЕКТОРА ДЛЯ ЭКСПРЕССИИ РЕКОМБИНАНТНОГО ЭРИТРОПОЭТИНА

**Серегин Ю.А.¹, Чувпило С.А.², Копылова О.И.¹, Благодатских Е.Г.¹,
Бурденный А.Н.¹, Лобанова Н.В.¹, Сауткина Е.Н.¹, Носиков В.В.¹, Хамитов Р.А.¹**

¹ ГНЦ РФ ФГУП НИИ генетики и селекции промышленных микроорганизмов,
Россия, Москва, 1-й Дорожный проезд, д. 1

² TheraMab GmbH, Германия, Вюрцбург, Фридрих-Бергиус-Ринг, 15

Цель исследования. Разработка высокопродуктивной генетической платформы для экспрессии рекомбинантного эритропоэтина человека и других белков.

Материалы и методы. Использовалась разработанная ранее генетическая конструкция, содержащая ген эритропоэтина под контролем конститутивного промотора CMV. Клеточные линии были созданы на основе клеток СНО путем трансфекции и последующего отбора клонов. Культивирование клеток проводилось в среде DMEM/F12/5%FCS. Для оценки концентрации белка использовались методы Вестерн-блоттинга и ИФА.

Результаты. Для создания синтетического участка S/MAR использовалась последовательность, расположенная вблизи гена интерферона-бета. С помощью компьютерной программы MAR Finder был определен наиболее значимый ее элемент длиной 141 п.н., который затем был мультиплицирован и встроен в исходный экспрессионный вектор в 3'-область гена эритропоэтина. В результате сравнения концентрации эритропоэтина после трансфекций в клетки СНО исходной и результирующей конструкций было установлено, что уровень экспрессии гена увеличился на 40%. Была отобрана клеточная линия, обладающая продуктивностью 32 мг/л среды/день и высокой стабильностью экспрессии. Для сравнения, лучшая клеточная линия на основе исходной конструкции обеспечивала уровень продукции 15 мг/л/день в тех же условиях.

Выводы. Использование синтетических элементов S/MAR обеспечивает не только высокую стабильность клеточной линии, но и более высокий уровень экспрессии.

APPLICATION OF SYNTHETIC S/MAR ELEMENT INCREASES EFFICIENCY OF GENETIC VECTOR FOR EXPRESSION OF RECOMBINANT ERYTHROPOIETIN

Seregin Y.A.¹, Chuvpilo S.A.², Kopylova O.I.¹, Blagodatskikh E.G.¹, Burdenny A.N.¹, Lobanova N.V.¹, Sautkina E.N.¹, Nosikov V.V.¹, Khamitov R.A.¹

¹ Scientific Centre RF, Institute of genetics and selection of industrial microorganisms, Russia, Moscow, 1st Dorozhny proezd, 1

² TheraMab GmbH, Germany, Würzburg, Friefrich-Bergius-Ring, 15

Aim of the study: Development of highly productive genetic platform for expression of recombinant human erythropoietin and other proteins.

Materials and methods: We used previously developed genetic construct containing erythropoietin gene under control of constitutive promoter CMV. Cell lines were established using transfection into CHO cells with following clone selection. Cells were cultured DMEM/F12/5%FCS. Western blotting and ELISA were used for quantification of protein of interest.

Results: For creation of synthetic S/MAR element we applied sequence flanking interferon-beta gene. Using computer program MAR Finder we have identified the most significant element 141bp long that was further multiplied and inserted into initial expression vector in 3'-flanking region of erythropoietin gene. As a result of comparison of erythropoietin concentration after transfection of CHO cells with initial and resulting constructs we found that gene expression level was increased by 40%. Stable cell line was further selected with productivity of 32 mg/l medium/day and high expression stability. For comparison, the best cell line based on initial construct produced 15 mg/l/day in the same conditions.

Conclusion: The use of synthetic S/MAR elements provides not only high stability of cell line but also higher expression level.

СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ ПОЛИАМИДНЫХ МИМЕТИКОВ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Ширяева М.В., Никольская Е.Д., Деженков А.В., Кириллова Ю.Г.

московская государственная академия тонкой химической технологии
им. М.В. Ломоносова, пр. Вернадского 86,
119571, Москва, россия, e-mail: pna-mitht@yandex.Ru

Полиамидные миметики нуклеиновых кислот (ПАНКМ) – химерные молекулы, включающие в свой состав псевдопептидные фрагменты. Ранее была установлена способность гомотиминовых олигомеров отрицательно заряженных ПАНКМ образовывать прочные комплексы с полиадениновыми последовательностями олигодезоксирибонуклеотидов, а также зависимость устойчивости комплексов от ионной силы раствора и наличия некомплементарного основания (G) в середине последовательности мишени.

В данный момент проводится конструирование олигомеров отрицательно заряженных ПАНКМ на основе L-глутаминовой кислоты, причем отрицательный заряд, представленный карбоксиэтильным заместителем, вводится как в α-, так и γ-положение псевдопептидного фрагмента (Рис.1).

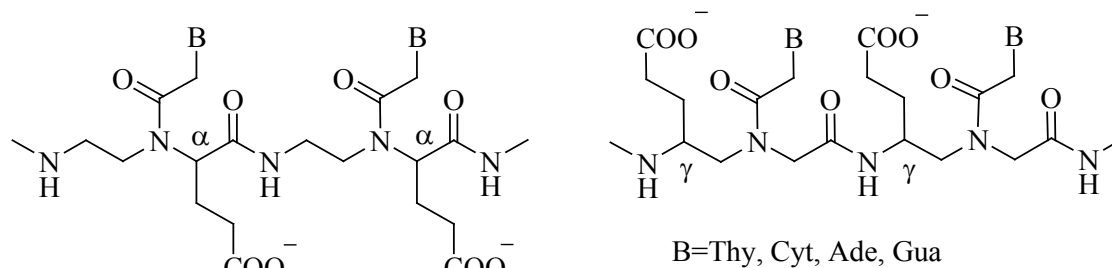


Рис. 1. Отрицательно заряженные α - и γ - полиамидные миметики нуклеиновых кислот.

В ходе нашего исследования были успешно решены задачи по расширению набора мономеров, оптимизации их синтеза и разработке воспроизводимых методик твердофазного синтеза олигомеров. При этом был разработан воспроизводимый Вос-протокол ручного твердофазного синтеза хиральных ПАНКМ и получен набор олигомеров ПАНКМ. В настоящее время проводится исследование свойств полученных олигомеров.

SYNTHESIS AND PROPERTIES ANALYSES OF POLYAMIDE NUCLEIC ACIDS MIMICS

Shiryaeva M.V., Nikolskaya E.D, Dezhnikov A.V., Kirillova Yu.G.

Moscow state academy of fine chemical technology named after M.V. Lomonosov, prospect vernadskogo 86,

119571, Moscow, russia, e-mail: pna-mitht@yandex.Ru

Polyamide nucleic acids mimics (PANAM) are chimer molecules containing pseudopeptide fragments in the structure. Previously, it was found, that homothymine oligomers of negatively charged PANAM are capable to form a strong complexes with polyadenine sequences of oligodeoxyribonucleotides, and that stability of these complexes depends on ionic strength of the solution and on the presence of non-complementary base (G) in the middle of sequence target.

Currently, design of negatively charged PANAM oligomers on the basis *L*-glutamic acid is carried out, the negative charge presented by carboxyethyl substitute being incorporated both at α -, and γ -position of pseudopeptide fragment (Fig. 1).

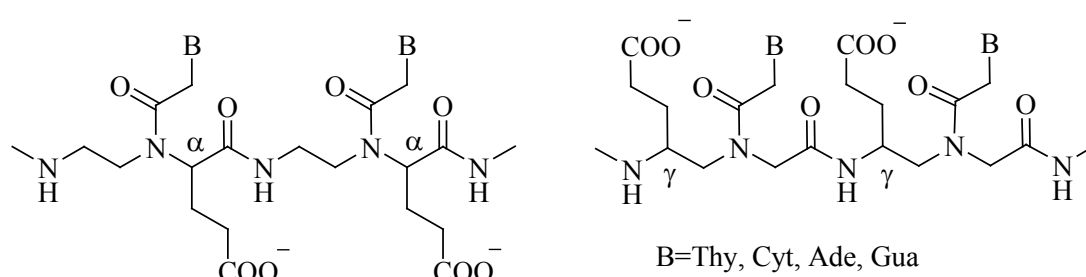


Fig. 1. Negatively charged $\alpha(\gamma)$ -polyamide nucleic acids mimics.

Such problems as expansion of monomers number, optimization of their synthesis and development of reproducible procedures of solid phase synthesis of oligomers, were solved during our research. Reproducible Boc-protocol of manual solid phase synthesis of chiral PANAM was developed and number of PANAM oligomers was obtained. Properties of received oligomers are now under investigation.

КОНСТРУИРОВАНИЕ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СИСТЕМ С КОНТРОЛИРУЕМОЙ ДОСТАВКОЙ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ РЕЗОРБИРУЕМЫХ ПОЛИМЕРОВ

Шумилова А.А.*, Шишачкая Е.И.**

*Сибирский Федеральный Университет, Россия, г. Красноярск, 660041, пр. Свободный, 79

**Институт Биофизики СО РАН, Россия, г. Красноярск, 660036, Октябрьский район, Академгородок, 50

В настоящее время актуально создание новых лекарственных форм на полимерной основе, обеспечивающих медленное высвобождение активного начала из полимерной матрицы. В работе исследовали кинетику выхода лекарственного вещества из экспериментальных образцов полимеров микробиологического происхождения - полигидроксиалканоатов.

Для исследований были взяты образцы гомогенного полимера β -оксималяной кислоты (ПГБ) и двухкомпонентного сополимеры β -оксибутирата и β -оксивалерата (ПГБ/ПОВ) с включением оксивалерата 11.2, 23.1 и 33 мол %.

Получены экспериментальные образцы биомедицинского назначения из ПГА, в виде таблетированных компактов с включением антибиотических препаратов, методом холодного прессования на прессе Carver Auto Pellet 3887. Выявлены оптимальные условия смешения препарата с полимерной матрицей, охарактеризованы структура и свойства полученной лекарственной формы. Для выявления стабильности сконструированных лекарственных форм с различным содержанием антибиотиков (1%, 5%, и 10%) в биологических средах и исследования кинетики оттока препаратов, проведены эксперименты в модельной среде *in vitro*.

Установлено, что на кинетику оттока препарата в большей степени влияет загруженность полимерного матрикса антибиотиком, нежели химические свойства полимера. В ходе наблюдений зафиксировано, что кинетика оттока лекарственного вещества из таблетированных форм реализуется без резких выбросов, постепенно и с низкими скоростями. Скорость выхода препарата из полимерных матриксов за период наблюдения 32 суток, составила в среднем для гентамицина 0,026638 мг/мл, тиенама 0,786 мг/мл.

Полученные результаты, подтверждают, что ПГА, являются перспективным материалом для депонирования и контролируемой доставки лекарств.

CONSTRUCTION OF NEW DRUG DELIVERY SYSTEMS WITH CONTROLLED DRUGS BASED ON RESORBABLE POLYMER

Shumilov AA * Shishatskaya EI **

* Siberian Federal University, Russia, Krasnoyarsk, 660041, etc. Free, 79,

** Institute of Biophysics, Russia, Krasnoyarsk, 660036, Oktyabrsky district, Russia, 50

Currently, the relevance of the new dosage forms polymer-based, providing a slow release of active ingredient from the polymer matrix. We studied the kinetics of release of drug from the experimental samples of polymers of microbial origin - polyhydroxyalkanoates.

For research samples were taken from a homogeneous polymer β -hydroxybutyric acid (PHB) and two-component copolymers of β - and β -oxybutyrate oksivalerat (PHB / Stand) with the inclusion of oksivalerat 11.2, 23.1 and 33 mol%.

The experimental samples biomedical purpose of PGA, in the form of tablet compacts with the inclusion of antibiotic drugs, cold-pressed on the press Carver Auto Pellet 3887. Optimal conditions for mixing the drug with the polymer matrix, characterized the structure and properties of the resulting dosage form.

To detect the stability of designed formulations containing different amounts of antibiotics (1%, 5% and 10%) in biological media and the kinetics of the outflow of drugs, carried out experiments in a model environment in vitro.

Established that the kinetics of the outflow of the drug in a greater impact load of the polymer matrix, antibiotic, than the chemical properties of the polymer. During the observations recorded that the kinetics of the outflow of the drug from the tablet form is realized without sharp emission gradually and at low speed. The rate of drug release from polymer scaffolds for the period of 32 days amounted on average to gentamicin 0.026638 mg / ml, tienam 0.786 mg / ml.

The results obtained confirm that the PGA, are a promising material for deposit and controlled drug delivery.

РЯД НОВЫХ ДОПОЛНИТЕЛЬНЫХ ЭНДО- И ЭКЗОГЕННЫХ ФАКТОРОВ, НЕОБХОДИМЫХ ПРИ ОЦЕНКЕ РЕЗИСТЕНТНОСТИ КЛЕТКИ К СТРЕССАМ

Васильева С.В., Стрельцова Д.А.

*Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН
119334, Москва, ул. Косыгина, 4*

Живая биосистема активно взаимодействует с окружающей средой, изменяя ее и изменяясь сама в процессе взаимодействия. Важнейшей характеристикой клетки является резистентность, т. е. способность противостоять воздействию стрессовых факторов.

Изучая проблему резистентности организма необходимо учитывать ее безусловную зависимость от множества взаимодействующих факторов экзо- и эндогенной природы: активности специфических систем метаболизма, митотической активности клеток, стадии клеточного цикла, активности клеточных структур, условий внешней и внутренней среды клетки, которые могут существенно модифицировать результат взаимодействия стрессового фактора с организмом и т.д.. Бактериальная клетка обладает сложнейшими стратегиями молекулярных адаптаций. Это, прежде всего, механизмы репарации ДНК, которые в целом подразделяются на error-proof и error-prone, системы quorum sensing, подвижные генетические элементы и т.д.

В работе обобщены результаты наших исследований, позволяющие суммировать и детализировать знания о взаимодействии процессов, обеспечивающих резистентность клетки к стрессу.

В нашей лаборатории впервые была выдвинута и экспериментально подтверждена гипотеза об интерференции в E.coli альтернативных error-proof (Ada- и OxyR-ответы) и error-prone (SOS-ответ) репарационных процессов, направленной на сохранение генетической стабильности клетки (С.В. Васильева и др, 1999). Было открыто новое генетическое явление в клетках E.coli – квази-адаптивный ответ к алкилирующим соединениям, развивающийся предобработкой клеток сублетальной дозой не алкилирующих, как в классическом Ada-ответе, а нитрозилирующих агентов (С.В. Васильева и др., 2006). Установлен механизм контроля универсальным белком анаэробии Fnr[4Fe-4S]²⁺ уникального гена aidB, входящего в состав Ada-регулона и выполняющего функции «гена опасности» при наличии в ДНК высокого уровня бифункциональных повреждений, в т.ч. внутри- и межнитевых сшивок (С.В. Васильева, Д.А. Стрельцова и др., 2010). Было показано, что оксид азота (NO) может выступать в роли модулятора цитотоксической активности УФ-облучения в клетках E.coli, оказывая протекторный либо сенсibiliзирующий эффект в зависимости от активности системы эксцизионной репарации и наличия кислорода в среде культивирования (С.В. Васильева, Д.А. Стрельцова и др., 2008).

Принимая во внимание фундаментальную значимость полученной информации, ее необходимо учитывать при оценке комплексной резистентности клетки к стрессовым воздействиям.

A NUMBER OF NEW ADDITIONAL ENDO- AND EXOGENOUS FACTORS IMPORTANT IN THE ASSESSMENT OF CELLULAR STRESS RESISTANCE

Vasilieva S.V., Streltsova D.A.

*N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics, RAS
119334, Moscow, Kosygina St., 4*

A living biosystem actively interacts with the environment, changing it and changing itself in the process of interaction. The most important characteristic of a cell is its resistance, i.e., the ability to withstand the effects of stress factors.

While studying the problem of a cells resistance it's necessary to consider its absolute dependence on numerous of interacting endo- and exogenous factors: the activity of specific metabolic systems, cell's mitotic activity, stage of the cell cycle, activity of cellular structures, conditions of the external and internal environment of cells, which can substantially modify the result of a stress factor influence, etc. Bacterial cell has complex molecular strategies for adaptation. This, above all, includes mechanisms of DNA repair, which generally fall into error-proof and error-prone, the system of quorum sensing, mobile genetic elements, etc.

The paper generalizes the results of our research, allowing to summarize and refine knowledge about the interaction processes in developing of a cell resistance. In our laboratory was for first time proposed and experimentally confirmed the hypothesis of interference in E.coli of the alternative error-proof (Ada-and OxyR-responses) and error-prone (SOS-response) repair mechanisms, the interference is aimed at preserving the genetic stability of cells (S.V. Vasilieva et al, 1999). The new genetic phenomenon in the cells was discovered - the quasi-adaptive response to alkylating compounds, developing by pretreatment of the cells with sublethal dose of nitrosative agents (S.V. Vasilieva et al, 2006). The regulation of unique aidB-gene (which is a member of the Ada-regulon and acts as a "risk gene" in the presence of the bi-functional damages in DNA) by universal anaerobic transcriptional factor Fnr [4Fe-4S]²⁺ was established (S.V. Vasilieva, D.A. Streltsova et al, 2010). It was shown that nitric oxide (NO) can act as a modulator of UV mediated cytotoxic activity in E.coli cells, providing protecting or sensitizing effect depending on the activity of excision repair system and on the oxygen presence (S.V. Vasilieva, D.A. Streltsova et al, 2008).

The fundamental importance of the information received must be considered in the assessment of complex cellular stress resistance.

АНАЛОГИ C/D БОКС РНК КАК ИНСТРУМЕНТ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

Степанов Г.А., Семенов Д.В., Кулигина Е. В., Коваль О. А., Рихтер В. А.

*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр-т ак. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия 630090. E-mail: stepanovga@niboch.nsc.ru*

Малые ядрышковые C/D бокс РНК (мяоРНК) направляют сайт-специфичное 2'-О-метилование нуклеотидов рРНК и мяРНК. Недавно было показано, что C/D бокс РНК, а также их фрагменты регулируют пост-транскрипционную модификацию и альтернативный сплайсинг пре-мРНК.

В данной работе были сконструированы и синтезированы искусственные аналоги U24 мяоРНК, направленные на нуклеотиды 28S и 18S рРНК, пре-мРНК и мРНК. Серия синтетических РНК аналогов U24 мяоРНК была сконструирована таким образом, чтобы направлять 2'-О-метилование

нуклеотидов пре-мРНК белка теплового шока hsc70: точки разветвления сплайсинга, первого и последнего нуклеотидов интрона, донорного и акцепторного сайтов сплайсинга. Было показано, что трансфекция клеток человека этими синтетическими мяоРНК вызывает частичное нарушение сплайсинга и приводит к появлению неканонической формы альтернативного сплайсинга мРНК-мишени.

Кроме того, нами было установлено, что трансфекция клеток аналогами мяоРНК, направленными на нуклеотиды рРНК, индуцирует *de novo* 2'-О-метилирование нуклеотидов-мишеней. Показано, что направленное метилирование отдельных нуклеотидов рРНК оказывает разное влияние на жизнеспособность клеток человека. В ряде случаев аналоги мяоРНК вызывают понижение жизнеспособности клеток аденокарциномы человека MCF-7.

Таким образом, нами показано, что синтетические мяоРНК, проникая в клетки человека, способны специфически взаимодействовать с ядерными и ядрышковыми белками и участвовать в процессах пост-транскрипционной модификации РНК. Конструирование новых синтетических аналогов на основе фундаментальных знаний о структуре и функциях малых ядрышковых РНК позволяет создавать эффективные средства направленной регуляции процессов клеток человека.

Работа поддержана грантами: РФФИ № 10-04-01386-а, РФФИ № 10-04-01442-а, ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» № 02.740.11.0715

BOX C/D RNA ANALOGS AS AN INSTRUMENT OF REGULATION OF GENE EXPRESSION IN HUMAN CELLS

Stepanov G.A., Semenov D.V., Koval O.A., Kuligina E.V., Richter V.A.

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS,

Lavrentiev Ave., 8, Novosibirsk, 630090, Russia. E-mail: stepanovga@niboch.nsc.ru

Box C/D small nucleolar RNAs (snoRNA) guide the site-specific 2'-O-ribose methylation of nucleotides in rRNAs and snRNAs. Recently it has been shown that box C/D snoRNAs and their fragments regulate post-transcription modification and alternative splicing of pre-mRNA.

In this study we designed and synthesized artificial analogs of U24 snoRNA directed to nucleotides of 28S and 18S rRNA and pre-mRNA, and mature mRNA. Artificial RNAs of one series of U24 snoRNA analogs contained target recognition regions directed to following nucleotides of pre-mRNA of human heat shock cognate protein 70 (hsc70): the branch point adenosine; the first and the last nucleotides of intron; the donor and the acceptor nucleotides of spliced exon. It was found that transfection of cultured human cells by artificial snoRNA guiding 2'-O-methylation of pre-mRNA induced partial splicing impairments and production of incorrect form of mRNA-target.

Transfection by artificial snoRNA directed to individual nucleotides of rRNA induced *de novo* 2'-O-methylation of targeted nucleotides of rRNA. It has been shown that guided methylation of individual nucleotides resulted in different effect on viability of human cells. In some cases snoRNA analogs caused decreasing of viability of MCF-7 human adenocarcinoma cells.

So we have shown that artificial snoRNAs, having penetrated into human cells, can interact with nuclear and nucleolar proteins and take part in cellular processes of post-transcription modification different RNA. Design of novel artificial RNA analogs on basis fundamental knowledge about structure and functions of snoRNAs allows to develop new tools of addressed regulation of processes in human cells.

The work was supported by the Russian Ministry of Education & Science (02.740.11.0715), RFBR grant № 10-04-01386-a and RFBR grant № 10-04-01442-a

СИНТЕЗ ГЕМИНИ-СУРФАКТАНТА НА ОСНОВЕ ДИГЛИЦЕРИДА И СПЕРМИНА ДЛЯ ДОСТАВКИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ В ЭУКАРИОТИЧЕСКИЕ КЛЕТКИ

Токарева Ю.И., Иванова Е.А., Маслов М.А., Морозова Н.Г., Серебренникова Г.А.

*Московская государственная академия тонкой химической технологии
им. М.В. Ломоносова, 119571, Москва, проспект Вернадского 86*

Последние годы отмечены значительным прогрессом в области генной терапии. Для доставки генетического материала в клетки используют различные векторные конструкции вирусного и невирусного происхождения. Доставка нуклеиновых кислот с помощью катионных липосом является перспективным способом введения генетического материала, так как они способны переносить нуклеиновые кислоты большого размера, обладают низкой иммуногенностью и токсичностью, а также химически доступны. Однако их главным недостатком является низкая эффективность трансфекции. Для преодоления этого недостатка проводится оптимизация дизайна катионных липидов. Молекулы последних представляют собой комбинацию двух структурных доменов (гидрофобного и гидрофильного), соединённых спейсером. Недавно был предложен ещё один класс катионных амфифилов – катионные гемини-сурфактанты. Эти симметричные молекулы содержат две липидные единицы, которые размещаются по концам спейсера, включающего положительно заряженный домен. Они обладают высокой поверхностной активностью, что позволяет понизить дозу липидных векторов при сохранении среднего или высокого уровня трансфицирующей активности в испытаниях *in vitro*. С целью поиска новых агентов трансфекции в ряду гемини-сурфактантов в данной работе был синтезирован симметричный поликатионный амфифил. В качестве гидрофобного домена в синтезе использовался остаток 1,2-дитетрадецил-*rac*-глицерина, длина алкильных цепей которого, согласно литературным данным, является наиболее оптимальной для проявления трансфицирующей способности в этом ряду амфифилов. Гидрофобный домен связан с гидрофильным фрагментом (остатком спермина) через гексаметиленовые спейсеры посредством карбамоильной связи. Впервые синтезированный гемини-сурфактант наработан в количествах, достаточных для проведения биологических испытаний по изучению токсичности и трансфицирующей активности.

Работа поддержана грантом РФФИ 10-03-00995-а.

SYNTHESIS OF GEMINI-SURFACTANT BASED ON DIGLYCERIDE AND SPERMINE FOR GENE DELIVERY INTO EUKARYOTIC CELLS

Tokareva J.I., Ivanova E.A., Maslov M.A., Morozova N.G., Serebrennikova G.A.

*M.V.Lomonosov Moscow state academy of fine chemical technology,
119571, Moscow, Vernadsky's avenue 86*

Last years considerable progress in the field of gene therapy was occurred. Various viral or non-viral vectors are used for gene delivery into cells. The nucleic acids delivery mediated by cationic liposomes is a perspective way due to they are capable to transfer nucleic acids of unlimited size, possess a low immunogenicity and low toxicity, and also are chemically available. However a low transfection efficiency is the main disadvantage of cationic liposomes. To overcome this problem design of the cationic lipids structure is carried out. Molecules of cationic lipids represent a combination of two structural domains (hydrophilic and hydrophobic), connected with a spacer. Recently the new class of cationic amphiphiles named cationic gemini-surfactants has been offered for the gene delivery. These symmetric molecules

contain two lipophilic units arranged at the ends of spacer, which includes positively charged domain. They possess a high surface activity allowing to decrease an amount of lipid vectors retaining average or high levels of transfection activity *in vitro*. For searching of new transfectants among gemini-surfactants the new symmetric polycationic amphiphile has been synthesized. 1,2-Ditetradecyl-*rac*-glycerol was used as the hydrophobic domain. Tetradecyl alkyl chains are the optimal for efficient transfection according to the literature. The hydrophobic domain is connected with hydrophilic fragment, represented by a spermine, *via* hexamethylene spacer by means of urethane linker. Synthesized gemini-surfactant is obtained in quantity sufficient for carrying out of cytotoxicity and transfection activity studies.

Work is supported by the RFBR grant (#10-03-00995-a).

ЛЕЧЕБНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВНЕШНЕМЕМБРАННЫХ ВЕЗИКУЛ *LYSOBACTER SP. XL1* В ОТНОШЕНИИ МОДЕЛЬНОЙ СИБИРЕЯЗВЕННОЙ ИНФЕКЦИИ

Шишкова Н.А. *, Маринин Л.И. *, Васильева Н.В. **, Ледова Л.А. **, Кулаев И.С. **, Цфасман И.М. **, Степная О.А. **

*Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии, 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, п. Оболенск, ФГУН ГНЦ ПМБ

**Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, 142290, Московская обл., г. Пущино, проспект Науки, д.5.

Грамотрицательная бактерия *Lysobacter sp. XL1* секретирует в окружающую среду литические ферменты (Л1-Л5), разрушающие клеточные стенки различных микроорганизмов. На основе культуральной жидкости этой бактерии создан антимикробный препарат широкого спектра действия – лизоамидаза (патент РФ № 2193063). Установлена способность клеток *Lysobacter sp.* образовывать внешнемембранные везикулы и секретировать с их помощью литическую эндопептидазу Л5. Везикулы обладают выраженным антимикробным действием в отличие от растворимого фермента Л5. Целью данной работы было: исследовать возможность использования везикул в качестве лекарственного средства.

Было показано, что везикулы, содержащие эндопептидазу Л5, обладают литическим действием на патогенные, включая множественно устойчивые к антибиотикам штаммы. Установлено, что однократное введение везикул является эффективным для лечения экспериментальной генерализованной и кишечной формы сибиреязвенной инфекции у мышей, вызванной спорами и вегетативными клетками *Bacillus anthracis* 71/12. Лечение доксициклином оказалось неэффективным даже при 5-дневном применении. Везикулы проявляют также высокую лечебную эффективность в отношении экспериментальной сибирской язвы, вызванной возбудителем, резистентным к широко используемым антибиотикам (*B. anthracis* СТИ-Тс), при однократном введении через 3 часа после инфицирования. ЛД₅₀ составил 1·10⁸ спор. Использование доксициклина было неэффективным – величины ЛД₅₀ практически одинаковы для не леченных животных (5·10⁶) и леченных доксициклином (1,3·10⁶).

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности разработки лекарственных средств на основе искусственных везикулярных структур.

THERAPEUTIC EFFICIENCY OF OUTER MEMBRANE VESICLES OF *LYSOBACTER* SP. XL1 AGAINST MODEL ANTHRAX INFECTION

Shishkova N.A.^{*}, Marinin L.I.^{*}, Vasilyeva N.V.^{**}, Ledova L.A.^{**}, Kulaev I.S.^{**}, Tsfasman I.M.^{**}, and Stepnaya O.A.^{**}

^{*}State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology,
Obolensk, Moscow region, 142279 Russia

^{**}Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, Russian Academy of Sciences, pr. Nauki 5, Pushchino, Moscow region, 142290 Russia

Gram-negative bacterium *Lysobacter* sp. XL1 secretes into the medium the lytic enzymes (L1-L5) destroying the cell walls of different microorganisms. The culture liquid of this bacterium was used as a basis for development of Lysoamidase, a broad-spectrum antimicrobial preparation (RF Patent no. 2193063). The ability of *Lysobacter* sp. to form outer membrane vesicles and use them for secreting the lytic endopeptidase L5 has been established. Vesicles have a pronounced antimicrobial effect in contrast to the soluble enzyme L5. The goal of the present work was to study the possibility of applying vesicles as a medicinal agent.

It has been shown that the vesicles containing endopeptidase L5 have a lytic effect on pathogenic strains, including those with multiple antibiotic resistance. It has been shown that a single introduction of vesicles is efficient in the therapy for experimental generalized and intestine forms of anthrax infection in mice caused by the spores and vegetative cells of *Bacillus anthracis* 71/12. Doxycycline therapy proved to be inefficient even in the case of 5-fold introduction. Vesicles also showed the high therapeutic activity against experimental anthrax caused by a pathogen resistant to widely used antibiotics (*B. anthracis* STI-Tc) at a single introduction in 3 h after the infection. LA_{50} was $1 \cdot 10^8$ spores. Doxycycline was inefficient: LA_{50} values were practically the same for untreated animals ($5 \cdot 10^6$) and for animals treated with doxycycline ($1.3 \cdot 10^6$).

The results demonstrate the outlooks of development of medicinal agents on the basis of artificial vesicular structures.

БИОДЕГРАДИРУЕМЫЕ ГИДРОГЕЛИ НА ОСНОВЕ МОДИФИЦИРОВАННОЙ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ: СИНТЕЗ, СВОЙСТВА, ПРИМЕНЕНИЕ В МЕДИЦИНЕ

Зараева Г.А.¹, Понаморева О.Н.¹, Федорищев И.А.²

¹Тульский государственный университет, 300600, г. Тула, пр. Ленина, д. 92

²ООО НПП «Тульская индустрия ЛТД», 300012, г. Тула, проезд Тимирязева, д. 6

Гиалуроновая кислота (ГК) - один из основных компонентов межклеточного вещества дермы. Для успешного применения ГК в медицинских и косметических целях весьма существенным является модификации ее макроструктуры. Химически модифицированная ГК в организме подвергается деградации с меньшей скоростью, а сшитые молекулы ГК образуют плотные гидрогели, поддерживающие заданный объем и форму. В то же время они сохраняют биосовместимость природной гиалуроновой кислоты. Такие биополимеры могут быть использованы в пластической хирургии для мягкого увеличения тканей, в хирургии в качестве среды для проведения офтальмологических операций и противоспаечных покрытий, могут служить заменителем синовиальной жидкости суставов, средой для сохранения и транспортировки клеток. В работе исследованы три способа химической модификации гиалуроновой кислоты с целью получения поперечно-сшитого полимера,

способного образовывать плотные гидрогели: химическая модификация дигидразидом с последующей перекрестной сшивкой; перекрестное сшивание дивинилсульфоном; этерификация. Исходная ГК, использованная для модификации, выделена и очищена на базе ООО НПП «Тульская индустрия ЛТД» из гребней кур. В ходе исследования подобраны условия проведения реакции, позволяющие получить гидрогели с заданными потребительскими свойствами. Образцы перекрестно-сшитой гиалуроновой кислоты охарактеризованы с использованием ИК- и ЯМР- спектроскопии. Получены значения динамической вязкости и коэффициентов набухания в воде и изотоническом буферном растворе. Исследованы закономерности деградации полученных образцов модифицированной ГК под действием тестикулярной гиалуронидазы. На основании проведенных исследований выбраны два образца модифицированной ГК, проявляющих необходимые реологические свойства для создания инъекционных препаратов на базе ООО НПП «Тульская индустрия ЛТД».

BIODEGRADABLE HYDROGELS BASED ON MODIFIED HYALURONIC ACID: SYNTHESIS, PROPERTIES AND APPLICATION IN MEDICINE

Zaraeva G.A.¹, Ponamoreva O.N.¹, Fedorischev I.A.²

¹Tula State University, 92 Lenin Ave., Tula, 300600

²SPC «Tulskaya indusria LTD», 6 Timiryazeva pass., Tula, 300012

Hyaluronic acid (HA) is a major component of the extracellular matrix, largely determines the structure, properties and functioning of the skin. For successful application of HA in the medical and cosmetic purposes it is necessary to research the different ways of the modification its macrostructure, in particular, organization of cross-linked macromolecules. Such macromolecular network could be swollen in water to several times its original volume and could be expected to have superior rheological and viscoelastic properties compared to solutions of native HA. In addition, these derivatives would be expected to show increased resistance to degradation *in vivo* by hyaluronidases. At the same time, they retain the biocompatibility of natural hyaluronic acid. Such biopolymers can be used in plastic surgery as dermal fillers, in ophthalmic procedures for the replacement of the natural vitreous. Its can serve as a replacement for synovial fluid of joints, as well as the matrix for the preservation and transportation of a cells. Films made on their basis, can be used in surgery as a wound-healing and anti-adhesion coatings. Practical application of the cross-cross-linked hydrogels of HA are preceded by research to obtain a biomaterials with a given specifications. In this study we investigated three methods of chemical modification of hyaluronic acid in order to obtain cross-linked polymer that can form dense hydrogels: chemical modification of hyaluronic acid with dihydrazide followed by cross-linking, cross-linking with divinylsulfone, inner etherification. Necessary conditions for the reaction to obtain hydrogels with a given consumer properties were found. The samples of cross-linked hyaluronic acid were characterized by IR and NMR spectroscopy. Values of dynamic viscosity and the swelling ratio in water and isotonic buffer solution obtained. The resistance to degradation of the HA hydrogel samples with testicular hyaluronidase compared with native HA were investigated. Based on the study were selected two samples of the modified HA having appropriate rheological properties for the production of injections at the base of «Tulskaya Industry Ltd».

ПУБЛИКАЦИИ PUBLICATIONS

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА МАЛООБЪЕМНОЙ ГЕМОПЕРФУЗИИ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ПЕРСИСТИРУЮЩЕЙ ПОДМЫШЕЧНОЙ ЛИМФАДЕНОПАТИИ

***Арсениев Н.А.,**Буркова Н.В.,*Рутенбург Д.Г.,*Коннычев А.В.,**

*****Кузнецов С.И., ****Глухов Н.В.**

**ГОУ ДПО «СПб МАПО Росздрава», 191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, 41*

***ГОУ ВПО «СПб ХФА Росздрава» 197376, СПб, ул. Профессора Попова, 14*

**** ФГУ «Федеральный Центр сердца, крови и эндокринологии имени В.А. Алмазова
Федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи»,
197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2.*

***** СПб ГУЗ «Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями»,
190103, Санкт-Петербург, наб. Обводного канала, д.179*

Применяли малообъемную (50 мл) гемоперфузию (МОГ), на углеродном сорбционном материале медицинского назначения, в схеме традиционной терапии при лечении персистирующей подмышечной лимфаденопатии. Основная группа -50 больных, контрольная -20 волонтеров. Определяли субпопуляционный состав лимфоцитов (CD_3 , CD_4 , CD_8 , CD_{16} , CD_{20} , CD_{95}), сывороточные иммуноглобулины G, A и M. Использовали НСТ-тест для оценки бактерицидности нейтрофилов. Состояние макрофагов - по спектрофото-метрической активности маркерного эктоплазматического фермента 5'-нуклеотидазы. Анализ проводили до начала лечения, на 3–6 и 7–16 сутки после МОГ. В результате на 3–6 сутки после МОГ выявлено увеличение концентрации лейкоцитов, лимфоцитов, CD_3 , CD_4 , CD_8 , CD_{20} , иммуноглобулин A с $163,3 \pm 12,7$ Е/мл до $169,3 \pm 16,2$ Е/мл, НСТ спонтанный с $97,9 \pm 11,5$ до $117,6 \pm 11,8$; НСТ индуцированный с $118 \pm 13,3$ до $186,6 \pm 9,6$ ($p < 0,05$); активность 5'-нуклеотидазы упала с $4,8 \pm 0,1$ до $4,6 \pm 0,1$, что свидетельствовало о повышении функциональной активности макрофагов. На 7–16 сутки после МОГ выявлены признаки регрессии иммуно-воспалительной реакции на герпесвирусы, при стабильно высоких показателях активности апоптоза ($157,7 \pm 14,5$), фагоцитоза (5'-нуклеотидаза – $3,9 \pm 0,2$) и концентрации CD_{16} ($462 \pm 11,4 \times 10^9$ /л). Установлено, что при МОГ, возможно добиться активизации ряда звеньев иммунной противовирусной защиты с преимущественным воздействием на клеточные и эффекторные механизмы, что в итоге повышает эффективность лечения.

INTERACTION OF SORPTION MATERIALS WITH HUMAN BIOLOGICAL FLUIDS: USEFUL EFFECTS

Arseniev N.A., **Burkova N.V.,* Rutenburg D.G., * Konychev A.V., ***Kuznetsov S.I., *Gloukhov N.V.**

**State Educational Institution for Additional Professional Education Saint-Petersburg Medical Academy of Post-Graduate Education, Federal Agency of Public Health and Social Development. 41, ul.Kirochnaya, Saint-Petersburg, 191015*

*** State Educational Institution for Higher Professional Education Saint-Petersburg Chemical and Pharmaceutical Academy, Federal Agency of Public Health and Social Development. 197376, Saint-Petersburg, ul.Professora Popova, 14*

**** Federal Institution "V.A.Almazov Federal Center of Heart, Blood and Endocrine Diseases", Federal Agency of High-Technology Medicine, Russia.*

197341, Saint-Petersburg, ul. Akkuratova, 2

*****HIV/AIDS and Infectious Diseases Control Center.*

190103, Saint-Petersburg, Obvodniy canal, 179

Low-capacity (50 ml) hemoperfusion (LCH) using medical carbonic sorption material was applied for traditional therapy of persisting axillary lymphadenopathy. Study group included 50 patients. Control group included 20 volunteers. Subpopulation lymphocytes profile (CD_3 , CD_4 , CD_8 , CD_{16} , CD_{20} , CD_{95}) and plasma immunoglobulins G, A and M were measured. NBT-test was used for assessing the bactericide properties of neutrophils. Macrophages were assessed by spectrophotometric activity of marker-like ectoplasmic enzyme 5'-nucleotidase. All tests were carried out before treatment, on the 3–6th and 7–16th days after LCH. On the 3–6th days after LCH: the increase of concentrations of leucocytes, lymphocytes, CD_3 , CD_4 , CD_8 , CD_{20} were discovered; immunoglobulin A changed from 163.3 ± 12.7 U/ml to 169.3 ± 16.2 U/ml; spontaneous NBT-test changed from 97.9 ± 11.5 to 117.6 ± 11.8 ; induced NBT-test changed from 118.0 ± 13.3 to 186.6 ± 9.6 ($p < 0.05$). On the 7–16th days after LCH the signs of regression of immuno-inflammatory reaction to herpes viruses were detected, with stable high parameters of apoptosis activity (157.7 ± 14.5), phagocytosis activity (5'-nucleotidase – 3.9 ± 0.2) and CD_{16} concentration ($462.0 \pm 11.4 \times 10^9/l$). Thus, using the relatively small volume of sorption material in LCH, it is possible to activate many branches of immune anti-viral protection system with predominant effect on cellular and effector mechanisms, finally resulting in more effective treatment.

КОРРЕКЦИЯ ПОСЛЕДСТВИЙ ТЯЖЁЛЫХ ФОРМ ДЦП, СОПРЯЖЁННОГО С ВРОЖДЁННЫМИ ПОРОКАМИ РАЗВИТИЯ КОНЕЧНОГО ГОЛОВНОГО МОЗГА

Быковская Е.Ю.

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН

Обычные стандартные методы оздоровительной физической культуры с успехом применяются для коррекции последствий обычных форм детского церебрального паралича (ДЦП), но они малоэффективны для коррекции последствий тяжёлых форм ДЦП, сопряжённого с врождёнными пороками развития конечного головного мозга. В настоящей работе показано, что для решения последней задачи можно использовать разработанную нами ранее онтогенетическую систему развития двигательной активности ДЦП-пациентов. Для проведения исследования было предварительно отобрано 130 детей возрастом до 5-ти лет, с диагнозом «детский церебральный

паралич» (у большинства детей был выраженный тетрапарез). Среди них с помощью магнитно-резонансной томографии было выявлено 30 детей с врождёнными пороками развития конечного мозга (атрофия моста мозга, гипоплазия мозжечка и червя мозжечка, агенезия мозолистого тела, частичное отсутствие извилин и борозд, утолщения основных извилин мозга, и др.). Диагностирование пороков конечного мозга было проведено сотрудниками Отделения лучевой диагностики Российской детской клинической больницы (г. Москва). Из 30-ти выбранных детей было сформировано «вслепую» две группы: экспериментальная группа № 1 (n=20) и контрольная группа № 2 (n=10). В экспериментальной группе № 1 в качестве оздоровительных процедур проводили онтогенетическую гимнастику и фиксационный массаж [Быковская, 2007] а в контрольной группе № 2 – известную стандартную физкультурную гимнастику и обычный детский массаж [Козлова и др., 2003]. Занятия оздоровительной гимнастикой проводили по 45 минут ежедневно (кроме воскресенья) в течение 2.5 лет. Степень проявления детского церебрального паралича на способности ребёнка к самостоятельному передвижению оценивали по пятибалльной шкале НИИ травматологии и ортопедии им. Г.И.Турнера. Чем выше оценка в баллах, тем хуже способность ребёнка к самостоятельному передвижению. Оценку проводили дважды: до проведения курса оздоровительных занятий и после. Результаты оценок представлены в таблице. По данным таблицы разработанная нами онтогенетическая система развития двигательной активности (онтогенетическая гимнастика и фиксационный массаж) значительно превосходят стандартную методику оздоровительной физкультуры по эффективности коррекции тяжёлых форм детского церебрального паралича, сопряжённого с врождёнными пороками развития конечного головного мозга.

Таблица

Влияние оздоровительной гимнастики и массажа на способность ДЦП-детей к самостоятельному передвижению в экспериментальной группе № 1 и в контрольной группе № 2

Уровень неспособности детей к ходьбе, в баллах шкалы	Число детей на каждом уровне, действительное и относительное (%)			
	В группе № 1		В группе № 2	
	Начальное обследование	Конечное обследование	Начальное обследование	Конечное обследование
5	16 (80%)	0 (0%)	5 (50%)	4 (40%)
4	2 (10%)	2 (10%)	4 (40%)	5 (50%)
3	2 (10%)	6 (30%)	1 (10%)	1 (10%)
2	0 (0%)	4 (20%)	0 (0%)	0 (0%)
1	0 (0%)	8 (40%)	0 (0%)	0 (0%)
Итого:	20 (100%)	20 (100%)	10 (100%)	10 (100%)

CONSEQUENCES CORRECTION OF THE HEAVY FORMS OF CCP, ASSOCIATED WITH CONGENITAL ANOMALIES OF DEVELOPMENT OF THE FINITE BRAIN

Bykovskaja E.Yu.

I.M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry RAS, St.-Petersburg

Usual standard methods of the adaptive physical training with success are using to consequences correction of usual forms of a children's cerebral paralysis (CCP), but they are ineffective for consequences correction of the heavy forms of CCP, associated with congenital anomalies of development of the finite brain. For the decision of last problem it is possible to use developed by us earlier ontogenetic system of development of the motor activity of CCP-patients. For research 130 children by age till 5th years were preliminary selected, with the diagnosis «a children's cerebral paralysis» (at the majority of children was expressed tetraparesis). Among them by means of a magnetic-resonant tomography 30 children with congenital developmental anomalies of a finite brain (an atrophy of the bridge of a brain, hypoplasia of a cerebellum and a worm of a cerebellum, agenesis (absence) of a calloused body, partial absence of crinkles and furrows, thickenings of the basic crinkles of a brain, etc.) have been detected. Diagnosing of defects of a finite brain been did by collaborators of Division of radial diagnostics of the Russian children's clinical hospital (Moscow). From 30 chosen children two groups: experimental group № 1 (n=20) and control group № 2 (n=10) have been formed "blindly". In experimental group № 1 ontogenetic gymnastics and massage with fixing [Bykovsky, 2007] were used as adaptive procedures, and in control group № 2 - known standard sports gymnastics and usual children's massage [Козлова, etc., 2003]. Employment by adaptive gymnastics was for 45 minutes daily (except Sunday) within 2.5 years. Degree of manifestation of a children's cerebral paralysis on ability of the child to independent movement estimated on a five-point scale, proposed in Scientific research institute of traumatology and orthopedy of G.I.Turnera. Than the above an estimation in points, so more the worse ability of the child to independent movement. An estimation was did twice: before a course of adaptive procedures and after. Results of estimations are presented in the table. According to the table, ontogenetic system of development of motor activity (adaptive ontogenetic gymnastics and massage with fixing) considerably surpass a standard technique of adaptive physical culture in efficiency of correction of heavy forms of the children's cerebral paralysis, associated with congenital anomalies of development of the finite brain.

The table

Influence of adaptive gymnastics and massage on ability of CCP-children to independent movement, in experimental group № 1 and in control group № 2

Level of inability of children to walking, in scale points	Number of children at each level, real and percentage (%)			
	In group № 1		In group № 2	
	Initial inspection	Final inspection	Initial inspection	Final inspection
5	16 (80%)	0 (0%)	5 (50%)	4 (40%)
4	2 (10%)	2 (10%)	4 (40%)	5 (50%)
3	2 (10%)	6 (30%)	1 (10%)	1 (10%)
2	0 (0%)	4 (20%)	0 (0%)	0 (0%)
1	0 (0%)	8 (40%)	0 (0%)	0 (0%)
Total:	20 (100%)	20 (100%)	10 (100%)	10 (100%)

КОРРЕКЦИЯ ПОСЛЕДСТВИЙ ТЯЖЁЛЫХ ФОРМ ДЦП, С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ОНТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ГИМНАСТИКИ И ФИКСАЦИОННОГО МАССАЖА

Быковская Е.Ю., Жуковский Ю.Г.

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН

В настоящей работе мы сравнительно оценивали возможности улучшения двигательных способностей детей с особо тяжёлым диагнозом детского церебрального паралича (ДЦП), сопровождаемого врождёнными пороками развития конечного головного мозга (малое число извилин и др.). Обследовали две группы ДЦП-детей в возрасте до 5-ти лет, по 6 человек в каждой группе: экспериментальную группу № 1, в которой проводили курс новой адаптивной онтогенетической гимнастики и фиксационного массажа [Быковская, 2007], и контрольную группу № 2, в которой проводили курс обычной стандартной адаптивной физической культуры и стандартного детского массажа [Козлова и др., 2003]. В каждой группе обследование ДЦП-детей проводили дважды: первый раз - до проведения курса оздоровительных мероприятий, и второй раз – после проведения курса, т.е. через 2 года и 3 месяца. Результаты анкетирования (ответы на 31 вопрос о двигательных способностях ребёнка) обрабатывали по компьютерной программе «Лонгитюд», чтобы вычислить величину определяемого параметра **P** (показатель общей моторной активности **PGM**). Для каждого ребёнка сравнивали величины параметра, измеренные при начальном и конечном обследовании (P_s и P_f , соответственно), и вычисляли разность $\Delta P = P_f - P_s$, характеризующую эффективность проведенного курса оздоровительных процедур. Затем в каждой группе все 6 вычисленных величин ΔP обрабатывали статистически общеизвестным способом [Кассандрова и Лебедев, 1970] для определения средней величины ΔP и её стандартного отклонения.

Группа детей	Параметр PGM	Величина параметра развития						Среднее	Оздоровительный эффект
		1	2	3	4	5	6		
№ 1	P_s	-0.75	-0.62	-0.84	-0.65	-0.93	-0.66	-0.74	Высокий
	P_f	-0.55	-0.18	-0.50	-0.17	-0.41	-0.43	-0.37	
	$\Delta P = P_f - P_s$	+0.2	+0.44	+0.34	+0.48	+0.52	+0.23	+0.37±0.13	
№ 2	P_s	-0.67	-0.71	-0.80	-0.76	-0.70	-0.97	-0.77	Низкий
	P_f	-0.80	-0.90	-0.73	-0.78	-0.61	-0.93	-0.79	
	$\Delta P = P_f - P_s$	-0.13	-0.19	+0.07	-0.02	+0.09	+0.04	-0.02±0.11	

Результаты показали, что адаптивная онтогенетическая гимнастика с фиксационным массажем могут быть с успехом использованы для коррекции последствий тяжёлых форм детского церебрального паралича. Новые методы значительно превосходят известную стандартную физкультурную гимнастику с обычным детским массажем: $\Delta P = +0.37 \pm 0.13$ против $\Delta P = -0.02 \pm 0.11$, соответственно. Различие средних величин ΔP статистически достоверно,

CONSEQUENCES CORRECTION OF THE HEAVY FORMS OF CCP, WITH USE OF ONTOGENETIC GYMNASTICS AND OF MASSAGE WITH FIXING

Bykovskaja E.Yu., Zhukovskii Yu.G.

Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of RAS

In the present work we in the first time estimated possibilities of improvement of motor abilities of children with especially heavy diagnosis of a children's cerebral paralysis (CCP), of associated with congenital anomalies of development of the finite brain. (an atrophy of the bridge of a brain, hypoplasia of a cerebellum and a worm of a cerebellum, absence of a calloused body, partial absence of crinkles and furrows, etc.). Two groups of CCP-children aged till 5th years, on 6 persons in each group, were formed: experimental group № 1, in which **ontogenetic** gymnastics and massage **with fixing** [Bykovsky, 2007] were used, and control group № 2, in which the known standard sports gymnastics and usual children's massage [Козлова, etc., 2003] was used. In each group, the inspection of CCP-children was did twice: first time - before execution of a course of adaptive actions, and second time - after course, i.e. in 2 years and 3 months. Results of questioning (the answers to 31 question about motive abilities of the child) were processed under the computer program "Лонгитюд" to calculate size of the determinable parametre **P** (an indicator of general motor activity **PGM**). For each child the sizes of parameter, measured at initial and final inspection (P_s and P_f accordingly), were compared. After that, a difference $\Delta P = P_f - P_s$, the characterising efficiency of the maked course of the adaptive procedures, calculated. In each group all sizes ΔP were calculated and were processed in statistically well-known way [Кассандрова and Lebedev, 1970] for definition of average size ΔP and its standard deviation.

Group number	Parameter PGM	Size of a parameter						An average	Adaptive effect
		1	2	3	4	5	6		
№ 1	P_s	-0.75	-0.62	-0.84	-0.65	-0.93	-0.66	-0.74	high
	P_f	-0.55	-0.18	-0.50	-0.17	-0.41	-0.43	-0.37	
	$\Delta P = P_f - P_s$	+0.2	+0.44	+0.34	+0.48	+0.52	+0.23	+0.37±0.13	
№ 2	P_s	-0.67	-0.71	-0.80	-0.76	-0.70	-0.97	-0.77	low
	P_f	-0.80	-0.90	-0.73	-0.78	-0.61	-0.93	-0.79	
	$\Delta P = P_f - P_s$	-0.13	-0.19	+0.07	-0.02	+0.09	+0.04	-0.02±0.11	

Results have shown, that adaptive ontogenetic gymnastics and massage with fixing can be used with success for correction of consequences of heavy forms of a children's cerebral paralysis. New methods considerably surpass known standard sports gymnastics with usual children's massage: $\Delta P = +0.37 \pm 0.13$ against $\Delta P = -0.02 \pm 0.11$, accordingly. Distinction of average sizes ΔP is statistically authentic.

ВЛИЯНИЕ ЦЕОЛИТСОДЕРЖАЩИХ ПРЕПАРАТОВ, ОБОГАЩЕННЫХ СЕЛЕНОМ, НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПРИ ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТАХ

Хышиктүев Б.С., Кузнецова Н.С., Резник Ю.Н., Иванов С.А.

ГОУ ВПО «Читинский государственный университет»,
672039, Россия, Чита, ул. Александро-Заводская, 30

Одним из способов патогенетической терапии вирусных гепатитов являются сорбционные методы детоксикации, в том числе и энтеросорбция. Учитывая два значимых патогенетических фактора данных заболеваний (интоксикация и перекисный дисбаланс), нами решено было использовать в комплексной терапии вирусного гепатита А (ВГА) комбинированный препарат на

основе шивиртуинского цеолита, обогащенный селеном – «Цесейдин».

Обследовано 66 пациентов с ВГА, которые были разбиты на 4 группы: 1-ая – получала базисную терапию, 2-ая – принимала препарат на цеолитной основе без селена «Бицеол», 3-я – «Цесейдин» и больным 4-ой проводилась сочетанная энтеросорбция «Полифепана» (4 дня) и «Цесейдина» (4 дня). Срок применения энтеросорбентов составлял в среднем 7 дней. Изучены показатели системы «перекисное окисление липидов (ПОЛ) – антиоксиданты», а также активность аминотрансфераз (АлАТ и АсАТ), содержание общего билирубина и его фракций, селена (кровь и моча), тимоловая и сулемовая пробы.

Выявлено, что стандартная базисная терапия способствует нормализации биохимических параметров, характеризующих функцию печени. Параллельно с этим у данных пациентов регистрируется высокая интенсивность промежуточных и конечных стадий ПОЛ, что наряду с сохраняющимся дефицитом селена и низким уровнем восстановленного глутатиона, является неблагоприятным прогностическим признаком.

Показано, что наиболее оптимальным вариантом энтеросорбции, эффективно влияющим на нормализацию селено-глутатионового статуса, является комплексное применение «Цесейдина» и «Полифепана», что приводит к снижению содержания начальных и промежуточных продуктов липопероксидации, повышению антиоксидантного потенциала организма. Эти изменения способствуют более быстрой регрессии клинико-биохимических симптомов ВГА и сокращению сроков лечения.

THE INFLUENCE OF ZEOLITCONTAINING DRUGS ENRICHED BY SELENIUM ON BIOCHEMICAL INDEXES IN VIRUS HEPATITIS'S

Khyshiktuev B.S., Kuznetsova N.S., Reznik J.N., Ivanov S.A.

Chita State University, 672039, Russia, Chita, street Aleksandro-zavodskaya, 30

One of means of pathogenetic therapy of virus hepatitis are sorption methods of detoxification, including enterosorption. Considering two significant pathogenetic factors of the given diseases (an intoxication and a peroxide disbalance), we decided to use in complex therapy of a virus hepatitis A (VHA) the combined drug on a basis Shivyrtuins zeolite, enriched by selenium - «Tsesejdyn».

66 patients with VHA have been divided into 4 groups: 1st - received basic therapy, 2nd - took over a drug on zeolites to a basis without selenium «Bitseol», 3rd - «Tsesejdyn» and the patients of 4th group were undergone combination enterosorption «Polyphhepanum» (4 days) and «Tsesejdyn» (4 days). The period of enterosorbents application averaged 7 days. System indexes «peroxide oxidation of lipids (POL) - antioxidants», and also activity of aminotransferases (the ALT and the AST), the maintenance of the general bilirubin and its fractions, selenium (blood and urine), thymolum and mercury dichloride's assays were studied.

It was revealed, that standard basic therapy promotes normalization of biochemical parameters characterizing function of a liver. Collaterally with high intensity of mediate and POL final stages the is registered, in given together with conserved deficiency of selenium and low level recovered glutathione, is an unfavorable prognostic sign.

It is shown, that the most optimal variant enterosorption, effectively influencing on normalization of selen-glutationes status, complex application «Tsesejdyn» and «Polyphhepanum» result in decreasing of the maintenance initial and intermediate products lipids peroxidation, to rising of antioxidatic potential of an organism. These changes promote faster regression of VHA clinical-biochemical symptoms and reduction of periods of treatment.

ПОЛУЧЕНИЕ ТЕРМОСТАБИЛЬНОЙ ДНК-ПОЛИМЕРАЗЫ, ПРИГОДНОЙ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ПЦР-АНАЛИЗА ДНК В ОБРАЗЦАХ ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ

Коровашкина А.С., Квач С.В., Ерошевская Л.А. Зинченко А.И.

Институт микробиологии НАН Беларуси, 220141, Минск, ул. Купревича, 2

Амплификация ДНК с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) является простым, эффективным и экономичным методом, однако требующим предварительной очистки ДНК. Наиболее распространенным биологическим материалом, используемым при выявлении микробных и вирусных инфекций, типирования крови и криминалистической идентификации личности, служит кровь. Широко используемые ДНК-полимеразы, такие как *Taq*-ДНК-полимераза и ее аналоги ингибируются в присутствии 0,2 % цельной человеческой крови. Создание ДНК-полимеразы, устойчивой к высоким концентрациям крови может расширить область применения ПЦР в лабораторной и клинической практике.

С помощью методов генной инженерии был получен химерный белок на основе KlenTaq-ДНК-полимеразы (вариант полноразмерной полимеразы с отсутствующими 279 N-концевыми аминокислотами), содержащий на N-конце дополнительный неспецифический ДНК-связывающий домен *Sulfolobus solfataricus* (Sso7d). В подобранных ранее условиях произведена наработка, выделение и очистка данного фермента. В результате получено 78 000 единиц активности Sso7d-KlenTaq-ДНК-полимеразы. Для данного фермента подобраны оптимальные условия проведения ПЦР (50 mM Трис-НСl pH 8,8, 90 mM KCl, 3 mM MgCl₂), что позволило в 3 раза повысить удельную активность химерного белка. Показана устойчивость Sso7d-KlenTaq-ДНК-полимеразы к высоким концентрациям цельной крови (до 20%) и возможность ее применения в качестве одного из компонентов аналитических тест-систем при проведении клинко-лабораторных анализов.

PRODUCTION OF THERMOSTABLE DNA POLYMERASE SUITABLE FOR WHOLE-BLOOD POLYMERASE CHAIN REACTION

Korovashkina A.S., Kvach S.V., Eroshvskaya L.A., Zinchenko A.I.

¹*Institute of Microbiology, National Academy of Sciences of Belarus, 220141, Minsk, Kuprevich Str., 2*

Polymerase chain reaction (PCR) is a simple, efficient, and economical method for amplifying a small amount of DNA template but purified DNA is required. Blood as a typical biological sample is widely used in PCR-based studies, in diagnosis of microbial infections and genetic diseases, as well as in forensic analyses and blood banking. Widely used DNA polymerases, such as *Taq* DNA polymerase and its analogs can be completely inactivated with 0.2 % of whole human blood. Since DNA extraction is costly and time consuming, creation of DNA polymerase resistant to high concentrations of whole-blood would be very beneficial.

Using methods of genetic engineering the chimeric protein with additional N-terminal sequence-non-specific DNA binding domain of *Sulfolobus solfataricus* (Sso7d) was obtained on the basis of KlenTaq DNA polymerase (279 amino acids N-terminal deletion variant of full length *Taq* DNA polymerase). Fermentation, isolation and purification of the target enzyme was performed in selected conditions. 78 000 units of the required protein were derived. The optimal conditions of PCR for Sso7d-KlenTaq DNA polymerase (50 mM Tris-HCl pH 8,8, 90 mM KCl, 3 mM MgCl₂) were established. 3-fold rise in specific activity of chimeric protein was achieved. It was found that Sso7d-KlenTaq DNA polymerase retained

stability at high blood concentrations (up to 20 %) and it can be used as a component of analytical kits in clinical investigations.

АУТОАНТИТЕЛА К НЕЙРОНАЛЬНЫМ БЕЛКАМ S100, GFAP, MBP И NGF В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС С ДИАБЕТОМ, ИНДУЦИРОВАННЫМ СТРЕПТОЗОТОЦИНОМ

Лотош Н.Ю.¹, Савельева Е.С.², Селищева А.А.^{1,3}, Савельев С.В.²

1. АНО «Институт биомедицинских проблем»

2. НИИ Морфологии человека РАМН

3. МГУ имени М.В. Ломоносова

almostvelvet@rambler.ru

Сахарный диабет первого типа (СД1) – это аутоиммунное заболевание, при котором вследствие атаки Т-лимфоцитов гибнут β -клетки в островках Лангерганса, в результате чего в организме возникает недостаток инсулина. В настоящее время причина, по которой возникает аутоиммунная атака, неизвестна.

В последнее время высказывается предположение о нейрональных механизмах возникновения и развития СД1 вследствие нарушения структурной организации и функционирования нервных окончаний поджелудочной железы. Согласно «нейрональной теории», аутоиммунная атака может быть также направлена на клетки периферической нервной системы. Таким образом, нейрональные нарушения могут возникать на самых ранних стадиях развития СД1 или до его манифестации.

Целью настоящей работы было выявление нейрогенных изменений на раннем этапе развития СД1.

В задачу работы входило исследование методом ИФА уровня аутоантител (аАТ) к нейрональным белкам S100, GFAP (glial fibrillary acidic protein), MBP (major basic protein), NGF (nerve growth factor) и к инсулину на модели диабета у крыс, вызванного введением стрептозотоцина (СТЗ).

В работе использовали 20 самцов крыс линии Wistar, весом 300-380г. Животным в опытной группе (10 крыс) вводили СТЗ (80 мг/кг веса), а в контрольной – физиологический раствор. Уровень глюкозы, аАТ к инсулину и нейрональным белкам определяли в сыворотке крови крыс на 5, 10, 17, 25 и 32 дни после введения СТЗ. В опытной группе гипергликемия отмечалась на следующий день после введения СТЗ и оставалась на уровне 25-30 ммоль/л на протяжении всего эксперимента. В контрольной группе уровень глюкозы был в норме (5-7 ммоль/л). Уровень аАТ к инсулину и к нейрональным белкам рассчитывали для каждого животного как отношение оптической плотности (ОП) образца к ОП начальной пробы, взятой до введения СТЗ.

Результаты. Установили, что на 5-ый день после введения СТЗ уровень аАТ к инсулину в опытной группе достоверно возрастал по сравнению с контрольной группой ($p=0,015$), что свидетельствует о распаде β -клеток. К 20-му дню эксперимента уровень аАТ к инсулину в опытной группе имел тенденцию к снижению.

Уровень аАТ к белкам GFAP и NGF в опытной группе достоверно превышал таковой в контрольной группе на 5-ый день после индуцирования диабета ($p=0,0041$ и $p=0,017$ соответственно). В последующие дни достоверных отличий по сравнению с контрольной группой не обнаружено. Уровень аАТ к белкам S100 и MBP не изменялся по сравнению с контрольной группой.

Выводы. Повышение уровня аАТ к нейрональным белкам в крови крыс уже на 5-ый день развития диабета говорит об участии нейрональных механизмов на самых ранних сроках развития СД1.

AUTOANTIBODIES TO NEURONAL PROTEINS S100, GFAP, MBP AND NGF IN THE SERUM OF RATS WITH DIABETES INDUCED BY STREPTOZOTOCIN

N.Y. Lotosh¹, E.S. Savel'eva², A.A. Selishcheva³, S.V. Savel'ev²

1-ANO «Institute of biomedical problems»

2-Research Institute of Human Morphology of the Russian Academy of Medical Sciences

3-Lomonosov Moscow State University

almostvelvet@rambler.ru

Type 1 diabetes mellitus (T1DM) results from a T cell-mediated autoimmune destruction of the insulin-producing pancreatic β -cells, which leads to a lack of insulin in the body. At present, the reason why there is an autoimmune attack is unknown.

In recent years, suggests hypothesis about of neuronal mechanisms of the origin and development of T1DM due to abnormalities of the structure and function of the pancreas nerve endings. According to “neurogenic theory”, an autoimmune attack may also be aimed at the cells of the peripheral nervous system. Thus, neuronal disorders can occur at the earliest stages of T1DM development or until its manifestation.

The aim of this study was to investigate the neurologic alterations at the earliest stage of T1DM development.

Using the ELISA, we researched the levels of autoantibodies (aAB) to neuronal proteins S100, GFAP (glial fibrillary acidic protein), MBP (major basic protein), NGF (neural growth factor) and insulin in the rats' model of diabetes, induced by streptozotocin (STZ).

Adult male Wistar rats (20 animals, weighing 300-380g) were used for experiment. In animals of experimental group (10 rats) diabetes was initiated by injection of streptozotocin (STZ, 80 mg/kg body weight). Control animals received equivalent volume doses of the normal saline. A whole-blood glucose level and aAB to insulin and neuronal proteins was determined in the serum of rats at 5, 10, 17, 25 and 32 days after administration of STZ. In the experimental group, hyperglycemia was observed on the day after STZ injection. A whole-blood glucose level 25-30 mmol/l remaining throughout the experiment was our criterion for experimental diabetes. In the control group, whole-blood glucose level remained normal (5-7 mmol/l). The level of aAB to insulin and neuronal proteins was calculated for each animal as the ratio of optical density (OD) of the sample to the OD of the initial sample taken before the introduction of STZ.

Results. We found that the level of aAB to insulin in the experimental group significantly increased compared with the control group on the fifth day after administration of STZ ($p = 0,015$), which is evidence of β -cells destruction. By the 20th day of the experiment the level of aAB to insulin decreased in the experimental group.

The level of aAB to proteins GFAP and NGF in the experimental group was significantly higher compared with the control group on the 5th day after induction of diabetes ($p = 0.0041$ and $p = 0,017$ respectively). In the days following significant differences from the control group were not found. The level of aAB to proteins S100 and MBP did not change compared with the control group.

Conclusions. The increase levels of aAB to neuronal proteins in the serum of diabetic rats already on the 5th day of development of diabetes refers to the participation of neural mechanisms at the early stages of development of T1DM

ВЫДЕЛЕНИЕ, ОЧИСТКА И НЕКОТОРЫЕ СВОЙСТВА L-ЛИЗИН-А-ОКСИДАЗЫ ИЗ *TRICHODERMA* SP. 6

Макрушин К.В.¹, Аринбасарова А.Ю.¹, Крупянко В.И.¹, Лукашева Е.В.², Меденцев А.Г.¹, Березов Т.Т.²

¹Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им Г.К.Скрябина РАН, 142290 Пущино, пр. науки, д. 5

²Кафедра биохимии, Российский университет дружбы народов, 117198 Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 8

L-лизин- α -оксидаза (ЛО) – перспективный противоопухолевый агент. В настоящее время в онкологической практике применяется один единственный фермент L-аспарагиназа, эффективный при лечении лейкозов. Лекарственный препарат на основе ЛО не заменит L-аспарагиназу, но позволит расширить диапазон противоопухолевых средств.

В качестве источника ЛО в работе использовали новый активный штамм-продуцент – *Trichoderma* sp. 6. Разработана эффективная схема выделения и очистки ЛО с использованием ионообменной и гидрофобной хроматографии. Получен гомогенный препарат с удельной активностью 99 Е/мг белка. С помощью гель-фильтрации и нативного электрофореза определена молекулярная масса фермента, равная 115-116 кДа. По данным SDS-электрофореза ЛО является димером с одинаковыми субъединицами (57-58 кДа). Спектр оптического поглощения ЛО соответствует спектру флавопротеина с максимумами при 278, 390 и 465 (плечо 490) нм. Доказано, что простетической группой фермента является ФАД, причем на каждую субъединицу приходится 1 молекула ФАД.

ЛО – стереоспецифичный фермент, окисляющий практически только L-лизин (рН-оптимум 7.8–8.0). Незначительная активность отмечалась по отношению к L-орнитину и L-аргинину. Установлено, что ЛО стабильна при температурах до 50 °С.

Показано, что ЛО из нового источника проявляет цитотоксическое и антибактериальное действие. В настоящее время проводятся доклинические исследования специфической противоопухолевой активности ЛО в ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН.

ISOLATION, PURIFICATION AND SOME PROPERTIES OF L-LYSINE α -OXIDASE FROM *TRICHODERMA* SP. 6

Makrushin K.V.¹, Arinbasarova A.Yu¹., Krupyanko V.I.¹, Lukasheva E.V.², Medentzev A.G.¹., Berезov T.T.²

1- G.K. Stryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, Russian Academy of Sciences, 142290, Puschino, Pr. Nauki, 5, Russia.

2 - Department of Biochemistry, Russian Peoples' Friendship University, 117198 Moscow, Miklucho-Maklaya Street 8

L-Lysine α -oxidase (LO) presents one of the enzymes which are perspective as anti tumor agents. Currently in the oncological practice only L-asparaginase is used, which is effective exclusively for leukemias treatment. Pharmaceuticals on the basis of LO are not expected to substitute L-asparaginase, but to expand the range of anti tumor drugs.

In the present work *Trichoderma* sp. 6 as new active strain producer of LO was used. Effective technique of LO isolation including ion-exchange and hydrophobic chromatography was developed. Homogeneous enzyme preparation was obtained with specific activity 99 U/mg protein. Molecular weight of enzyme

determined by native electrophoreses and gel filtration was equal to 115-116 kDa. According to SDS electrophoresis data LO is a dimeric molecule with identical subunits of 57-58 kDa. Optical absorption spectrum of LO are analogous to those of flavoproteins with maximums at 278, 390 and 465 nm (shoulder at 490 nm). The prosthetic group of the enzyme proved to be FAD and each subunit possesses one molecule of FAD.

LO is a stereo specific enzyme oxidizing only L-lysine (pH optimum 7.8-8.0), insignificant activity towards L-ornithine and L-arginine was observed. High thermal stability of LO was shown: the enzyme retained its activity up to 50 °C.

LO from a new strain producer exhibited cytotoxic and antibacterial activity. Presently pre-clinical studies of LO anti tumor activity are carried out in Blokhin's Cancer Research Center of RAMS.

ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ ТЕСТЫ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ЧЕТЫРЕХ КЛАССОВ НАРКОТИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ В ВОДНЫХ ОБРАЗЦАХ

Морозова В.С., Мягкова М.А., Морозов С.В., Пушкина В.В., Киселева Р.Ю.

Московский научно-практический центр наркологии Департамента здравоохранения города Москвы, 109390, г. Москва, ул. Люблинская, д. 37/1

В нашей стране за последние годы отмечено значительное увеличение числа людей, употребляющих наркотические препараты в немедицинских целях. Одним из направлений новой государственной антинаркотической политики является проведение своевременной диагностики наркозависимости. В связи с этим актуальна задача разработки отечественных диагностических систем для выявления наркотиков. Наиболее удобным и недорогим скрининговым методом определения наркотических веществ является иммунохроматографический анализ (ИХА). Для создания ИХА четырех классов наркотических веществ: опиатов, амфетамина, каннабиноидов и кокаина разработаны все необходимые иммунореагенты. Синтезированы конъюгированные антигены исследуемых веществ с белком-носителем. Получены конъюгаты моноклональных антител, специфичных к указанным антигенам, с коллоидным золотом. Проведена отработка основных технологических стадий ИХА, включая выбор материалов компонентов тест-полоски, оптимизацию концентраций иммунореагентов и условий выполнения анализа, а также подбор упаковки для длительного хранения тестов. В результате созданы иммунохроматографические тест-системы с пределом обнаружения метаболитов наркотиков для опиатов - 40 нг/мл, для каннабиноидов - 4 нг/мл, для кокаина - 20 нг/мл и для амфетамина - 50 нг/мл. Установлена высокая специфичность разработанных тест-систем. Так, для соединений, не принадлежащих к классу аналита, процент перекрестного реагирования составил менее 0,5 %. Тест-системы могут быть использованы для выявления наркотических соединений в биологических жидкостях (слюна, пот, моча). Разработанные тест-системы имеют широкую область применения при массовых обследованиях населения, освидетельствовании на состояние наркотического опьянения, определении профпригодности в ряде профессий, связанных с риском для безопасности окружающих.

IMMUNOCHROMATOGRAPHIC TESTS FOR THE DETECTION OF FOUR GROUPS OF DRUGS OF ABUSE IN WATER SAMPLES

Morozova V.S., Myagkova M.A., Morozov S.V., Kiseleva R.Yu., Pushkina V.V.

*Moscow Research and Practical Center for Narcology of Moscow Health Department
109390, Russia, Moscow, Lublinskaya 37/1*

In recent years it is observed a significant increase of people using drugs for non medical purposes in our country. One of the directions of State anti-drug politics is timely drug addiction diagnostics. Thus the development of domestic diagnostic systems for drugs of abuse is of great importance. The most convenient and inexpensive method for drugs of abuse screening is lateral flow immunoassay (LFIA). All necessary immunoreagents were synthesized for LFIA of four groups of drugs of abuse: opiates, amphetamines, cannabinioids and cocaine. The conjugated antigens of the analytes with carrier protein and conjugates of specific monoclonal antibodies with colloidal gold were synthesized. The development of LFIA technological stages including selection of materials for test strip, immunoreagents concentrations and assay conditions optimization, selection of packing for extended shelf life was performed. As a result immunochromatographic test systems were built up with the following cuts-off for drugs of abuse metabolites: 40 ng/ml for opiates, 50 ng/ml for amphetamines, 4 ng/ml for cannabinoids and 20 ng/ml for cocaine. High specificities of the developed test systems were established: for non-related to the analytes compounds the cross-reactivity percentages were less than 0.5%.

The developed LFIA tests can be used for drugs of abuse detection in biologic fluids (oral fluid, sweat, urine). The test systems have broad field of application: for mass population checkup, drug intoxication investigations, professional appropriateness assessment in the number of professions related to the population security risks.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЕСТЕСТВЕННЫХ АНТИТЕЛ К ЭНДОГЕННЫМ БИОРЕГУЛЯТОРАМ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

Мягкова М.А., Петроченко С.Н., Гордюшенко В.В., Киселева Р.Ю., Морозова В.С., Пушкина В.В., Постоюк Н.А.

*Институт физиологически активных веществ РАН,
142432, МО, Ногинский р-н, г. Черноголовка, Северный проезд, 1*

Данное исследование связано с изучением роли естественных антител (е-ат) в регуляции биохимических процессов, происходящих в организме человека в норме и при патологии. Установлено, что при развитии целого ряда заболеваний происходят специфические нарушения гуморального иммунитета, связанные с продукцией е-ат к эндогенным биорегуляторам, что проявляется в изменении иммунохимических свойств е-ати и их концентрация в кровотоке. Спортивная деятельность является частным случаем универсального механизма адаптации организма человека к возрастающим физическим нагрузкам. Цель работы заключалась в проведении сравнительного определения уровня е-ат, специфически взаимодействующих с эндогенными биорегуляторами, которые характеризуют адаптационный потенциал организма человека (дофамину-ДА, серотонину-СТ, бета-эндорфину-ЭНД). Исследование выполнено методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА). Сравнительное определение антител к указанным антигенам проводили в группах профессиональных спортсменов-лыжников и здоровых доноров. Каждая группа состояла из 15

человек, имела сходные среднестатистические возрастные показатели и отличалась количеством и длительностью физической нагрузки. При анализе индивидуальных результатов каждого образца сыворотки крови установлено двукратное увеличение уровня антител к СТ в группе спортсменов по сравнению с донорами. У 70% и 94% спортсменов отмечено достоверное повышение уровня антител к ДА и ЭНД соответственно. Показано различие содержания е-ат к опиоидным пептидам и биогенным аминам в группе спортсменов-профессионалов по сравнению с нормой. Полученные результаты могут служить основой для создания новых объективных методов оценки адаптационных возможностей организма при подготовке спортсменов к соревнованиям.

COMPARATIVE DEFINITIONS OF NATURAL ANTIBODIES TO ENDOGENOUS BIOREGULATORS IN WHEY OF BLOOD OF THE PERSON BY METHOD OF IMMUNE-ENZYME ANALYSIS

Myagkova M. A, Petrochenko S.N., Gordjushenko V. V, Kiselyova R. Ju, Morozova V. S, Pushkina V. V, Postojuk N.A.

The Institute for Physiologically Active Compounds of the Russian Academy of Sciences, 142432, Moscow region, Noginskiy district, Chernogolovka city, Northern journey, 1

The given research is connected with studying of a role of natural antibodies (N-Ab) in regulation of the biochemical processes occurring in a human body in norm and at a pathology. It is established that at development of variety of diseases there are the specific infringements of humoral immunity connected with N-Ab production to endogenous bioregulators that is shown in change of immunochemical properties of N-Ab and their concentration in a blood-groove. Sports activity is a special case of the universal mechanism of adaptation of a human body to increasing physical activities. The work purpose consisted in carrying out of comparative definition of level N-Ab, specifically cooperating with endogenous bioregulators which characterize adaptable potential of a human body (Dopamine-DA, serotonin-ST, beta-endorphin-END). Research is executed by immune-enzyme method (ELISA). Comparative definition of antibodies to the specified antigens spent in groups of professional sportsmen-skiers and healthy donors. Each group consisted of 15 persons, had similar average age indicators and differed quantity and duration of physical activity. At the analysis of individual results of each sample of whey of blood the double increase in level of antibodies to CT in group of sportsmen in comparison with donors is established. At 70 % and 94 % of sportsmen authentic increase of level of antibodies to DA and END accordingly. Distinction of the maintenance N-Ab to opiate peptides and biogenic amines in group of sportsmen-professionals in comparison with norm. The received results can form a basis for creation of new objective methods of an estimation of adaptable possibilities of an organism when preparation of sportsmen for competitions.

РАЗРАБОТКА МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЕСТЕСТВЕННЫХ АНТИТЕЛ К ЭНДОГЕННЫМ НЕЙРОМЕДИАТОРАМ ПРИ БОЛЕВОМ СИНДРОМЕ У ПАЦИЕНТОВ, СТРАДАЮЩИХ ДОРСОПАТИЕЙ ПОЯСНИЧНОГО ОТДЕЛА ПОЗВОНОЧНИКА

Мягкова М.А., Петроченко С.Н., Морозова В.С.,
Левашова А.И., Гордюшенко В.В., Мосейкин И.А.

*Институт физиологически активных веществ РАН,
142432, МО, Ногинский р-н, г. Черноголовка, Северный проезд, 1*

Исследования последних лет указывают на тесное взаимодействие механизмов регуляции болевой чувствительности и иммунокомпетентности организма. Ранее нами установлено, что при развитии заболевания могут происходить изменения гуморального иммунитета, связанные с продукцией естественных антител (е-Ат), специфичных к эндогенным нейромедиаторам (НМ), участвующим в патогенезе. Содержание е-Ат отражает новое иммунное состояние организма и коррелирует с течением болезни. Дорсопатия является типичным примером ноцицептивной боли, при которой повышается уровень НМ опиоидной и моноаминовой природы. Изучение ноцицептивных и антиноцицептивных систем у человека в значительной степени ограничено отсутствием надежных информативных методов исследования. Цель работы заключалась в изучении уровней е-Ат к бета-эндорфину, дофамину и серотонину в динамике болевого синдрома методом иммуноферментного анализа (ИФА). Обследовано 44 пациента с дорсопатией поясничного отдела позвоночника, обусловленной корешковым синдромом (средний возраст составил 46 ± 9 лет). Пациенты были разделены на 2 группы по половому признаку. У всех больных проводилась оценка болевого синдрома на 1, 10, 21 день по динамической шкале ВАШ. Обнаружено, что женщины переносят боль хуже не только при использовании анкетных методов исследования, но и при проведении прессиоальгометрии. Получены данные о нелинейной зависимости между изменением уровня антител к исследуемым НМ и болевым порогом. В день поступления у пациентов обнаружено в среднем повышение до 150% от нормы уровня е-Ат к НМ, коррелирующие с уровнем боли ($p < 0,05$). Через 10 дней наблюдали падение в 1,2 раза е-Ат ко всем НМ, а затем к 21-му дню уровень е-Ат возрос на 15%, 23% и 11% к в-эндорфину, серотонину и дофамину, соответственно. Порог боли плавно снизился до 3,8-3,9 баллов. Проводятся дальнейшие исследования роли е-Ат к НМ при болевом синдроме.

DEVELOPMENT OF IMMUNOASSAY FOR AUTO-ANTIBODY DETECTION FOR ENDOGENOUS NEUROTRANSMITTERS IN PATIENTS WITH LOWER BACK PAIN

M.A. Myagkova¹, S.N. Petrochenko¹, V.S. Morozova¹,
A.I. Levashova¹, V.V. Gordushenko¹, I.A. Moseykin²

¹ *Russian Academy of Science Institute for Physiologically Active Compounds, 142432, Moscow region, Noginskii area, Chernogolovka, Severnii proezd, 1;*

² *Botkin hospital, 125101, Moscow, 2nd Botkinskiy proezd, 5*

Recent advances in pain research demonstrate tight relationship between pain regulation mechanisms and immunocompetence of the body. Earlier we have found, that in disorder development changes can occur in humoral immunity mediated by secreted auto-antibodies (auto-Ab), which are specific to endogenous neurotransmitters (NT) involved in the pathogenesis. A new auto-Ab level pattern reflects a new immunity state and correlates with the progress of disorder. Lower back pain (LBP) is an example of chronic pain,

which influence many biochemical variables. In particular, pain NT levels of opioid and monoamine nature were shown to increase. Generally, the role of NT of nociceptive and antinociceptive systems in LBP is not well understood because of lack of reliable and informative methods. The aim of our study was the evaluation of auto-Ab levels to NTs beta-endorphin, dopamine and serotonin in the dynamics of the LBP using enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). 44 patients (M age=46.2 years) with LBP caused radix syndrome were surveyed. Patients were divided into 2 groups according to sex. VAS dynamic scale, pressure pain method and ELISA for auto-Ab against NT were used for the pain syndrome assessment for 1, 10, 21 days. It is revealed, that women endure a pain worse not only at use of questionnaire methods of research, but also at carrying out pressure pain measurement. Data obtained demonstrate non-linear dependence of the auto-Ab levels and the pain intensity. In the reception day it is revealed 150% increase (in average) of auto-Ab levels to the all NT, correlating the pain level. After 10 days the decrease by 1,2 times was found to all NT followed by to 21th day auto-Ab levels rise on 15%, 23% and 11% for beta-endorphin, serotonin and dopamine, respectively. Pain level gradually decreased during the study period. Further investigation concerning the role of auto-Ab to NT is carried out.

ЭНДОГЕННЫЕ АНТИМИКРОБНЫЕ ПЕПТИДЫ КАК МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ФАКТОРЫ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА И ПРОТОТИПЫ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ

Овчинникова Т.В.

Учреждение Российской академии наук Институт биоорганической химии

им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН;

117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10; ovch@ibch.ru

Эндогенные антимикробные пептиды (АМП) – эволюционно древние факторы врожденного иммунитета, играющие ключевую роль в защите как растений, так и животных от инфекции. Поскольку эволюция многоклеточных организмов протекала в непрерывном контакте с патогенной микрофлорой, наличие эффективных защитных механизмов было необходимым условием их выживания. В процессе эволюции лимфоцитарный иммунитет возник лишь с появлением челюстных рыб и, таким образом, существует менее чем у 2% видов многоклеточных организмов. Но даже те животные, которые обладают способностью вырабатывать антитела, в первые минуты и часы взаимодействия с патогеном вынуждены полагаться только на врожденные механизмы антимикробной защиты. У беспозвоночных, лишенных лимфоцитарного иммунитета, роль защитных молекул пептидной природы прослеживается особенно наглядно. АМП как молекулярные факторы системы врожденного иммунитета являются медиаторами фагоцитарных, воспалительных и стрессорных процессов. Поиск и исследование новых природных АМП позволяет лучше понять закономерности функционирования врожденного иммунитета у высших позвоночных и человека.

Стремительный рост резистентных бактериальных инфекций диктует необходимость поиска принципиально новых лекарств. Выявление многообразных биологических функций эндогенных АМП показывает, что эти природные антибиотики обладают способностью инактивировать широкий спектр микроорганизмов, в том числе бактерий, грибов, простейших, оболочечных вирусов и являются перспективными молекулами для создания новых антибиотических средств. Учитывая наличие антибиотической и иммуномодулирующей активности у природных АМП, многие фармацевтические компании, в том числе в США, Канаде, Франции, Нидерландах и др., приступили к созданию нового класса антибиотиков на их основе. Успешные клинические испытания прошли пептидные антибиотики для лечения сепсиса, менингита, пневмонии, язвенной

болезни желудка, диабетической стопы, кандидоза, мукозита, гингивита, акне, импетиго, а также для заживления ожогов и ран, осложненных вторичной инфекцией.

Комплексные исследования Научно-образовательного центра ИБХ РАН направлены на поиск, выделение, изучение структуры, биологических свойств и молекулярных механизмов действия природных пептидных антибиотиков и разработку биотехнологических способов их получения. Объектами исследований являются АМП бактериального, грибкового, растительного и животного происхождения, в том числе из бактерий *Bacillus licheniformis*, грибов *Emericellopsis salmocyneumata*, чечевицы *Lens culinaris*, морского червя *Arenicola marina*, медузы *Aurelia aurita*, осетра *Acipenser guldenstadti*, черепахи *Emys orbicularis*, жабы *Bufo bufo gargarisans* и др. Конечной целью исследования является создание линейки прототипов новых эффективных лекарственных средств на основе природных пептидных антибиотиков и биотехнологической платформы для их получения.

Работа поддержана Министерством образования и науки РФ в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы (проект НК-602П/19, госконтракт П1159).

ENDOGENOUS ANTIMICROBIAL PEPTIDES AS MOLECULAR FACTORS OF INNATE IMMUNITY AND NEW ANTI-INFECTIVE THERAPEUTICS

Ovchinnikova T.V.

Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Miklukho-Maklaya 16/10, 117997 Moscow, Russia; ovch@ibch.ru

Endogenous antimicrobial peptides (AMP) are the earliest molecular factors in the evolution of innate immunity and are considered to play a key role in invertebrate host defense. Invertebrate animals have no acquired immunity with a system of antibodies diversification. They live in a microbe laden environment and are presumed to use an AMP-based system as principal defense against potential pathogens. AMP are rapid-acting, and they possess a broad spectrum of antimicrobial activity. Our research is focused search, isolation, structure-function studies, investigation of action mode, and development of biotechnological production of AMP from the bacteria *Bacillus licheniformis*, the fungi *Emericellopsis salmocyneumata*, the lentil *Lens culinaris*, the jellyfish *Aurelia aurita*, the lugworm *Arenicola marina*, the the sturgeon *Acipenser guldenstadti*, the turtle *Emys orbicularis*, the frog *Bufo bufo gargarisans*, and others. Endogenous AMP are potent to become an entirely new anti-infective therapeutics.

The work is supported by the Russian Federal Target Program “Scientific and Science-Educational Personnel of Innovative Russia» (project NK-602P/19, state contract P1159).

ИММУНОБИОСЕНСОРНЫЙ АНАЛИЗ ПРОТИВОИНСУЛИНОВЫХ АНТИТЕЛ

Пивень Н.В., Лухверчик Л.Н., Бураковский А.И.

ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси», лаборатория медицинского микроанализа, 220141, г. Минск, ул. Купревича 5/2, Республика Беларусь

Ранняя диагностика и знание механизмов развития аутоиммунных заболеваний, в частности, сахарного диабета, являются основополагающими факторами своевременной организации лечебно – профилактических мероприятий этого широко распространенного заболевания. В силу этого создание новых высокочувствительных и информативных методов идентификации и количественной детекции различных типов аутоантител до сих пор остается актуальной проблемой.

Для этих целей нами был выбран формат современного иммунохимического анализа — иммунный биосенсор, основанный на сочетанном использовании физического феномена поверхностного плазмонного резонанса и специфичности иммунохимической реакции «антиген-антитело» (на примере аутоантител к инсулину). Разработанный новый метод иммунобиосенсорного анализа противоинсулиновых аутоантител обладает высоким уровнем чувствительности (0,5 Е/мл) и широким диапазоном определяемых концентраций (0 – 100 Е/мл). Проведенный сравнительный анализ результатов значений концентраций противоинсулиновых антител в сыворотке крови, полученных с помощью иммунобиосенсора и иммуноферментного анализа (набор «DRG® IAA ELISA», Германия), показал сопоставимость результатов. Однако несомненным преимуществом нового метода является его экспрессность — время анализа составляет 10 минут (в иммуноферментном анализе — 4 – 24 часа) и возможность многократного использования биосенсорного чипа.

Созданный иммунобиосенсорный анализ аутоантител к инсулину может быть использован для определения концентрации аутоантител к инсулину, изучения состояния инсулинорезистентности и дифференциальной диагностики диабета I и II типа, а также служить основой для разработки аналогичных технологий для анализа аутоантител других специфичностей, биологически активных соединений, патологических субстанций и т.д.

IMMUNOBIOSENSOR ANALYSIS OF ANTI-INSULIN ANTIBODIES

Piven N.V., Lukhverchyk L.N., Burakovski A.I.

Institute of Bioorganic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus, Laboratory of Medical Microanalysis, 220141, Minsk, 5/2 Kuprevich Str. Belarus

The early recognition and knowledge of the autoimmune diseases mechanisms, particularly diabetes mellitus, are fundamental factors in timely organization of health-prevention service of this widespread disease. For this reason, the creation of new highly sensitive and informative methods for identification of autoantibodies various types and their quantitative detection is still a pressing problem.

For these purposes, we chose the format of modern immunochemical analysis – the immune biosensor based on the combined usage of surface plasmon resonance phenomenon and specificity of immunochemical reaction «antigen-antibody» (on the example of anti-insulin antibodies). A new method of immunobiosensor analysis of anti-insulin antibodies has a high sensitivity (0.5 U/ml) and a wide range of determined concentrations (0-100 U/ml). The comparative analysis of the anti-insulin antibodies concentrations in serum obtained by immunobiosensor and enzyme immunoassay («DRG® IAA ELISA», Germany) showed their comparability. However, the obvious advantage of the new method is the express results reception – the duration of the analysis is 10 minutes (ELISA – 4-24 hours) and the possibility of

the biosensor chip reuse.

The created immunobiosensor analysis can be used to determine the concentrations of anti-insulin antibodies, to study the insulin resistance status and to diagnose the diabetes mellitus type I and II. This method also can be served as a basis for the development of analogous technologies for the autoantibodies analysis of other specificities, biologically active compounds, pathologic substances, etc.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО РЕЖИМА КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ГРИБА *CANDIDA ALBICANS*

Рыбалкин Н.В., Филимонова Н.И.

Национальный фармацевтический университет, 61032

Выбор питательной среды имеет большое значение при производстве грибковых аллергенов. При культивировании гриба *Candida albicans* на жидких питательных средах полученная биомасса содержит много сопутствующих веществ (компоненты среды, дополнительные питательные ингредиенты, продукты метаболизма), что в дальнейшем влияет на степень чистоты аллергена, который получают с этой биомассы.

Целью данной работы было обоснование технологического режима культивирования гриба *Candida albicans*.

Объектом исследований были культуры условно-патогенного гриба рода *Candida albicans* штамма ССМ 885-653 и питательные среды: агар Сабуро, Кандида-агар, сусло-агар та агар Чапека. Чтобы объективно определить оптимальный агар для накопления биомассы гриба *Candida albicans* использовали несколько методов. Определяли количество клеток гриба в смывах с исследуемых агаров в пробирке при одинаковых условиях путем сравнения со стандартным показателем мутности на 10 ЕД, подсчетом в камере Горяева, подсчетом количества колоний при высевании смывов на чашки Петри с соответствующими агарами и определяли биомассу гриба при его культивировании в матрацах на исследуемых агарах при одинаковых условиях.

Результаты исследований показали, Кандида-агар и агар Сабуро обеспечивают наибольшее накопление биомассы гриба, поэтому для окончательного выбора агара была учтена их стоимость. Агар Сабуро стоит в два раза дешевле Кандида-агар, а выход биомассы гриба *Candida albicans* незначительно отличается.

При учете всех физико-химических, биологических и экономических аспектов установлено, что агар Сабуро является оптимальной питательной средой для накопления биомассы гриба *Candida albicans*, на основе которой планируется разработать аллерген, актуальный на сегодня в Украине, СНГ и других странах, для иммунодиагностики кандидозной инфекции.

EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF THE TECHNOLOGICAL REGIME OF THE CULTIVATION OF THE FUNGUS OF CANDIDA BY ALBICANS

Rybalkin M.V., Filimonova N.I.

National University of Pharmacy

The choice of medium is of great importance in the production of fungal allergens. With the cultivation of the fungus of *Candida albicans* on liquid nutrient media the obtained biomass contains many associated substances (component of medium, additional nourishing ingredients, the products of metabolism), which subsequently influences the value of the surface finish of the allergen, which is obtained from this biomass.

By the purpose of the data robots was the substantiation of the technological regime of the cultivation of the fungus of *Candida albicans*.

By the subject of studies were the cultures of the conditionally pathogenic fungus of the kind of *Candida albicans* of strain SSM 885-653 and nutrient media: agar of aldes, *Candida*-agar, must-agar that is Capek's agar. In order to objectively determine optimum agar for the accumulation of the biomass of the fungus of *Candida by albicans* they used several methods. Determined a quantity of cells of fungus in the washings from the investigated agar in the test tube with the identical conditions via comparison with the standard index turbidity on 10 YeD, the calculation in the camera of Goryaeva, the calculation of a quantity of colonies with sowing of washings to the Petri dishes with the appropriate agar and determined the biomass of fungus with its cultivation in the mattresses on the agar with the identical conditions being investigated.

The results of studies showed, *Candida*- agar and agar of aldes ensure the greatest accumulation of the biomass of fungus; therefore their cost was taken into account for the final selection of agar. Agar of aldes costs two times more cheaply the *Candida*- agar, and the output of the biomass of the fungus of *Candida albicans* is insignificantly characterized by.

It is established upon consideration of all physical chemistry, biological and economic aspects that agar of aldes is optimum nutrient medium for the accumulation of the biomass of the fungus of the *Candida by albicans*, on basis of which it is planned to develop the allergen, urgent until today in the Ukraine, the CIS and other countries, for immunodiagnostics of candidose infection.

ВЛИЯНИЕ НЕИОНОГЕННОГО ПАВ НА СВОЙСТВА ИНСУЛИН-СОДЕРЖАЩИХ ХИТОЗАНОВЫХ МИКРОКАПСУЛ, ПРИГОТОВЛЕННЫХ МИКРОЭМУЛЬСИОННЫМ СПОСОБОМ

Седякина Н.Е., Силаева А.О., Авраменко Г.В.

Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева

В настоящее время большое число работ посвящено разработке хитозановых микрокапсул для контролируемого высвобождения протеинов и пептидных лекарств. Приготовление хитозановых микрокапсул с включенным белком осуществляют на основе обратной эмульсии вода-парафиновое масло, содержащей ПАВ, полисахарид и биологически активное вещество, с последующим отверждением хитозана сшивающим агентом. Известно, что выбор ПАВ влияет на морфологию микрокапсул, эффективность включения и кинетику высвобождения лекарственного вещества из микрокапсул. От природы и концентрации ПАВ зависит также стабильность белка в микрокапсулах.

В настоящей работе сравнивали свойства двух неионогенных ПАВ ряда полиглицерил полирицинолеатов – Hexaglyn PR-15 и Decaglyn PR-20 для эмульсий в/м, а также оценивали возможность их применения для приготовления микроэмульсионным способом микрокапсул,

содержащих инсулин.

Было проведено исследование поверхностных свойств ПАВ на границе вода/парафиновое масло, построены фазовые диаграммы систем вода/Hexaglyn PR-15 /парафиновое масло и вода/Decaglyn PR-20/парафиновое масло при температурах 20°C и 60°C, проведены реологические исследования микроэмульсий. Было показано, что Hexaglyn PR-15 является более подходящим ПАВ для образования стабильной микроэмульсии вода/парафиновое масло. На основе микроэмульсий, содержащих Hexaglyn PR-15, был приготовлен ряд образцов хитозановых микрокапсул, с включенным инсулином, и изучены их свойства. Исходя из результатов исследования, можно говорить о том, что введение в микроэмульсию Hexaglyn PR-15 увеличивает процент включения инсулина, по сравнению с полученными ранее микрокапсулами, в процессе приготовления которых использовали спэн-40 [1].

1. Varshosaz J., Alinagari R. Effect of citric acid as cross-linking agent on insulin loaded chitosan microspheres // Iranian Polymer Journal, 2005, 14(7) – P. 647-656.

INFLUENCE OF THE NON-IONIC SURFACTANT ON THE PROPERTIES OF INSULIN-LOADED CHITOSAN MICROCAPSULES PREPARED BY MICROEMULSION METHOD

Sedyakina N.E., Silaeva A.O., Avramenko G.V.

D. Mendeleyev University of Chemical Technology of Russia

Currently, microparticles and microcapsules consisting of chitosan have been widely investigated for use as controlled release oral delivery systems of protein drugs. In the conventional preparation methods of chitosan microsphere, the W/O emulsion system of paraffin oil, water and nonionic surfactant was usually prepared by mechanical stirring method, and then the droplets were solidified by cross-linking agent. As is known, the co-encapsulation of different non-ionic surfactants influence on the characteristics of insulin-loaded microspheres such as size, morphology, peptide loading, release and peptide stability.

In this work the investigate properties of two nonionic surfactants: polyglyceryl-6-polyricinoleate (Hexaglyn PR-15, Nikko Chemicals Co. Ltd) and polyglyceryl-10-polyricinoleate (Decaglyn PR-20, Nikko Chemicals Co. Ltd) are described. The optimal surfactant was chosen and insulin loaded chitosan microcapsules were prepared.

The interfacial properties of the surfactants were investigated. To investigate the microemulsion regions, phase diagrams water/Hexaglyn PR-15/paraffin oil and water/ Decaglyn PR-20/paraffin oil were constructed using the water titration method at the room temperature and 60°C. Microemulsion existence area was determined and the series of phase inversions of Winsor I $\rightarrow$ III $\rightarrow$ II were observed from the phase diagrams. The influence of the surfactants on the viscosity of the microemulsions were also investigated. It was shown that the optimal surfactant was found as follow: Hexaglyn PR-15. The insulin-loaded chitosan microcapsules were prepared by adding to the primary emulsion the nonionic surfactant, Hexaglyn PR-15. The characteristics of the microcapsules were investigated. Results showed that adding Hexaglyn PR-15 resulted in the significant increase of the loading of drug in comparison with microcapsules prepared with Span 40 [1].

1. Varshosaz J., Alinagari R. Effect of citric acid as cross-linking agent on insulin loaded chitosan microspheres // Iranian Polymer Journal, 2005, 14(7) – P. 647-656.

ОБОСНОВАНИЕ ЛАБОРАТОРНЫХ МАРКЕРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ ХРОМОСОМНЫХ НАРУШЕНИЙ У ДЕТЕЙ В УСЛОВИЯХ АЭРОГЕННОГО ВЛИЯНИЯ ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ СРЕДЫ ОБИТАНИЯ, ОБЛАДАЮЩИХ МУТАГЕННОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Землянова М.А., Щербина С.Г., Секирина Н.Н.

ФГУН «ФНЦ МПТ УРЗН» Роспотребнадзора Г. Пермь, Орджоникидзе 82

Цель настоящего исследования – определение лабораторных маркерных показателей ранней диагностики хромосомных нарушений у детей в условиях аэрогенного влияния химических факторов с мутагенной активностью.

Данные, полученные при скрининговом лабораторном обследовании 24 детей в возрасте 3-7 лет, проживающих в промышленно-развитом районе, свидетельствуют о достоверном повышении относительно референтного и фонового уровней содержания в крови детей ряда химических веществ, обладающих мутагенной активностью, являющихся компонентами загрязнения атмосферного воздуха: марганца, хрома, свинца, никеля – у 25-100% обследованных детей (кратность превышения составила 1,3-5,6 раза, $p=0,007-0,032$); формальдегида – у 100%, кратность превышения составила 8,5 раза, $p=0,000$. Количество детей с повышенным содержанием бензола составило 81% ($p=0,001$), толуола – 93% ($p=0,000$), данные вещества являются абсолютно чужеродными соединениями для организма человека.

Оценка результатов хромосомной идентификации у детей с повышенным содержанием химических мутагенов в крови показала наличие хромосомных изменений по типу нормального полиморфизма, при этом частота встречаемости полиморфных изменений зарегистрирована в 5,4 раза выше средних показателей у детей территорий санитарно-эпидемиологического благополучия Российской Федерации.

Вклад химических веществ, обладающих мутагенной активностью, в формирование хромосомных изменений по типу полиморфных составил 10-28%.

Использование маркерных показателей развития хромосомных нарушений у населения на территориях с загрязнением атмосферного воздуха химическими мутагенами позволит своевременно выявлять группы риска и проводить профилактику отдаленных последствий.

SUBSTANTIATING LABORATORY MARKERS FOR EARLY DIAGNOSTICS OF CHROMOSOME DISORDERS IN CHILDREN WITH CHRONIC INHALATION EXPOSURE TO CHEMICAL ENVIRONMENTAL FACTORS HAVING MUTAGENIC ACTIVITY

M.A. Zemlyanova, S.G. Shcherbina, N.N. Sekirina

FSSI «Federal Scientific Center for Medical and Prophylactic Health Risk Management Technologies» of the Federal State Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Protection and Human Well-Being, Perm, 82 Ordzhonikidze Str.

The aim of the study was to determine laboratory markers for early diagnostics of chromosome disorders in children with chronic inhalation exposure to chemical factors having mutagenic activity.

The data obtained by laboratory screening of 24 children aged 3-7 years living in an industrial region indicated a reliable increase in blood concentrations of chemical air pollutants having mutagenic activity compared to their reference and background levels. In 25-100% of the children, the concentrations of manganese, chromium, lead, nickel were 1.3-5.6-fold higher than the reference levels of these chemicals

($p=0.007-0.032$); in 100% of the examined children, formaldehyde levels were 8.5-fold higher than its background levels ($p=0,000$). The percentage of children with elevated levels of benzene ($p=0.001$) and toluene ($p=0,000$) was 81% and 93% respectively; these compounds must not be present in human blood.

The chromosome identification performed in the children with increased blood levels of chemical mutagens showed chromosome changes within normal chromosome polymorphism; the frequency of polymorphic changes was 5.4-fold higher compared to average levels of polymorphic changes in children from environmentally favourable regions of the Russian Federation.

The contribution of chemicals with mutagenic activity to polymorphic chromosome changes was estimated to be 10-28%.

Using markers of chromosome changes in humans living in regions characterised by air pollution with chemical mutagens will allow timely identification of risk groups and prevention of long-term effects in the next generation with chromosome aberrations.

ФИЗИОТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ УСТРОЙСТВА ДЛЯ ФОРМИРОВАНИЯ СОГЛАСОВАННЫХ НАВЫКОВ ХОДЬБЫ

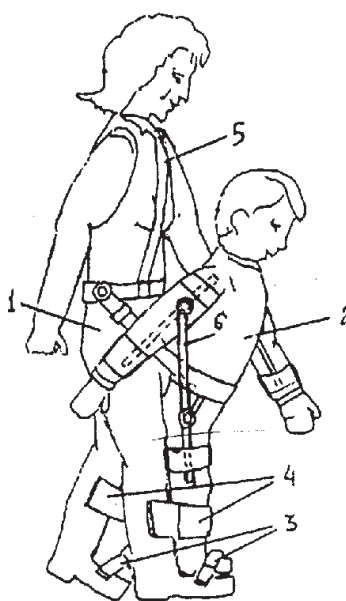
Жуковская В.А., Быковская Е.Ю.

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН

Для обучения ходьбе тех ДЦП-детей, которые не способны шагать самостоятельно, мы предложили устройство «Кенгуру-1» (для формирования двигательных навыков ходьбы) на основе детского комбинезона и взрослого комбинезона, имеющего на тыльной, верхней части каждой стопы приспособление для фиксации одноименной, левой или правой, подошвенной части детского комбинезона, и имеющего в области каждой голени фиксатор для крепления одноименной голени детского комбинезона, а в области пояса - ремни для поддержки в выпрямленном состоянии туловищной части детского комбинезона. В устройстве «Кенгуру-1» согласованное движение рук ребёнка при ходьбе выполняется тренером-терапевтом принудительно вручную. Для автоматического согласованного движения рук ребёнка при ходьбе предложено устройство «Кенгуру-2», в котором поверх детского комбинезона смонтировано шарнирное устройство для принудительного движения рук ребёнка.



А) Кенгуру-1.



Б) Кенгуру-2.

THE PHYSIOTHERAPEUTIC DEVICES FOR FORMATION OF THE COORDINATED SKILLS OF WALKING

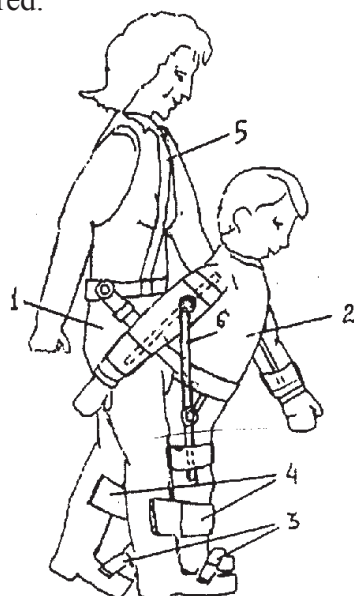
Zhukovskaja V.A., Bykovskaja E.Yu.

Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of RAS

For training to walking of those CCP-children which are not capable to walk independently, we have offered the device (for formation of motive skills of walking) on the basis of children's overalls and the adult overalls, which has on upper part of everyone foot the fitting for fixation of the plantar part of the similar leg of a children's overalls (of a left leg or of a right-hand leg). The adult overalls has in the field of each shin a clamp(fixing agent) for fastening the similar shin of a children's overalls, and has in the field of a belt(zone) the straps for support in the straightened condition of a **torso** of a children's overalls. In device "Kangaroo-1" the co-ordinated movement of hands of the child at walking is carried out by the trainer-therapist compulsorily manually. For the automatic co-ordinated movement of hands of the child at walking device "Kangaroo-2" in which over children's overalls it is mounted шарнирное the device for compulsory movement of hands of the child is offered.



A) «Kangaroo-1».



B) «Kangaroo-1».

ОПОРНАЯ ТРОСТЬ ДЛЯ ИНВАЛИДОВ

Жуковская В.А., Быковская Е.Ю.

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН

Для обеспечения безопасности хождения ДЦП-пациентов широко используются 3-х и 4-х опорные трости, вместо одноопорных. Но и при этом опорная площадь таких тростей недостаточна для обеспечения устойчивости их опоры, а выступающие угловые опорные части таких тростей являются причиной зацепа ноги пациента и последующего его падения. Для устранения этих недостатков мы предложили изменить конструкцию нижней части трости. В предложенном новом варианте расширенная нижняя часть трости имеет в торце круглую форму и выступающую книзу наружную круглую кромку. Кроме того, торец расширенной нижней части является основанием полусферы или основанием конуса, в форме которых она выполнена, а круглая кромка опорной площадки выполнена или заточенной (для ходьбы по гололёду) или имеет фрикционное покрытие (для ходьбы по влажной поверхности). Если необходимо, то ДЦП-пациент для увеличения устойчивости может использовать одновременно две трости (по одной трости в каждой руке). Тростью новой конструкции с удовольствием пользуются ослабленные люди пожилого возраста. На это изобретение выдан Патент RU 2386429, 2010 года.

BASIC CANE FOR INVALIDS

Zhukovskaja V.A., Bykovskaja E.Yu.

Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of RAS

A three-basic cane and a four-basic cane are known for simplification of walking or for formation of motive skills of walking during physiotherapy of patients and for providing an additional stop of the patient onto hands at independent walking. Thanking the multibase, they have more broad basic areas, than one-basic canes. But and in such canes the basic area is insufficient for security of stability of support, and angular bases of such canes are the source of a hook of a foot of the patient and of his subsequent falling. For expansion of functionalities of the device (increase in the area of a support), of increase of efficiency, safety and comfort, and also of reduction of labour input and complexity of use of the device, the expanded bottom part of a cane, under our offer, has the round form and an external round edge projecting down. Besides, the end face of the expanded bottom part is by the basis of a hemisphere or by the basis of a cone in form of which they is fulfilled and the round edge of a basic platform is executed or by sharpened (for walking on ice) or has a frictional covering (for walking on a damp surface). If it is necessary, the CCP-patient for stability increase can simultaneously use two canes (on one cane in each hand). With pleasure the weakened people of advanced age use a cane of a new design. On new cane it is given out Patent RU 2386429, 2010.

КРУГЛЫЙ СТОЛ «БИОТЕХНОЛОГИЯ И МЕДИЦИНСКАЯ ТЕХНИКА» SEMINAR “BIOTECHNOLOGY AND MEDICAL EQUIPMENT”

УЛЬТРАЗВУКОВАЯ АППАРАТУРА ХИРУРГИЧЕСКОГО И ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ. ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ

Квашнин С.Е.

МГТУ им. Н.Э.Баумана, 105005, Москва, 2-я Бауманская, 5

Проведен анализ ультразвуковой аппаратуры для хирургии и терапии, основных технологических процессов, областей применения. Проанализированы тенденции развития медицинской ультразвуковой аппаратуры высокой интенсивности. Отмечаются существенные преимущества применения низкочастотного ультразвука при эндохирургических вмешательствах такие как: коагуляционный эффект при резке тканей, дозированное тепловыделение в зоне резания, отсутствие задымленности операционного поля, малое усилие резания тканей, возможность расслоения тканей с различными механическими свойствами по границе раздела тканей [1, 2], бактерицидный эффект ультразвука [1,3], очистка инфицированных тканей от патогенной микрофлоры [1,3,4], возможность импрегнации низко- и высокомолекулярных препаратов в ткани, способность соединения мягких и плотных биологических тканей [1] с использованием энергии ультразвука.

Проанализированы схемы построения колебательных систем со сложными рабочими окончаниями, отмечается необходимость синтеза систем с мягкими, жесткими и нейтральными нагрузочными характеристиками, в зависимости от характера работ с биотканью.

1. Николаев Г. А., Лощилов В. И. Ультразвуковая технология в хирургии.- М.: Медицина, 1980.- 272 с.

2. Саврасов Г.В. Влияние высокочастотных колебаний на процесс послойного разделения биологических тканей // Труды МВТУ им. Н. Э. Баумана.- 1982.- №319.- С.35-41.

3. Лощилов В.И., Веденков В.Г., Орлова А.А. Физические основы способа ультразвуковой обработки инфицированных ран // Труды МВТУ им. Н. Э. Баумана.- 1975.- №242.- С.36-42.

Сабельникова Т.М., Черкашин В.В., Полевой А.М. Совместное воздействие ультразвука и антисептиков на гнойные бактерии // Труды МВТУ им. Н. Э. Баумана.- 1980.- №319.- С.59-62.

ULTRASONIC EQUIPMENT SURGICAL AND THERAPEUTIC PURPOSES. THE SCOPE AND PROSPECTS OF DEVELOPMENT

Kvashnin S. E.

Bauman Moscow State Technical University, 105005, Moscow, 2-ya Baumanskaja, 5

The analysis of technological processes and fields of applications of ultrasonic devices for surgery and therapy was made. The development tendencies of medical high intensity devices were analyzed. Following advantages for endo-surgery applications were noted: the coagulation effect during tissues slicing, dosage of heat in slicing zone, the smoke free operation area, the low forced tissue slicing and the ability of tissue dissection by the border of tissues with different mechanical properties [1,2], the bactericide effect [1,3], treatment of infected tissues from pathogenic microorganisms [1,3,4], the possibility of impregnation of low-and high-molecular drugs into the tissue, the ability to connect the soft and dense biological tissues [1] using ultrasonic energy.

The building schemes of vibration systems with complicated working ends were analyzed. The necessity

of synthesis of systems with soft, hard, and neutral duty characteristics depended on application types with bio-tissues were noted.

1. G.Nikolaev, V. Loshchilov Ultrasonic Technology in Surgery.- M.: Medicine, 1980.
2. G. Savrasov Effect of high-frequency oscillations in the process of layering the separation of biological tissues Proceedings BMSTU.- 1982.- N 319.- p.35-41.
3. V. Loshchilov, V. Vedenkov, A. Orlova. Physical basis of method of ultrasonic treatment of infected wounds, Trudy BMSTU.- 1975.- N 242.- p.36-42.
4. T. Sabelnikova, V. Cherkashin, A. Polevoy. The combined impact of ultrasound and antiseptics on bacteria festering Proceedings BMSTU, 1980.- N 319.- p.59-62.

СОЗДАНИЕ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НОВЫХ ФИЗИЧЕСКИХ ПРИНЦИПОВ И ТЕХНОЛОГИЙ

Верба В.С., Гудков А.Г., Леушин В.Ю., Попов В.В., Силкин А.Т.

ОАО «Концерн «Вега», ООО «НПИ ФИРМА «ГИПЕРИОН», ОАО «Светлана»

Внедрение результатов фундаментальных исследований в области радиотехники и радиоэлектроники в опытно-конструкторские разработки современной медицинской аппаратуры позволяет качественно улучшить состав и существенно расширить номенклатуру действующего медицинского оборудования за счет использования в них новых физических принципов и технологий.

1. Метод пассивной радиолокации живых тканей человека. Одним из перспективных направлений неинвазивной диагностики онкологических заболеваний и других патологий является использование пассивных радиолокационных методов, основанных на получении информации из собственного излучения живых тканей человека в радиочастотном диапазоне. В ходе диагностики и лечения практически всех заболеваний существенный интерес для медиков представляют данные о глубинной температуре живой ткани и ее распределении по телу человека как в естественной динамике, так и в ответ на различные физиологические тесты. Эти методы неинвазивны, экологически чисты и не оказывают никаких вредных воздействий на пациента.

2. Метод лазерной рефрактометрии в офтальмологии. Применение лазеров для исследования рефракции глаз основано на использовании уникальных свойств пучка низкоэнергетического когерентного излучения лазера в специфической форме спеклов. Разработанные приборы для исследования рефракции глаз и функционального лечения на основе полупроводникового лазера («ЛАР-02») и гелий-неонового лазера («ЛАР-03») используются при нистагме и афакии, при прогрессирующей близорукости у детей и подростков, при косоглазии, а также для реабилитации зрения в послеоперационный период.

3. Использование ультразвука для диагностики в отоларингологии. К новым методам исследования слуха относится определение слуховой чувствительности к ультразвукам. Использование аудиотестера «Эхотест-01» делает возможным раннее выявление нейросенсорной тугоухости, обусловленное действием антибиотиков аминогликозидного ряда, болезни Миньера, пресбиакусиса, вторичных форм тугоухости и других видов нарушения слуха у взрослых и детей, а также уточняет показания к хирургическому вмешательству и слухопротезированию.

4. Рентгеновские трубки нового поколения для медицинского оборудования. Большинство современных требований к рентгеновской медицинской аппаратуре, таких как цифровая обработка информации, более высокая степень разрешения изображения, малая доза излучения на пациента при исследовании, портативность и эргономика аппаратуры, может быть удовлетворено только путем применения рентгеновских трубок нового поколения с улучшенными техническими параметрами и характеристиками надежности.

THE ELABORATION OF MEDICAL EQUIPMENT WITH THE USAGE OF NEW PHYSICAL PRINCIPLES AND TECHNOLOGIES

Verba V.S., Gudkov A.G., Leushin V.Y., Popov V.V., Silkin A.T.

JSC "Vega", Hyperion Ltd., JSC "Svetlana"

The implementation of fundamental research results in the sphere of radio engineering and radio electronics in experimental design of modern medical equipment let qualitatively improve structure and considerably enlarge the product mix of medical equipment by using new physical principles and technologies.

Passive radiolocation of organized tissue of a human being method

One of most perspective directions of noninvasive diagnosis of cancer diseases and other pathologies is the use of passive radiolocation method, based on information, getting from human being tissue's emanation in radio-frequency range. In the process of diagnostics and treaty of almost all diseases physicians are interested in the data about internal temperature of organized tissue and its distribution all over the body of a human being as in natural dynamics and as a response of different physiological tests as well. These methods are noninvasive, free of ecological impact and don't influence negatively on a patient.

Laser refractometry in ophthalmology.

Laser application for eye refraction examination is based on the use of unique features of low-energy knot of coherent laser radiation in a special form of speckles. The elaborated devices for eye refraction study and functional treaty on the base of semi-conductor laser (LAR-02) and helium-neon laser (LAR-03) are used for nystagmus and aphakia, in terms of progressive myopia, and for vision rehabilitation in post operational period.

The use of ultrasonic technologies in otolaryngology.

For the new methods of hearing examinations relate the identification of hear perceptibility to ultra sounds. The use of audio test system "Echotest - 01" makes possible to identify perceptive deafness, caused by aminoglycoside antibiotics Ménière's disease, presbycusis, secondary forms of deafness and other kinds of hearing impairment of adults and children, and also specifies medical indications for surgical procedures and hearing aid.

Modern X-ray tubes for medical equipment.

The majority of modern requirements to X-ray medical devices such as digital information processing, higher level of image resolution, small dose of radiation to a patient during a medical examination, portability and ergonomics of equipment may be solved by means of modern X-ray tubes application with improved technical parameters and reliability features.

СОЗДАНИЕ МАГНИТОМЯГКИХ И СУПЕРПАРАМАГНИТНЫХ ЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ ЖЕЛЕЗА ИЛИ ЕГО ОКСИДОВ ДЛЯ РЕШЕНИЯ ШИРОКОГО КРУГА БИОЛОГИЧЕСКИХ ЗАДАЧ

Бочаров А.В., Гудков А.Г., Колпаков Н.С., Михеев В.А., Семёнов А.А., Шепелёв А.А.

Открытое акционерное общество «Инженерно-маркетинговый центр Концерна «Веха», 125190, г. Москва, ул.Балтийская, 14

Разработки современных диагностических биочипов, иммуномагнитных сорбентов, а также дистанционно управляемых лекарств основаны на применении перспективных методов динамического управления магнитными частицами (носителями) для перемещения их в биочипе или

организме. Применение именно субмикронных (в том числе – наноструктурных) ферромагнитных и суперпарамагнитных частиц обеспечивает отсутствие их группирования и достаточно быструю дезинтеграцию после снятия управляющего магнитного поля.

В данном проекте предлагается к созданию комплексная технология изготовления магнитомягких и суперпарамагнитных частиц механохимическим способом, а также технологии покрытия этих частиц антителами, флуорофорами (в том числе квантовыми точками), оптическими резонансными элементами для дистанционно управляемого нагрева, возможно и нанотрубками для пролонгированного действия лекарств.

В настоящее время разработана технология изготовления субмикронных магнитомягких частиц, основанная на механохимическом измельчении порошков железа и его оксидов в жидких средах и, при необходимости, легировании частиц такими элементами, как кобальт, никель, кремний и др. для достижения конкретных магнитных характеристик. Проводятся исследования процессов узкого фракционирования частиц по размерам и уровням намагниченности, а также процессов нанесения покрытий в зависимости от цели применения создаваемых материалов.

THE ELABORATION OF M-METAL AND SUPERPARAMAGNETIC FRACTIONS ON THE BASE OF IRON AND ITS OXIDES FOR THE SOLUTIONS OF GENERAL PURPOSE BIOLOGIC ISSUES

Bocharov A.V., Gudkov A.G., Kolpakov N.S., Micheev B.A., Semenov A.A., Shepelev A.A.

*JSC "Engineering- market centre of JSC "Vega",
125190, Moscow, Baltiyskaya, 14*

The elaborations of modern diagnostic biotypes, immunomagnetic sorbates and also remotely operated medicines are based on the application of perspective methods of dynamic operation by magnetic fractions (carriers) for their shift in a biotype or in an organism. The application namely submicron (including nanostructural) ferromagnetic and superparamagnetic fractions provides the absence of their bunching and their rapid breakup after the operating magnetic field is removed.

In this project the complex technology of manufacturing m-metal and superparamagnetic fractions by mechanic-chemical way is offered. Also the cover technologies of these fractions by antibodies, quantum points, and optic resonant elements for remotely operated heating, nanopipes for durable action of medicines are offered.

Currently the technology of manufacturing submicron m-metal fractions, based on mechanic-chemical triturating of iron and its oxides in liquid medium, and if necessary alloying fractions such elements as cobalt, nickel, silicon and others for the attainments of definite magnetic features is elaborated. Research of process of narrow fractionating according to sizes and levels of magnetizations is carried out. Also the processes of deposits in depend of application purposes of elaborated materials are investigated.

ТРАВМА КОСТНОГО МОЗГА И УЧАСТИЕ СТВОЛОВЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК В РЕГЕНЕРАТИВНОМ ПРОЦЕССЕ

Чайлахян Р.К., Герасимов Ю.В., Генкина Е.Н., Соболев П.А., Чайлахян М.Р.

ФГБУ «НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России

123098 г. Москва, ул. Гамалеи 18

Под влиянием механической травмы (кюретажа) костномозговой полости происходит резкая перестройка стромальной ткани. Метод избирательного клонирования *in vitro* стромальных клеток-предшественников позволил нам провести количественную оценку этой популяции предшественников и изучить изменение их численности при кюретаже, выводящем кроветворную ткань из состояния динамического равновесия. Увеличение концентрации клеток, образующих колонии фибробластов (КОКф), наблюдается с первых часов после кюретажа и поддерживается в течение 3-х недель, превышая эту величину у контрольных животных в 4-5 раз. В отдаленных частях скелета (контрлатеральной голени) численность стромальных клеток-предшественников вплоть до 20-х суток удерживается на уровне, превышающем контрольный в 2-2,5 раза. При этом морфологическая картина костного мозга в контрлатеральной большеберцовой кости не отличается от контрольной. При нанесении организму более обширной травмы (кюретаже 3-5 костей) эта реакция усиливается, т.е. происходит достоверное увеличение концентрации и численности этих клеток в контрлатеральной голени. При этом концентрация этих клеток почти в 3 раза превышает эти значения при травме одной кости и в 8 раз выше, чем в контроле. Системный ответ проявляется и в лимфоидных органах (селезенке), но в более поздние сроки - на 20 сутки после операции. Численность КОКф на данный лимфоидный орган превышает их уровень в контроле в 3 раза. Одним из механизмов увеличения численности КОКф в отдаленных частях скелета и лимфоидных органах может быть продукция экзогенного фактора, вызывающего пролиферацию КОКф. Действительно, внутривенное введение сыворотки от кюретированных животных нормальным животным приводит к повышению содержания КОКф в костном мозге в 2,5 раза.

TRAUMA OF BONE MARROW AND PARTICIPATION OF STROMAL STEM CELLS IN REGENERATIVE PROCESS

Chailakhyan R. K., Gerasimov J.V., Genkina E.N., Sobolev P.A., Chailakhyan M.R.

«Epidemiology and Microbiology Institute for N.F. Gamalei»

Gamalei St. 18, 123098, Moscow, Russia

Under the influence of bone marrow mechanical trauma (curettage) there appears the abrupt reorganisation of stromal tissue. The method of selective cloning *in vitro* of stromal cell precursors (CFUf) has allowed us to conduct the quantitative estimation of such precursors' population and to study the change of their number at the curettage, removing the hemopoietic tissue out of dynamic balance. The increase of concentration of cells forming fibroblast colonies (CFUf) occurs from the first hours after curettage and maintains within 3 weeks, exceeding this size at control animals in 4-5 times. In certain parts of skeleton (collateral shin) the number of stromal cell precursors up to the 20th day is kept at the level exceeding control in 2-2,5 times. At the same time the morphological picture of bone marrow in contralateral tibia does not differ from the control. When the more extensive trauma is caused (the curettage of 3-5 bones) this reaction amplifies, i.e. there is an authentic increase of concentration and number of these cells in contralateral shin. Thus the concentration of these cells almost in 3 times exceeds these value at the trauma of one bone, and in 8 times more than in control. The systemic answer is shown and in lymphoid organs

(spleen), but in later date – on the 20th day after operation. The number of CFUf on the given lymphoid organ exceeds their level in control in 3 times. One of the mechanisms of augmentation of CFUf number in the certain parts of skeleton and lymphoid organs may be the production of the exogenous factor causing CFUf proliferation. Really, intravenous introduction of serum from curettated animals to normal animals leads to increase of CFUf content in bone marrow in 2,5 times.

СОРБЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В СОВРЕМЕННОЙ МЕДИЦИНЕ

Покровский С.Н.

*ФГУ Российский кардиологический научно-производственный комплекс МЗ и СР РФ,
121552 Москва, ул. 3-я-Черепковская, д.15а*

Возникновение и развитие многих заболеваний обусловлено накоплением в организме человека патогенных веществ. Вопрос являются ли они причиной заболевания, в ряде случаев остается открытым, однако их патологическая роль в развитии многих заболеваний доказана. Современные высокотехнологичные методы терапевтического афереза, такие как иммуносорбция и каскадная плазмофильтрация, позволяют эффективно снижать концентрацию патогенов в крови пациента, что приводит к положительному клиническому результату, что особенно важно, когда лекарственная терапия малоэффективна. В настоящее время технологии терапевтического афереза применяются в кардиологии, неврологии, акушерстве, онкологии, трансплантологии.

Для коррекции нарушений липидного обмена в нашей стране применяются такие методы терапевтического афереза как иммуносорбция на колонках ЛНП Липопак® и Лп(а) Липопак®, ПОКАРД, Россия. Течение аутоиммунных процессов может быть нормализовано при помощи методов Ig афереза с использованием колонок Ig Адсопак®, ПОКАРД, России. Проведение успешной трансплантации даже при несовместимости по АВО может быть достигнуто благодаря специфическому удалению антител к группам крови на колонках с иммобилизованными синтетическими олигосахаридами – антигенами групп крови (колонки АВО Адсопак®, НПФ ПОКАРД, Россия). Для лечения самых различных заболеваний с успехом используется метод каскадной плазмофильтрации, в котором удаление патогенного компонента происходит на фильтрах Evaflux, Kawasumi Laboratories, Япония.

Широкие возможности использования технологий терапевтического афереза в клинической практике открываются благодаря разработкам, проводимым в лаборатории Проблем атеросклероза ФГУ РКНПК. Новое поколение сорбентов открывает перспективы применения технологий терапевтического афереза для еще более широкого круга заболеваний.

Часть работы выполнена при финансовой поддержке Правительства Москвы Государственный Контракт №8/3-280н-10 от 27.05.2010.

SORPTION TECHNOLOGIES IN MODERN MEDICINE

Pokrovsky S.N.

Cardiology Research and Production Complex, Ministry of Health of the Russian Federation, 121552 Moscow, 3rd-Cherepkovskaya str, 15a

The emergence and development of many diseases caused by accumulation of human pathogens. The question is whether they are the cause of disease in some cases remains open, but their pathological role in the development of many diseases is proved. Modern high-tech methods of therapeutic apheresis, such as immunosorption and cascade plasmafiltration allow to effectively reduce the concentration of pathogens in the patient's blood, which leads to positive clinical results, which is especially important when drug therapy is ineffective. Currently, therapeutic apheresis technologies used in cardiology, neurology, obstetrics, oncology and transplantation.

For the correction of lipid metabolism in our country such methods of therapeutic apheresis as immunosorption on columns LDL Lipopak® and Lp(a) Lipopak®, POCARD, Russia are used. The autoimmune process can be normalized by the methods of Ig apheresis using columns Ig Adsopak®, POCARD, Russia. Conducting a successful transplant, even if ABO compatibility can be achieved through the removal of specific antibodies to blood groups on columns with immobilized synthetic oligosaccharides - blood group antigens (column ABO Adsopak®, POCARD, Russia). The method of cascade plasmafiltration, in which removal of pathogenic component is the filter Evaflux, Kawasumi Laboratories, Japan has been successfully used for the treatment of various diseases.

Opportunities of using technology of therapeutic apheresis in clinical practice offered by developments, which are held in the Laboratory of Problem of Atherosclerosis, Cardiology Research Center. A new generation of sorbents opens perspectives of therapeutic apheresis technologies for an even wider range of diseases.

Part of this research was supported by the Government of Moscow State Contract № 8/3-280n-10 on 27.05.2010.

НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ НЕИНВАЗИВНОГО МОНИТОРИНГА И КАРТИРОВАНИЯ СЕРДЕЧНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

Щукин С.И.

МГТУ им. Н.Э. Баумана, 105005 Москва, 2-я Бауманская ул., д. 5

В докладе представлены результаты разработки двух типов технологий для неинвазивного мониторинга деятельности сердца основанных на многоканальных импедансных измерениях.

1. Мониторно-компьютерной системы неинвазивного измерения таких параметров сердечной деятельности как ударный и минутный объем сердца, фракции выброса желудочков сердца, фазовых соотношений сердечного цикла. Технология позволяет также анализировать параметры деятельности сердца отдельно для фаз вдоха и выдоха, количественно измерять индивидуальную вариабельность параметров работы сердца.

2. Новой технологии многоканального импедансного картирования биомеханической активности сердца.

Технология впервые позволяет визуализировать в динамике процессы перемещения границ сердца, получать новую информацию о его работе.

Важно, что измеряемые параметры с одной стороны соответствуют таковым измеряемым с помощью таких технологий как магниторезонансная томография и ультразвуковое сканирование, с другой стороны дополняют детали работы сердца новыми, ранее не измеряемыми характеристиками.

К таким новым параметрам относятся: динамические характеристики изменения поперечного сечения желудочков сердца; динамика движения центра масс желудочков сердца вдоль продольной и поперечной оси сердца; динамика изменения продольно-поперечных эффективных размеров сердца.

NEW TECHNOLOGY OF NONINVASIVE MONITORING AND MAPPING OF CARDIAC ACTIVITY

Shchukin S.I.

MSTU N.E. Bauman, Moscow 105005, 2-Bauman Str. Bld. 5

The report presents the results of two types of technology for noninvasive monitoring of cardiac activity development based on multi-channel impedance measurement.

Systems for noninvasive monitoring parameters of cardiovascular system of organism.

This technology oriented to patients of intensive cure units and reanimation and posses to measure Stroke Volume, Ejection Fraction of the Heart not only in monitoring mode, but during patient expiration – inspiration periods.

2. New technology of multi-channel impedance mapping of biomechanical cardiac activity. Technology for the first time to visualize the dynamics of the process of moving the boundaries of the heart, to obtain new information about his work. It is important that the parameters measured from one side correspond to those measured with the help of technologies such as magnetic resonance tomography and ultrasound scans, on the other hand complementary parts of the heart with new, not previously measured characteristics. These new parameters include: the dynamic characteristics of the cross-sectional change of heart ventricles; the dynamics of the center of mass of the ventricles of the heart along the longitudinal and transverse axis of the heart; changes the dynamics of longitudinal-transverse effective size of the heart.

АЛГОРИТМЫ И ПРОГРАММНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ СКРИНИНГА ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ПРИ РАКЕ

Танас А.С.¹, Руденко В.В.^{1,2}, Стрельников В.В.^{1,2}, Залетаев Д.В.^{1,2}

¹Медико-генетический научный центр РАМН, 117478 Москва, ул. Москворечье, д.1

²Первый МГМУ им. И.М.Сеченова Минздрава России, 119991 Москва, ул. Трубецкая, д.8, стр.2

Скрининг эпигенетических нарушений, в частности нарушений метилирования ДНК, – один из наиболее эффективных и перспективных инструментов изучения и диагностики онкологических заболеваний. На основе анализа ранее разработанных методов нами сформирован обобщенный алгоритм скрининга дифференциального метилирования ДНК и определены ключевые этапы анализа, требующие модернизации. К ним относятся этапы редукции эпигеномных репрезентаций, разделения, сравнения и определения геномной принадлежности отдельных элементов репрезентаций. Предложены модификации, позволившие разработать доступный высокотехнологичный метод скрининга дифференциального метилирования, эффективность которого продемонстрирована при изучении различных форм злокачественных новообразований. Оптимизация редукции репрезентаций проводится на стадии дизайна лабораторного протокола путем компьютерного моделирования эксперимента (программа *AIMS in silico*). Для оптимизации условий разделения элементов репрезентации проведен анализ разрешающей способности различных протоколов капиллярного электрофореза. Показано, что снижение разрешающей способности неденатурирующего полидиметилакриламида по сравнению с денатурирующим находится в пределах, допускающих эффективное разделение фрагментов ДНК. В то же время, применение неденатурирующего полимера повышает чистоту визуализации и значительно сокращает время анализа. Этапы сравнения и определения геномной принадлежности элементов эпигеномных

репрезентаций модернизированы использованием разработанной для этой цели компьютерной программы *PeakPick* в сочетании с методами рестриктазного картирования. Работа проводилась при поддержке Федерального агентства по науке и инновациям в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» (ГК 02.740.11.0089).

ALGORITHMS AND SOFTWARE FOR THE EPIGENETIC ABNORMALITIES SCREENING IN CANCER

Tanas A.S.¹, Rudenko V.V.^{1,2}, Kuznetsova E.B.^{1,2}, Strelnikov V.V.^{1,2}, Zaletaev D.V.^{1,2}

¹*Research Centre for Medical Genetics, 117321 Moskvorechie St, 1, Moscow, Russia*

²*I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, 119991 Trubetskaya St, 8 bld 2, Moscow, Russia*

Screening of epigenetic abnormalities, particularly those of DNA methylation, is among the most effective and advanced tools in cancer research and diagnostics. Based on the analysis of the previously developed methods, we have formed a synthetic algorithm of DNA differential methylation screening and identified the key stages of analysis that require upgrading. These are the stages of epigenomic representations reduction, separation, comparison, and genomic mapping of separate elements of the representations. We have introduced modifications in order to develop affordable high-tech method of differential methylation screening, whose effectiveness was demonstrated in the study of various forms of cancer. Optimization of the reduction of representations is being conducted at the stage of laboratory protocol design by computer simulation experiment (*AIMS in silico* program). To optimize the conditions for the separation of elements of representation we have performed analysis of the resolution of the various protocols of capillary electrophoresis. We demonstrate that resolution capacity of non-denaturing poly(dimethylacrylamide) is reduced compared to denaturing gel, still allowing efficient separation of DNA fragments. At the same time, the use of non-denaturing polymer increases the rendering purity and significantly reduces analysis time. Stages of the comparison and genomic mapping of the epigenomic representations elements were upgraded using a developed for this purpose computer program *PeakPick* in combination with restrictase mapping methods. This research was supported by the Federal Target Program ‘Scientific and Scientific-Educational Personnel of Innovation Russia’ of the Federal Science and Innovations Agency (Rosnauka, contract no. 02.740.11.0089)

ПРИМЕНЕНИЕ ГЕПАРИНСОДЕРЖАЩЕГО ПОКРЫТИЯ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ГЕМОСОВМЕСТИМОСТИ СИСТЕМ ВСПОМОГАТЕЛЬНОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

Уваров С. П.^{1,2}, Севастьянов В.И.², Романов О. В.¹, Немец Е.А.².

¹*ФГУ «ВНИИИМТ» Росздравнадзора, отдел научных исследований и разработок медицинских изделий. 115522, Москва 522, а/я 135*

²*ФГУ «ФНЦТИО им. Ак. В. И. Шумакова» Минздравсоцразвития России, отдел по исследованию биоматериалов. 123182 Москва, ул. Щукинская, д.1*

Проблема гемосовместимости систем вспомогательного кровообращения (СВК) до сих пор остается не полностью решенной. Одним из способов решения этой проблемы является повышение гемосовместимых свойств поверхности материалов, входящих в состав СВК.

Целью работы являлось исследовать влияние нанесения покрытия, способного к прочному

связыванию гепарина за счет комплексообразования, на гемосовместимые свойства различных конструкционных материалов, широко применяемых при изготовлении СВК.

С применением сканирующей электронной микроскопии (JSM- 6360 LA (JEOL, Япония) исследовали адгезию тромбоцитов на поверхности исходных и модифицированных образцов. Адгезированные тромбоциты подразделяли на два класса: слабо активированные (одиночные клетки, клетки с псевдоподиями) и активированные (полностью распластанные тромбоциты, агрегаты). Для количественной оценки использовался относительный показатель адгезии тромбоцитов (ОПАТ) и степень активации тромбоцитов (САТ).

ОПАТ равен отношению количества клеток, адгезированных на поверхности образца к количеству клеток, адгезированных на поверхности контроля. САТ равен отношению количества активированных клеток на поверхности образца к общему количеству всех клеток, адгезированных на поверхности образца.

Показано, что во всех случаях модификация исследуемых материалов позволила значительно снизить как адгезию тромбоцитов на поверхности, так и степень активации клеток.

APPLICATION OF HEPARINE-CONTAINING COATING TO IMPROVE HEMOCOMPATIBILITY OF ASSIST BLOOD CIRCULATION SYSTEMS

S.P. Uvarov ^{1,2}, V.I. Sevastianov ², O.V. Romanov ¹, E.A. Nemets ²

¹. *The All-Russian Scientific Testing and Development Center of Medical Equipment of Roszdravnadzor, a Federal State Institution, Scientific research and development of medical production center. 115522, Moscow, P.O.B. 135*

². *Acad. V.I. Shumakov Federal Scientific Center of Transplantology and Artificial Organs of Russia's Health & Social Development Ministry, biomaterials research center. 123182, 1, Schukinskaya str., Moscow, Russia*

The problem of assist blood circulation systems (ABCS) blood compatibility remains to be unsolved. The most promising way to improve ABCS blood compatible characteristics is to treat its inner surface by biologically active agents capable to prevent blood clotting.

The aim of this study was to research the influence of heparinization on blood compatibility of various materials widely used while manufacturing ABCS. For surface treatment the coating capable for heparin complexing was used.

Adhesion and activation of human platelets on the surface of original and modified samples was investigated by means of scanning electronic microscopy (JSM- 6360 LA (JEOL, Japan). The adhered platelets were divided into two classes: weakly (single cells or cells with pseudopodia) and strongly (completely flattened platelets or aggregates) activated. To carry out the quantitative evaluation a relative index of platelet adhesion (RIPA) and the degree of platelet activation (DPA) were used.

RIPA equals to the ratio between the number of cells adhered to the sample surface and the number of cells adhered to the control surface. DPA equals to the ratio between the activated cells on the sample surface to the total amount of cells adhered to the sample surface.

Experimental results showed that heparinization of all researched materials resulted in dramatically decrease of platelets adhesion onto the surface as well as the degree of cell activation.

НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ИЗУЧЕНИЮ РЕЗИСТЕНТНОСТИ БАКТЕРИЙ К БЕТА-ЛАКТАМНЫМ АНТИБИОТИКАМ

**Егоров А.М., Рубцова М.Ю., Григоренко В.Г., Уляшова М.М.,
Халилова Ю.И., Игнатенко О.В.**

*Кафедра химической энзимологии Химического факультет МГУ имени
М.В. Ломоносова, 119991 г. Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д.3*

Продукция бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС) является одним из основных механизмов резистентности грамм-отрицательных бактерий к бета-лактамным антибиотикам. Благодаря плазмидной локализации генов распространение этих ферментов среди возбудителей инфекционных болезней человека приняло угрожающий характер. БЛРС СТХ-М и SHV типов чрезвычайно распространены у нозокомиальных штаммов в России. В последнее время наблюдается рост числа возбудителей, продуцирующих карбапенемазы – бактериальные ферменты, способные гидролизовать практически все группы бета-лактамных антибиотиков. Наличие в клинических микробиологических лабораториях надежных методов выявления продукции данных ферментов является необходимым условием эффективного инфекционного контроля и предупреждения широкого распространения данного механизма резистентности. Молекулярно-генетические методы позволяют детально охарактеризовать механизм устойчивости на основании информации о детерминантах резистентности и незаменимы при изучении механизмов распространения бета-лактамаз.

Нами разработана технология гибридизационного анализа на ДНК-микрочипах с колориметрической детекцией. Она использована для разработки микрочипов высокой плотности на стекле для генотипирования основных типов БЛРС молекулярного класса А, а также микрочипов средней плотности для идентификации основных клинически значимых бета-лактамаз и карбапенемаз молекулярных классов А, В, D. Метод идентификации генов бета-лактамаз на микрочипе характеризуется хорошей чувствительностью, специфичностью и производительностью. Он может быть использован в клинических микробиологических лабораториях и для изучения эпидемиологии β -лактамаз.

Работа выполнялась при финансовой поддержке ФЦП «Национальная технологическая база» на 2007-2011 годы (Контракт ГП/07/442/НТБ/К).

NEW APPROACHES TO THE STUDY OF BACTERIAL RESISTANCE TO BETA-LACTAM ANTIBIOTICS

**A.M. Egorov, M.Yu. Rubtsova, V.G. Grigorenko, M.M. Ulyashova,
Yu.I.Khalilova, O.V. Ignatenko**

Dept. Chem. Enzymology, Chemistry Faculty, M.V.Lomonosov Moscow State University, 119991 Moscow Russia

Production of extended spectrum beta-lactamases (ESBL) is one of the main mechanisms of resistance of Gram-negative bacteria to beta-lactam antibiotics. Due to the plasmid localization of genes spread of such resistance in humans has taken threatening values. ESBLs of CTX-M and SHV types are extremely common in nosocomial strains in Russia. In recent years, an increasing number of pathogens appeared which may produce carbapenemases - bacterial enzymes capable of hydrolyzing almost all groups of beta-lactam antibiotics. Availability of reliable methods for detecting these enzymes in the clinical microbiology laboratories is a prerequisite for effective infection control and prevention of dissemination of the mechanism of resistance. Molecular genetic methods based on the information on the determinants of resistance are helpful for detail description of resistance mechanisms and are indispensable for studying the spread of beta-lactamases.

We have developed a technology for hybridization analysis on DNA-microarrays with colorimetric detection. It was used for the development of high-density microarrays on glass for genotyping of the major types of molecular class A ESBLs, as well as medium-density microarrays for identification of the major clinically important beta-lactamases and carbapenemases of molecular classes A, B, D. A method for identifying genes of beta-lactamases on the microarrays is characterized by high sensitivity, specificity and performance. It can be used in clinical microbiology laboratories and for studying the epidemiology of beta-lactamases.

The work was supported by the Russian Federal Programme "National Technological Resources 2007-2011" (Contract ГП/07/442/НТБ/К)

СЕКЦИЯ 2. «ИММУННАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ» SECTION 2. «IMMUNE BIOTECHNOLOGY»

ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ НАНОКОНСТРУКЦИЙ. РАЗРАБОТКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ НОВЫХ АЛЛЕРГОТРОПИНОВ

Шиловский И.П., Бабахин А.А., Андреев И.В., Козмин Л.Д., Хаитов М.Р., Мартынов А.И.

ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России;

115478, Москва, Каширское шоссе, 24/2

Доклиническая оценка новых анти-астматических средств, включая аллерген-специфическую иммунотерапию (АСИТ) предполагает разработку биологической модели бронхиальной астмы (БА) на животных. Цель данного исследования – разработать безадыювантную модель IgE-зависимой бронхиальной астмы (БА) у мышей для изучения эффективности АСИТ новыми аллерговакцинами. Для моделирования БА использовали экстракт пыльцы тимотея (G6). Моделирование БА на мышах BALB/c состояло из двух этапов: сенсибилизации (С) и интраназальных аппликаций (ИА). Экспериментальных животных сенсибилизировали посредством внутрибрюшинных (в/б) инъекцией 1 мг/кг G6 (по белку) 7 раз через день. Начиная с 38 дня от начала сенсибилизации, осуществляли серию из 8 ежедневных ИА посредством интраназальных введений 50 мкл раствора G6 с концентрацией по белку 10 мг/мл. Животные контрольной группы на этапах С и ИА получали физ. раствор. С помощью ИФА выявлено достоверное повышение уровней сывороточных анти-G6 IgE-антител (АТ) с 82 нг/мл (после этапа С) до уровня 4050 нг/мл (после этапа ИА). У контрольных животных уровень IgE оставался на низком уровне в течение всего эксперимента (16 нг/мл). После ИА у экспериментальных животных, в сравнении с контрольными, отмечено увеличение гиперреактивности бронхов в ответ на в/б введение 250 и 500 мкг/кг метахолина, повышение уровня эозинофилов в бронхоальвеолярном лаваже (9,3% против 1,6%). Кроме того, у экспериментальных животных в 80% случаев выявлены характерные признаки аллергического воспаления в тканях легких. Таким образом, экспериментальная безадыювантная модель IgE-зависимой БА у мышей, адекватная таковой у человека, может быть использована для оценки новых подходов к лечению аллергической БА, включая АСИТ новыми аллерготропинами.

EVALUATION OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF NANOSTRUCTURES. DEVELOPMENT OF EXPERIMENTAL MODEL FOR ASSESSMENT OF EFFICACY AND SAFETY OF NOVEL ALLERGOTROPINS

Shilovskiy I.P., Babakhin A.A., Andreev I.V., Kozmin L.D., Khaitov M.R., Martynov A.I.

National Research Center - Institute of Immunology, Moscow, Russian Federation

115478, Moscow, Kashirskoe shosse, 24/2

Preclinical assessment of new anti-asthmatic drugs including allergen-specific immunotherapy (ASIT) supposes development of animal model of bronchial asthma (BA). The purpose of this study is to develop of adjuvant-free IgE-mediated murine model of asthma (MMA) for assessment efficacy of ASIT with new allegrovaccines. The extract of timothy grass pollen (G6) was used for modeling of MMA. Modeling of MMA using BALB/c mice consisted of two stages: sensitization (S) and intranasal applications (IA).

Experimental animals were sensitized by 7 intraperitoneal (i.p.) injections every other day with 1 mg/kg of G6 (in protein equivalent). Since 38 day from the beginning of sensitization 8 daily intranasal applications with 50 µl in concentration 10 mg/kg of G6 was performed. Animals of control group during stages S and IA received saline. Using ELISA it was detected elevation of serum anti-G6 IgE antibody (AB) levels from 82 ng/ml (after S stage) till 4050 ng/ml (after IA stage). Animals of control group demonstrated low level anti-G6 IgE AB during all period of observation (16 ng/ml). The animals of experimental group in compare to the control group after IA demonstrated strengthening of bronchial hyper-reactivity in response to i.p. injections of metacholin (250 and 500 µg/kg) and increased number of eosinophils in broncho-alveolar lavage fluid (9.3% versus 1,6%). In addition 80% of animals in experimental group had signs of allergic inflammation in lung tissues. Thus experimental adjuvant-free model of IgE-mediated asthma similar to that of humans can be used for the assessment of new approaches in the treatment of allergic BA including ASIT with novel allergotropins.

СУВЕРЕННЫЙ ИММУНИТЕТ – ОСНОВА НОВОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ

Карамов Э.В., Петров Р.В.

Институт иммунологии ФМБА России

Недавно установлено, что в клетках высших млекопитающих, включая человека, есть специфические гены, кодирующие внутриклеточные автономно-функционирующие факторы защиты. Эти белки осуществляют эффективную защиту клетки от вирусов, но при этом не вписываются в классические схемы врожденной и адаптивной иммунной системы. Уже выявлено 28 клеточных защитных факторов, воздействующих на разные стадии жизненного цикла ВИЧ.

Мы предлагаем называть эту первую линию обороны от вирусной агрессии суверенным иммунитетом. Можно предположить, что суверенный иммунитет является еще не выявленной частью индуцибельной системы врожденного иммунитета, т.к. в некоторых тканях запуск экспрессии генов факторов суверенного иммунитета все же зависит от модулирующего действия интерферона I типа.

Ингибирование интерферонов или сигнальных путей Toll-рецепторов путем активации клеточных факторов IRF, STAT или NFκB – это общий механизм, с помощью которого вирусы млекопитающих ускользают от действия врожденного иммунитета. За последние годы открыта новая форма иммунитета, новая ветвь врожденного иммунитета, - суверенный иммунитет, который отвечает за автономный, собственный клеточный иммунитет, нацеленный, прежде всего, на защиту от ретровирусов.

Модуляция факторов суверенного иммунитета с помощью биотехнологических приемов, выключение генов вирусных антагонистов с помощью антисенс- и si-РНК позволит разработать новые подходы в борьбе с вирусными инфекциями. Новые знания о механизмах иммунной защиты могут стать основой для разработки нового поколения биотехнологических продуктов.

НОВЫЕ ПОДХОДЫ В ПРЕДСТАВЛЕНИИ ИММУНОДОМИНАНТНЫХ БЕЛКОВ ОБОЛОЧКИ ВИЧ 1

Сидорович И.Г., Гасанов В.А., Игнатъева Г.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «ГНЦ «Институт иммунологии»

Федерального медико-биологического агентства

115478, Москва, Каширское шоссе 24/2

На сегодняшний день во всем мире проблема создания вакцины против ВИЧ(СПИД) остается не решенной. Все представленные ранее вакцины не дают должного результата – защиты от вируса. Наиболее перспективными признаны вакцины на основе рекомбинантных белков, копирующих поверхностные антигены вируса, которые создаются с помощью генноинженерных подходов. Но, и для этих вакцин основным недостатком остается отсутствие нейтрализации вируса, что связано с некоторыми уникальными свойствами ВИЧ.

Ряд антигенов ВИЧ проявляются в момент инфицирования лишь на небольшое время, которого недостаточно для иммунной реакции на них – образования нейтрализующих антител.

Но, у людей с развившимся СПИДом удастся выявить незначительное количество антител к этим участкам, в частности к эпитопам 2F5 и 4E10 корового белка gp41, которые способны нейтрализовать нативный вирус. Концентрация данных антител крайне мала, вирус уже выстроился в геном, т.о. при развившемся СПИДе данные антитела уже не эффективны.

Следовательно, для получения нейтрализации необходимо предоставить длительный контакт данных участков с иммунной системой. Некоторые, из создаваемых вакцин копируют последовательности 2F5 и 4E10, делая их доступными для иммунной системы, но, к сожалению, к значимым результатам это пока не привело. Вероятно, это связано с тем, что все подобные вакцины несут в себе линейные эпитопы антигенов вируса, представленные мономерной молекулой. Структура же вирусных антигенов намного сложнее. Поверхностные антигены вируса помимо сложной пространственной структуры являются еще и тримерами, что на данный момент не учтено ни в одной вакцине.

Мы создали молекулу на основе природного тримера ФНО (фактор некроза опухоли) и эпитопов 2F5 и 4E10. Данная молекула способна тримеризоваться и представлять эпитопы ВИЧ1 в виде тримера, т.е. в форме максимально соответствующей нативной. Также в состав данной белковой молекулы была включена линейная последовательность из шести гистидинов, что позволяет проводить более качественную очистку.

Исследовав полученный белок, мы подтвердили тримерную структуру с помощью создания гетеротримеров и выделением их на Ni-NTA сефарозе.

Отсутствие модификаций аминокислот подтвердили масс-спектрами триптического гидролизата в режиме MALDI-TOF.

Нами была исследована специфичность белка TNF-(2F54E10). На ИФА белок специфически взаимодействовал с сыворотками людей, которые длительное время являлись ВИЧ-инфицированными. Все отрицательные сыворотки из коллекции Института были определены как отрицательные.

Также показано специфическое окрашивание иммуноблота сыворотками из коммерческих наборов. На них также можно детектировать наличие тримера.

Сейчас нами проводятся работы по изучению иммуногенности белка TNF-(2F54E10).

NEW APPROACHES TO THE REPRESENTATION OF IMMUNODOMINANT MEMBRANE PROTEIN OF HIV-1

Sidorovich I.G., Gasanov V.A., Ignateva G.A.,
Institute of Immunology, Moscow;

The anti-HIV vaccines are unresolved problem at all. One of the trouble is too much time before neutralizing antibodies performed to necessary concentration.

One more trouble is masking form of neutralizing epitopes of virus. Some such epitopes unmasked only for the very short time during the process of virus entry through cell membrane. Immune system don't have time to recognize this epitope and antibodies don't have time to couple up it if present.

We manufacture the recombinant protein, TNF-(2F54E10), consist of TNF derivative, 2F5 and 4E10 epitopes of gp41 HIV-1 and six histidine's residues. TNF derivative provide self-contained trimerization of protein, 2F5 and 4E10 are known as neutralizing epitopes, and histidine's sequens make possible the better purification of product with procedure on Ni-NTA sepharose. The triptic hydrolyzate of TNF-(2F54E10) protein was analysed by mass-spectrometry in MALDI-TOF technology. In ELISA the TNF-(2F54E10) give positive reaction with 6 sera from HIV-infected long-lived persons, and don't react with HIV-antibody negative sera.

At present we investigate immunogenicity of our product, TNF-(2F54E10).

ПЕРСПЕКТИВЫ И ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ ПРОТИВ АНТИГЕНОВ CD20 И TN В ИММУНОТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ЦЕЛЯХ

Филатов А.В.

*«ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России,
115478, Москва, Каширское шоссе, д.24, корп. 2*

С момента появления гибридной технологии моноклональные антитела сразу стали рассматриваться как продукт перспективный для создания иммунотерапевтических препаратов, однако по настоящему широкое использование моноклональных антител в иммунотерапии началось значительно позже. Активное применение антител сдерживалось отсутствием доступной методики перевода антител из формата мышинового иммуноглобулина в человеческий, так называемой методики гуманизации антител. Кроме того при создании нового иммунотерапевтического препарата должна быть точно выбрана специфичность антител как в смысле целевого антигена, так и конкретного эпитопа этого антигена. Пожалуй самым удачно выбранным антигеном оказался белок CD20, который маркирует все В-лимфоциты. На основе антител против антигена CD20 были созданы, по крайней мере, 7 различных препаратов, из которых наиболее известным является Retuximab. Эти препараты с успехом используются при лечении неходжкинских лимфом. Удивительным является то, что В-клетки при лимфолейкозах несут на своей поверхности целый ряд маркеров, но именно CD20 оказался наиболее благоприятной мишенью для удаления этих клеток с помощью антител. Существуют несколько предположений о возможных механизмах действия анти-CD20 антител. Ранее нами было замечено, что анти-CD20 антитела обладают уникальной способностью при связывании с антигеном транслоцировать его из жидкой части мембраны в липидные микродомены или рафты. Нами было сделано предположение, что эта особенность анти-CD20 антител связана с высоким иммунотерапевтическим потенциалом этих антител. Позднее это предположение было подтверждено нами экспериментально. Раскрытие механизма действия анти-CD20 антител открывает путь к поиску новых более эффективных клонов антител.

Другой перспективной мишенью для создания анти-опухолевых препаратов является так называемый Tn антиген. Этот антиген представляет собой остаток углевода N-ацетил-галактозамина присоединенный в процессе O-гликозилирования к серину или треонину полипептидной цепи. К настоящему времени Tn антиген является самым специфичным антигеном при маркировки опухолей. В частности он маркирует более 90% всех карцином. В нормальных клетках этот антиген закрывается другими углеводными остатками, которые присоединяются к N-ацетил-галактозамину в процессе удлинения боковых углеводных цепей. В опухолевых клетках часто происходят мутации в шапероне Cosmc, который контролирует правильность сборки трансферазы, ответственной за удлинение углеводной цепи, поэтому Tn антиген обнаруживается исключительно на опухолевых клетках. Нами были получены моноклональные антитела, которые распознают Tn антиген на трансформированных лимфоидных клетках. Было обнаружено, что белками-носителями Tn антигена могут выступать молекулы CD43, CD45 и CD162. С использованием гликочипов, несущих более 1500 различных гликопептидов, отличающихся как по аминокислотному составу, так и по степени и порядку гликозилирования, было показано, влияние микроокружения на формирование Tn эпитопа. Полученные нами антитела против Tn антигена можно рассматривать как реагенты перспективные для создания на их основе новых противоопухолевых препаратов.

PERSPECTIVES FOR POSSIBLE USE OF MONOCLONAL ANTIBODIES AGAINST CD20 AND TN IN IMMUNOTHERAPY

Filatov A.V.

*NRC – Institute of Immunology, FMBA of Russia,
115478, Moscow, Kashirskoye shosse, 24, bld.2*

Since the moment when hybridoma technology had appeared monoclonal antibodies had been considered as a perspective tool to develop immunotherapeutical preparations. However a real wide spread and use of monoclonal antibodies in immunotherapy area had started up in a more late period. A limited use of antibodies was due the absence of available technique to transfer the antibodies from mice globulin format into human one - the so call “humanization” method. Moreover when a new immunotherapeutical preparation is being developed the antibodies’ specificity should be selected with precision both for target antigen and for the given antigenic epitope. The most relevant antigen for that purpose was probably CD20 protein as it marked B-lymphocytes. Based on the antibodies against CD20 antigen at least 7 various preparations were developed, Retuximab is the best known among them. The given preparations showed very good results in treatment of non-Hodgkin lymphomas. It is very interesting that B-cell malignancies bear a range of surface markers but only CD20 appear a suitable target to eliminate the cells by means of antibodies. There are some suggestions about possible mechanisms of anti-CD20 antibodies effect. Previously we had observed that when binding to the antigen the anti-CD20 antibodies showed a unique capacity to translocate the antigen from a liquid membrane into lipid microdomains or so called rafts. We suggested that the latter was correlated with their high immunotherapeutical capacity. More lately the suggestion was confirmed by our experimental data. Elucidation of the mechanism of anti-CD20 antibody’s effect opens new ways to search for more effective antibody clones.

The other perspective target to develop anti-tumor preparations is the so called Tn antigen. The antigen is a residue of N-acetyl-galactose-amin carbohydrate added to polypeptide chain’s serine or threonine during O-glycosylation. At present Tn antigen is thought the most specific one among tumor markers. For example Tn antigen marks over 90% of all carcinomas. In normal cells the antigen is covered by other carbohydrate residues, which join to N-acetyl-galactosamine when lateral carbohydrate chains are

being lengthened. In tumor cells mutations often take place in Cosmc shaperon which controls transferase assembling responsible for carbohydrate chain alonggation. Therefore Tn antigen is exclusively revealed in tumor cells. We generated monoclonal antibodies recognizing Tn antigen in transformed lymphoid cells. CD43, CD45, and CD162 molecules were determined as carriers of the Tn antigen. By means of glycol-chips bearing over 1500 of glycopeptides different by both amino-acid compositions and glycosylation degree and order we have showed that microenvironment effected Tn epitope formation. The obtained antibodies against Tn antigen could be thought perspective reagents to develop original anti-tumor preparations.

РАЗРАБОТКА ЛИПОПОЛИСАХАРИДНОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ДИЗЕНТЕРИИ ФЛЕКСНЕРА

Львов В.Л.¹, Лёдов В.А.¹, Шехт М.Е.¹, Рахманов Р.С.², Ёлкина С.И.³, Головина М.Э.¹, Апарин П.Г.¹

¹ ГНЦ Институт иммунологии ФМБА России,
Москва 115478, Каширское шоссе дом 24 корп. 2

² ННИИГП Нижегородский НИИ гигиены и профпатологии МЗ РФ,
Нижегород, ул. Семашко дом 20

³ Институт вакцин и сывороток им. И.И.Мечников,
Москва, М. Казенный пер., 5А

Shigella – грамотрицательный энтероинвазивный микроорганизм, вызывающий шигеллез, является главной причиной диарреи и дизентерии и чаще всего поражает детей в возрасте до пяти лет. Ежегодно в мире, особенно в развивающихся странах, регистрируется около 180 миллионов заболевших шигеллезом и около миллиона смертельных случаев. Разработка методов лечения и профилактики шигеллеза является одним из приоритетных направлений деятельности Всемирной Организации Здравоохранения. Несмотря на усилия многих научных центров, лицензированной вакцины против шигеллеза Флекснера не создано.

До недавнего времени в качестве кандидатных рассматривались экспериментальные вакцины на основе живых аттенюированных штаммов шигелл, а также конъюгированные полисахарид-белковые вакцины, в состав которых входят О-специфические полисахаридные антигены, выделенные из эндотоксичных липополисахаридов (ЛПС) шигелл или их химически синтезированные олигосахаридные аналоги.

Нами разработан альтернативный подход к созданию антишигеллезной вакцины. В его основе лежит гипотеза о том, что как компонент кандидатной вакцины может быть использован низко эндотоксичный ЛПС шигелл, который, как показали предварительные исследования, может быть получен из природного ЛПС. Так как одним из наиболее распространенных и опасных возбудителей шигеллеза является *S.flexneri* 2a, в качестве первого примера использования низко эндотоксичных ЛПС для создания вакцинных препаратов был выбран ЛПС из этого микроорганизма. При изучении препаратов низко эндотоксичных ЛПС *S.flexneri* 2a, полученных с помощью обоих методов, было установлено, что они при парентеральном введении экспериментальным животным способны индуцировать высокий уровень специфических иммуноглобулинов классов А, G и М, что является неременным требованием к антишигеллезным вакцинам. Законченная к настоящему времени первая фаза клинических испытаний показала высокую безопасность препаратов низко эндотоксичных ЛПС.

LIPOPOLYSACCHARIDE VACCINE FOR FLEXNERI SHIGELLOSIS DEVELOPMENT

L'vov V.L.¹, Ledov V.A.¹, Shecht M.E.¹, Rakhmanov R.S.², Elkina S.I.³, Golovina M.E.¹,
Aparin P.G.¹

¹ National Research Center - Institute of Immunology, Moscow, Russian Federation
115478, Moscow, Kashirskoe shosse 24/2

² Nizhny Novgorod Research Institute of Hygiene and Occupational Health Ministry of Russia,
Nizhny Novgorod, ul. Semashko, 20

³ Mechnikov Institute of Vaccines and Sera.
Moscow, M. Kozenyi per. 5A

Shigella is a gram negative enteroinvasive microorganism which causes of shigellosis. It is a major cause of diarrhea and dysentery and more often attacks children younger than five years old. Near 180 millions shigellosis cases and near 1 million of fatal cases are registered annually in the world especially in developing countries. Methods of shigellosis treatment and prophylaxis are of priority directions of WHO activity. Despite of efforts of different scientific centers till now the licensed vaccine against Flexneri shigellosis isn't developed.

Before now live attenuated Shigella strains and polysaccharide-protein conjugated vaccines on a basis of O-specific polysaccharide (from endotoxic lipopolysaccharide (LPS)) and its chemical synthesized oligosaccharide analogs were discussed as the candidate vaccines for shigellosis.

We propose an alternative approach for the vaccine for shigellosis production. The main hypothesis is that low endotoxic Shigella LPS may be used as the component of such candidate vaccine. Low endotoxic Shigella LPS may be isolated from native LPS. As one of the most widespread and dangerous shigellosis causative agents is *S. flexneri* 2a, LPS from this microorganism was chosen as the first example to use low endotoxic LPS for vaccine development. Low endotoxic LPSs *S. flexneri* 2a were obtained by both methods. Parenteral introducing of these preparations in experimental animals induces high level of specific immunoglobulins classes A, G and M (that is the strict requirement to vaccines for shigellosis). The first stage of clinical trials demonstrated high safety of low endotoxic LPS preparations.

ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ РНК – НОВЫЙ ПОДХОД К ПРОТИВОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ

Хаитов М.Р.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «ГНЦ «Институт иммунологии»
Федерального медико-биологического агентства
115478, Москва, Каширское шоссе 24/2

Интерференция РНК является мощным механизмом сайленсинга генной экспрессии на уровне мРНК. В настоящее время доступны два варианта утилизации механизма интерференции РНК для блокады генной экспрессии. Первый вариант подразумевает внедрение в клетку молекул миРНК (малые интерферирующие РНК), активирующих сайленсинг-комплекс RISC и направляющих его к специфической мРНК мишени. Второй вариант основан на конструкции плазмидной ДНК, экспрессирующей шпилечные РНК с промоторов U6 или CMV. Внутри клетки шпилечная РНК процессируется рнказами Drosha и Dicer до миРНК и запускает процесс интерференции РНК. В данном исследовании нами был модифицирован лентивирусный вектор pGIPZ, экспрессирующий tGFP-IRES-Puro-shRNA^{mir30} кассету путем дополнительного введения сайта рестрикции BamHI. Данная модификация позволила клонировать специфические последовательности шпилечных РНК

в вектор pGIPZ, используя сайты рестрикции XhoI/BamHI. Три различных варианта шпилечной РНК против фосфопротеина Р респираторно-синцитиального вируса (РСВ) и контрольная шпилечная РНК против человеческого CD43 были сконструированы и клонированы в вектор pGIPD. Клетки МА-104 были успешно трансдуцированы полученными конструкциями. Полученные клеточные линии будут использованы нами в дальнейшем для изучения противовирусной активности разработанных генетических конструкций.

RNA INTERFERENCE – A NOVEL APPROACH FOR ANTIVIRAL THERAPY

M.R. Khaitov

*National Research Center - Institute of Immunology, Moscow, Russian Federation
115478, Moscow, Kashirskoe shosse 24/2*

Interfering RNA (RNAi) is a powerful tool to silence gene expression on the level of mRNA. To knock-down gene expression by using RNAi two major methods of mRNA silencing exist. First method utilizes siRNA (small interfering RNA), a readily processed dsRNA, that enters RISC complex and destroy target mRNA after transfection into the cells. The second method based on the construction of plasmid DNA that expresses shRNA (short harpin RNA) from U6 or CMV promoter. shRNA gets processed by Drosha and Dicer RNAses inside the cell before it translocates to the cell cytoplasm and affects the level of target RNA. In this study we modified lentiviral vector pGIPZ expressing tGFP-IRES-Puro-shRNA^{mir30} cassette by introducing BamH I restriction site downstream of this cassette. This modification makes possible to clone specific shRNA sequences in pGIPZ vector using XhoI/BamHI restriction sites instead of the original recombination. Three shRNAs against phosphoprotein P of respiratory sinthitial virus (RSV) and shRNA against human CD43 as a control were generated and cloned into modified so-called pGIPD vector. Monkey kidney cells MA-104 were stably transduced with four shRNA constructs. In conclusion, the generated lentiviral vector pGIPD can be successfully used for efficient gene silencing and virus replication in a broad variety of cells.

ТРАНСФЕКЦИЯ В КЛЕТОЧНЫЕ ЛИНИИ, ПРОДУЦИРУЮЩИЕ IGM, КДНК СЕКРЕТОРНОГО КОМПОНЕНТА ЧЕЛОВЕКА

Самойлович М.П., Климович Б.В., Вартамян Н.Л., Пиневиц А.А., Крутецкая И.Ю., Шашкова О.А., Грязева И.В., Климович В.Б.

ФГУ «РНЦРХТ» МЗСР России, 197758, Санкт-Петербург, Песочный-2, Ленинградская 70

Секреторный IgM (sIgM) представляет собой комплекс, который образуется в результате отщепления экстраклеточного фрагмента рецептора полимерных иммуноглобулинов (pIgR) и нековалентного присоединения его в виде секреторного компонента (SC) к молекулам IgM. Свойства sIgM остаются мало изученными, что обусловлено трудностями выделения его из биологических жидкостей и отсутствием культивируемых клеток, секретирующих этот комплекс. В работе предприняты попытки создания клеточных линий – продуцентов sIgM.

На основе плазмиды pcDNA3.1 сконструирован вектор, содержащий под промотором CMV фрагмент кДНК pIgR человека, который кодирует лидерный пептид из 18 а.к.о. и последовательность из 607 а.к.о., соответствующую SC.

Вектор трансфицировали в клетки лимфобластоидных линий Namalva и NC-37, продуцирующих IgM человека. В процессе селекции клеток в среде культивирования был выявлен sIgM в низких концентрациях. Трансфекция индуцировала транзиторную продукцию sIgM, которая прекращалась по истечении 3-х недель. Неспособность продуцентов к росту при низкой плотности посева не позволила получить линии-продуценты sIgM человека.

Тот же вектор был трансфицирован в клетки мышиных гибридом – продуцентов IgM антител против уромодулина человека. В результате селекции на генетичине в исходно гомогенной популяции гибридом были обнаружены клетки, синтезирующие SC человека, а также клетки, утратившие синтез мю-цепей. Не были выявлены культуры, продуцирующие одновременно SC человека и IgM мышей или комплекс sIgM. Полученные культуры различались по продуктивности и стабильности, среди них были отобраны постоянные линии-продуценты SC человека

Работа поддержана грантом РФФИ № 08-04-00513.

THE TRANSFECTION OF IGM-PRODUCING CELL LINES WITH HUMAN SECRETORY COMPONENT CDNA

Samoylovich M.P., Klimovich B.V., Vartanjan N.L., Pinevich A.A., Krutetskaja I.Y., Shashkova O.A., Griazeva I.V., Klimovich V.B.

*Russian Research Center for Radiology and Surgical Technologies,
197758, St.-Petersburg, Pesochny-2, Leningradskaya 70*

Secretory IgM (sIgM) represents a supermolecular complex, formed as a result of noncovalent binding of proteolytically cleaved polymeric Ig receptor (pIgR) extracellular domain referred as secretory component (SC) to IgM molecule. The properties of sIgM are poorly investigated due to the complications of its isolation from biological fluids and the absence of stable sIgM-producing cell lines. The attempts to construct such cell lines by means of gene-transfer technology are reported herein.

A pcDNA3.1-derived plasmid vector containing partial pIgR cDNA corresponding to leader peptide (18 aa) and SC (607 aa) driven by CMV promoter was constructed and transfected into IgM-producing human lymphoblastoid cell lines Namalva and NC-37. The production and secretion of sIgM into culture supernatants was detected by ELISA starting from the 7th day after transfection and selection on geneticin and was lasted for three weeks only. The transfection of cell lines with SC-coding construct was concluded to result in transient production of sIgM. The inability of used lymphoblastoid lines to be cloned hampered the further establishment of permanent cell lines producing human sIgM.

The same construct was used to transfect murine hybridoma cell line producing IgM monoclonal antibodies against human uromodulin. As a result of transfection and subsequent selection on geneticin the initially homogenous cell population diversified: cells producing human SC as well as cells lacking murine mu-chain synthesis arose. The cells producing simultaneously human SC and murine IgM or forming chimeric sIgM were not detected. Several clones characterized by stability and high productivity gave rise to new stable cell lines secreting human SC.

The work was supported by RFBR grant № 08-04-00513.

**СЕКЦИЯ 3. «БИОТЕХНОЛОГИЯ И СЕЛЬСКОЕ ХОЗЯЙСТВО»
SECTION 3. “BIOTECHNOLOGY AND AGRICULTURE”****ПЛЕНАРНЫЕ ДОКЛАДЫ
PLENARY REPORTS****ЭВОЛЮЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ЦЕЛОСТНОСТЬ СИМБИОЗОВ:
ОТ СИСТЕМНОЙ БИОЛОГИИ К БИОТЕХНОЛОГИИ НАДВИДОВЫХ КОМПЛЕКСОВ****Проворов Н.А., Воробьев Н.И., Тихонович И.А.***ГНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии РАСХН,**196608, Санкт-Петербург-Пушкин, шоссе Подбельского, д.3, e-mail: provorov@newmail.ru*

В настоящее время становится все более очевидным, что генетический контроль сложных экологических отношений не может быть адекватно представлен в традиционных рамках “одновидовой” генетики свободноживущих (унитарных) организмов. Первым шагом к изучению генетической организации и разработке методов управления продуктивностью надвидовых комплексов симбиотического и биоценотического типов является формулировка задач и методологии симбиогенетики, изучающей генетический контроль симбиотических отношений. В ее основу положено представление о симбиозе как и надвидовой системе изменчивости и наследственности (симбиогеноме), контролирующей развитие новых признаков, которые отсутствуют у свободноживущих организмов и принципиально расширяют их адаптивные возможности. Изучение симбиогеномов – первый шаг к генетическому анализу и конструированию микробиомов и метагеномов – надвидовых генетических систем, характерных для многокомпонентных комплексов биоценотического типа, таких как микрофлора рубца, эндофитные и ризосферные сообщества, а также консорции почвенных микроорганизмов. Использование подходов симбиогенетики в экологии и агробиологии связано с развитием биотехнологий взаимодействия растений и животных с полезной микрофлорой, определяющего питание своих хозяев, регуляцию их развития, а также устойчивость к биотическим и абиотическим стрессам.

**EVOLUTIONARY AND GENETIC INTEGRITY OF SYMBIOSES: FROM SYSTEM BIOLOGY
TO BIOTECHNOLOGIES OF THE OVER-SPECIES ASSOCIATIONS****Provorov N.A., Vorobyov N.I., Tikhonovich I.A.***All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, Podbelsky Sh. 3, 196608, St.-Petersburg, Russia, e-mail: provorov@newmail.ru*

At present it becomes clear that genetic control of complicated ecological interactions can not be adequately addressed within the frames of traditional single-species genetics of free-living (unitary) organisms. The first step to revealing the genetic control and managing the productivity of the super-species systems of symbiotic and biocenotic types is to formulate the aims and methods of symbiogenetics, a new discipline analyzing the genetic control of inter-species interactions. It is based on the view of symbiosis as of an super-species system for variability and heredity (symbiogenome) controlling the development of novel properties lacking in the free-living organisms and extending their adaptive potentials. Analysis

of symbiogenomes represents the first step towards dissection of metagenomes and microbiomes which constitute the hereditary systems of the biocenotic communities (microflora of rumen, endophytic and rhizospheric communities, soil microbial consortia). In ecology and agrobiolgy, the approaches of symbiogenetics provide the biotechnologies for interactions of plants and animals with beneficial microbes ensuring the host nutrition, biocontrol of pests, developmental regulation and stress resistance.

ПОЛУЧЕНИЕ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ – ПРОДУЦЕНТОВ ИММУНОМОДУЛЯТОРОВ

Гусева О.В., Ткаченко А.А., Савельева Н.В., Емельянов В.В., Лутова Л.А.

*Санкт-Петербургский государственный университет,
199034, СПб, Университетская наб. 7/9, биолого-почвенный факультет, кафедра генетики и селекции*

Интерфероны являются одними из важных белков крови. Они обладают антивирусной активностью, которая связана с подавлением трансляции вирусных РНК в клетках, а так же проявляют иммуномодулирующий и противоопухолевый эффекты. Широкий спектр антивирусного действия интерферонов позволяет использовать данные белки в терапии вторичных иммунодефицитов, что делает интерфероны коммерчески важными белками.

В нашей лаборатории проводятся работы по созданию растений-продуцентов бычьего γ -интерферона. Препараты, содержащие этот белок, используют в ветеринарии для профилактики лейкемии и туберкулеза среди крупного рогатого скота. Для трансформации растений был создан вектор, содержащий ген бычьего γ -интерферона под контролем конститутивного промотора 35S. Мы получили трансгенные растения-продуценты γ -интерферона быка на основе табака (*Nicotiana tabacum* L.). Были отобраны наиболее перспективные линии (InterB.13, InterB.6 и Inter311.2), растения которых показали стабильное наследование и экспрессию целевого гена в ряду поколений. К настоящему моменту получены трансгенные растения T_3 поколения, которые можно использовать как биореакторы γ -интерферона быка.

Параллельно с созданием растений-продуцентов бычьего γ -интерферона на основе табака мы выполняем работу по созданию “съедобной вакцины”, которую можно будет использовать в качестве пищевой добавки во время проведения ежегодных профилактических мероприятий вместо вакцинаций. Для создания “съедобной вакцины” использовали сельскохозяйственные культуры горох и морковь. В результате экспериментальной работы были получены трансгенные растения гороха с геном бычьего γ -интерферона, которые стабильно наследуются в поколениях $T_0 - T_3$. Таким образом, к настоящему моменту имеются данные для проведения последующих этапов работы – тестированию “съедобной вакцины” на животных системах.

THE MAKING OF TRANSGENIC PLANTS WHICH ARE PRODUCERS OF IMMUNOMODULATORS

Guseva O.V., Tkachenko A.A., Savelyeva N.V., Emelyanov V.V., Lutova L.A.

St.Petersburg State University,

199034, St.Petersburg, Universitetskaya emb. 7/9,

faculty of biology and soil science, dep. of genetic and selection

Interferons are one of important blood proteins. They have antiviral activity which represses a virus RNA translation in cells and demonstrate immunomodulate and antitumor effects. Wide spectrum of antiviral action of interferons makes it possible to use these proteins in therapy of second immunodeficiencies.

In our laboratory research works to make ball gamma-interferon plant producers were performed. Medicine, containing of this protein, apply in veterinary for prophylactic of leukemia and tuberculosis among cattle. The construct containing ball gamma-interferon gene under 35S promoter was made and used for plant transformation. We made tobacco transgenic plant (*Nicotiana tabacum* L.), producing ball gamma-interferon. The most perspective lines (Inter B.13, InterB.6 and Inter311.2) were selected. Plants that belong to these lines demonstrated stable inheritance and expression of heterologous gene during several generations. Nowadays transgenic plants of generation 3 were made and it is possible to use these plants as bioreactors of ball gamma-interferon.

In parallel with making tobacco ball gamma-interferon plant-producers we perform a work to create “edible vaccines”, which can be use as a food supplement during yearly prophylactic instead usual injections. To make “edible vaccines” carrot and pea crops were used. In experimental works pea transgenic plants containing ball gamma-interferon gene was made. Heterologous gene was inheritance during 3 generation also. Thus, we have data for performing of next step of our work which is the test of “edible vaccines” on laboratory animals.

СЕКЦИЯ 3.1. «ИНТЕГРАЦИЯ ГЕНОМОВ В БИОСИСТЕМАХ – ОСНОВА ФОРМИРОВАНИЯ ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ И ЭКОЛОГИЧЕСКИ УСТОЙЧИВЫХ АГРОЦЕНОЗОВ»

SECTION 3.1. “GENOMES INTEGRATION IN BIOSYSTEMS – BASIS FOR THE FORMATION OF THE HIGH-PRODUCTIVE AND ECOLOGICALLY SUSTAINABLE AGROCENOSIS”

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ ORAL REPORTS

РОЛЬ ЦИАНОБАКТЕРИЙ В ТЕХНОГЕННЫХ ЭКОСИСТЕМАХ ЮГА РОССИИ

Батаева Ю.В.¹, Держинская И.С.²

¹ГОУ ВПО «Астраханский государственный университет»,
414056, г. Астрахань, ул. Татищева, 20а;

²ФГОУ ВПО «Астраханский государственный технический университет»,
414056, г. Астрахань, ул. Татищева, 16

Своеобразное расположение территории Астраханской области, ее аридные климатические условия, интенсивное освоение газовых, нефтяных, гипсовых, соляных месторождений влияют на разнообразие водных и почвенных территорий, среди которых увеличивается доля природно-техногенных и техногенных.

Цианобактерии являются составной частью практически всех водных и почвенных экосистем, в том числе экстремальных и техногенных. В водоёмах и почвах на техногенных территориях, цианобактерии, образуя циано-бактериальные сообщества, способствуют, в процессе происходящих сукцессий, развитию экосистемы, повышению биоразнообразия, продуктивности, окислительного уровня, деструкции в ней ксенобиотиков и токсикантов. Такая деятельность цианобактерий может рассматриваться как приемы естественной биоремедиации, единственно возможные для уменьшения отрицательного воздействия таких объектов на окружающую среду. Общеизвестно, что при увеличении техногенной нагрузки на водоемы и почвы в составе микроценозов увеличивается доля цианобактерий. В природно-техногенных и техногенных водоемах биомасса цианобактерий может достигать 90%, по сравнению с природными. Ведущее место по численности и биомассе принадлежит цианобактериям рода *Oscillatoria*. В составе фитопланктона реки Волга доминируют представители родов *Oscillatoria*, *Gloeocapsa*, *Microcystis*, *Anabaena*, в соленых техногенных водоемах – *Phormidium*, *Oscillatoria*, *Spirulina*, *Gloeocapsa*.

Основную долю почвенных экосистем составляют виды родов: *Phormidium* (24), *Oscillatoria* (16), *Microcystis* (16), *Gloeocapsa* (15), *Anabaena* (10).

Анализ видового состава цианобактерий исследуемых водоемов и почв показал, что род *Oscillatoria* развивается в самом широком диапазоне гидро- и агрохимических факторов, например, при концентрации сероводорода от 0,0003 г/л до 0,04 г/л и минерализации от 0,2 г/л до 383,7 г/л.

ROLE CYANOBACTERIA IN TECHNOGENIC ECOSYSTEMS OF THE SOUTH OF RUSSIA

Bataeva J.V.¹, Dzerzhinskaya I.S.²¹SEI HPE «Astrakhan State University», 414056, Astrakhan, 20a, Tatischeva Street, ²FSEI HPE «Astrakhan State Technical University», 414056, Astrakhan, 16, Tatischeva Street

The original arrangement of the territory of Astrakhan region, its arid climatic conditions, intensive development of gas, oil, gypsum and hydrochloric deposits influence to a variety of water and soil territories, among which the number of natural-technogenic and technogenic part increases.

Cyanobacteria are the component of almost all water and soil ecosystems, including extreme and technogenic. In reservoirs and soils at technogenic territories, cyanobacteria, forming cyano-bacterial communities, promote, in the course of occurring successions, to ecosystem development, increasing of a biodiversity, efficiency, oxidizing level, destruction in it of xenobiotics and toxicants. Such activity cyanobacteria can be considered as receptions of natural purification, the only possible for reduction of negative influence of such objects on environment. It is well-known, that when increasing technogenic loading at reservoirs and soils in structure microcenose the part of cyanobacteria increases. In nature-technogenic and technogenic reservoirs the biomass of cyanobacteria can be reached up to 90 %, in comparison with the natural. The leading place of quantity and biomass belongs to cyanobacteria *Oscillatoria*. In the composition of phytoplankton of the river Volga the representatives of types *Oscillatoria*, *Gloeocapsa*, *Microcystis*, *Anabaena* - dominate, *Phormidium*, *Oscillatoria*, *Spirulina*, *Gloeocapsa* – in salty technogenic reservoirs.

The basic part of soil ecosystems compound such kinds of types: *Phormidium* (24), *Oscillatoria* (16), *Microcystis* (16), *Gloeocapsa* (15), *Anabaena* (10).

The analysis of species composition of cyanobacteria in investigated reservoirs and soils has shown that *Oscillatoria* develops in the widest range of hydro- and agrochemical factors, for example, at concentration of hydrogen sulfide from 0,0003 g/l to 0,04 g/l and mineralizations from 0,2 g/l to 383,7 g/l.

ПЕРЕНОС Т-ДНК АГРОБАКТЕРИЙ В ГЕНЕРАТИВНЫЕ КЛЕТКИ КУКУРУЗЫ

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, факс: (8452) 970383;² Саратовский государственный университет им Н.Г. Чернышевского, ул. Астраханская 83, Саратов, 410012, Россия,

Целью данной работы было экспериментальное и компьютерное исследование возможности переноса Т-ДНК в генеративные клетки кукурузы. Экспериментально трансформацию оценивали у проростков, полученных из зерен после нанесения суспензии клеток *Agrobacterium tumefaciens* штаммов LBA4404, AGL0 (pBi2E, pA2069, pBi-RNS, pE35S-egfp) с активированными *vir*-генами на предварительно изолированные пестичные нити кукурузы, с последующим опылением. Для проверки на контаминацию агробактериями проводили ПЦР-тест на гены *virC1* и *virC2*, расположенные вне Т-ДНК. Амплификация маркерных генов выявила от 0.2 до 16% ПЦР-позитивных растений от общего количества проанализированных проростков. Было сделано предположение о возможности доставки Т-ДНК агробактерий с помощью растущей пыльцевой трубки. На матроклиных гаплоидах получены доказательства наличия маркерных генов в геноме трансформированных растений кукурузы после опыления линией-гаплоиндуктором.

С помощью программы Clustal X 1.81 проведен поиск нуклеотидных последовательностей, сходных с правой границей Т-ДНК в базах данных нуклеотидных последовательностей растений (кукуруза, петуния, табак, клевер, арабидобсис). Ряд фрагментов правой границы Т-ДНК (13-17 п.о. с E=5,8 для 17 п.о.) был обнаружен в геноме растений, главным образом кукурузы и арабидобсиса. В геноме *N. tabacum* обнаружен фрагмент (542 п.о.) сходный с геном *rolC* (89-100% идентичности у первых пяти результатов). В докладе обсуждается возможная роль встройки агробактериальной Т-ДНК в эволюции и селекции растений.

AGROBACTERIAL T-DNA TRANSFER TO MAIZE GAMETOPHYTE CELLS

Chumakov M. I. ^{1,2}

¹ *Laboratory of Bioengineering, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, RAS; Saratov, 410049, Russia;*

² *Laboratory of Genetic Engineering, Science and Education Center of Biotechnology, Saratov State University; Saratov, 410035, Russia;*

This study was focused on the experimental and computing evaluation of the possibility of *Agrobacterium*-mediated T-DNA transfer gametophyte cells of maize plants. We evaluated of the efficiency of T-DNA incorporation into the genomes of the diploid and haploid forms of maize after *in planta* transformation using the *A. tumefaciens* LBA4404, AGL0 strains cell suspension with binary vector (pBi2E, pA2069, pBi-RNS, pE35S-*egfp*) systems. To test the plants for *Agrobacterium* contamination, the preparation of total maize DNA was tested for the *A. tumefaciens* specific genes *virC1* and *virC2* located outside the Ti plasmid T-DNA region. The incorporation of T-DNA into F₁ hybrid maize genomes was detected by PCR for the marker genes and varied from 0.2 to 16% depending from application conditions. The example of matroclinal corn haploids was used to demonstrate that T-DNA may be transported to the egg cell by the growing pollen tube.

Searching for nucleotide sequences similar to agrobacterial T-DNA right border fragments (TRBLF) and *rolC* gene in plant-genome data banks for agrobacterial genes spreading in corn, petunia, tobacco, trefoil, arabidopsis genomes was conducted using Clustal X 1.81 program. A set nucleotide sequences (13-17 bp with E=5,8 for 17 bp) similar to TRBLF was found mostly in corn and arabidopsis genomes. Within the *N. tabacum* genome, we found 542-nucleotide-long fragments similar with the gene *rolC* (89-100% identity for five top results). We hypothesize that agrobacteria can inserted own genetic material to plant gametophyte cells that effect on plant adaptation capacity during evolution and selection.

СИМБИОГЕНОМ, МИКРОБИОМ, МЕТАГЕНОМ – РАЗНЫЕ УРОВНИ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНТЕГРАЦИИ ОРГАНИЗМОВ В БИОЦЕНОЗАХ

Тихонович И.А.

ГНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии РАСХН, 196608, Санкт-Петербург-Пушкин, шоссе Подбельского, д.3, E-mail: contact@arriam.spb.ru

В настоящее время становится все более очевидным, что генетический контроль сложных экологических отношений не может быть адекватно представлен в традиционных рамках “одновидовой” генетики свободноживущих (унитарных) организмов. Первым шагом к изучению

генетической организации и разработке методов управления продуктивностью надвидовых комплексов симбиотического и биоценотического типов является формулировка задач и методологии симбиогенетики, изучающей генетический контроль симбиотических отношений. В ее основу положено представление о симбиозе как и надвидовой системе изменчивости и наследственности (симбиогеноме), контролирующей развитие новых признаков, которые отсутствуют у свободноживущих организмов и принципиально расширяют их адаптивные возможности. Изучение симбиогеномов – первый шаг к генетическому анализу и конструированию микробиомов и метагеномов – надвидовых генетических систем, характерных для многокомпонентных комплексов биоценотического типа, таких как микрофлора рубца, эндофитные и ризосферные сообщества, а также консорции почвенных микроорганизмов. Использование подходов симбиогенетики в экологии и агробиологии связано с развитием биотехнологий взаимодействия растений и животных с полезной микрофлорой, определяющего питание своих хозяев, регуляцию их развития, а также устойчивость к биотическим и абиотическим стрессам.

SYMBIOGENOME, MICROBIOME, METAGENOME – DIFFERENT LEVELS OF GENETIC INTEGRATION OF ORGANISMS IN BIOCENOSSES

Tikhonovich I.A.

*All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, Podbelski Shosse, 3,
St.-Petersburg, Pushkin, 196608, Russia, E-mail: contact@arriam.spb.ru*

At present it becomes clear that genetic control of complicated ecological interactions can not be adequately addressed within the frames of traditional single-species genetics of free-living (unitary) organisms. The first step to revealing the genetic control and managing the productivity of the super-species systems of symbiotic and biocenotic types is to formulate the aims and methods of symbiogenetics, a new discipline analyzing the genetic control of inter-species interactions. It is based on the view of symbiosis as of an super-species system for variability and heredity (symbiogenome) controlling the development of novel properties lacking in the free-living organisms and extending their adaptive potentials. Analysis of symbiogenomes represents the first step towards dissection of metagenomes and microbiomes which constitute the hereditary systems of the biocenotic communities (microflora of rumen, endophytic and rhizospheric communities, soil microbial consortia). In ecology and agrobiology, the approaches of symbiogenetics provide the biotechnologies for interactions of plants and animals with beneficial microbes ensuring the host nutrition, biocontrol of pests, developmental regulation and stress resistance.

ФИТОРЕМЕДИАЦИЯ: ТЕХНОЛОГИЯ ИЛИ НАУЧНАЯ ПРОБЛЕМА?

Турковская О.В.

*Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН,
Россия, 410049, Саратов, просп. Энтузиастов, 13*

Фиторемедиация – очистка с помощью растений – в настоящее время рассматривается как успешная экологическая технология, простая в исполнении и привлекательная в эстетическом плане. Эффективность фиторемедиации по убыли поллютантов в сравнении с их естественным

разрушением не слишком велика – обычно не более 20%. Однако культивирование растений на загрязненных участках существенно улучшает некоторые другие показатели почвы, участок приобретает ухоженный вид. Это является достаточно убедительным аргументом в пользу продолжения очистки с использованием растений в течение ряда лет, что, в конечном итоге, приводит к неплохим результатам.

Однако до сих пор остаются нерешенными вопросы, каким образом удаляются поллютанты из почвы, какие образуются метаболиты и что накапливают в себе выращенные на загрязненных участках растения? Последние могут представлять источник дальнейшего загрязнения, попадая в организм травоядных животных и перемещаясь по пищевым цепям. Известно также, что с помощью растений может происходить перемещение загрязнителя из почвы в воздушную среду. Могут происходить изменения и в самих растениях, в том числе на генетическом уровне.

Таким образом, фиторемедиация, которая, казалось бы, не имеет ограничений за исключением одного – способности растения расти при данном виде и уровне загрязнения, при детальном рассмотрении представляет собой серьезную научную проблему. Эта проблема связана не только с поиском механизмов повышения эффективности технологии, но и, в первую очередь – с обеспечением экологической безопасности ее применения.

В докладе представлено современное состояние научных исследований и разработок в области фиторемедиации.

PHYTOREMEDIATION: A TECHNOLOGY OR A SCIENTIFIC PROBLEM?

Turkovskaya O.V.

*Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms,
RAS, 13 Prospect Entuziastov, Saratov 410049, Russia*

Phytoremediation (plant-assisted cleanup) is currently considered to be a successful environmental technology that is easy to implement and is aesthetically attractive. The effectiveness of phytoremediation for pollutant removal, as compared with that of natural degradation, is not very high (usually not greater than 20%). However, plant cultivation at polluted sites considerably improves certain other soil qualities, and the sites become to look well-managed. This has been a sufficiently convincing reason for the continuation of cleanup with plants over the past few years, ultimately leading to good results.

However, several questions have so far remained unanswered. In what manner are pollutants removed from soil? What metabolites are formed? What substances are accumulated by plants grown at polluted sites? These plants, when eaten by herbivorous animals and passing through food chains, can be a source of further pollution. It is also known that plants can aid in pollutant transfer from soil to air. Changes in plants themselves, including those at the genetic level, may also occur.

Thus, phytoremediation, which seemingly has no limitations other than the ability of a plant to grow at a given type and level of pollution, turns out to be a serious scientific problem at a closer look. This problem is associated not only with searching for the mechanisms of increasing the effectiveness of the technology but also (and primarily) with ensuring the ecological safety of its application.

This talk presents the current state of research and development in the area of phytoremediation.

ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ БИОРЕМЕДИАЦИИ ПОЧВ С ПОМОЩЬЮ НАТУРАЛЬНЫХ СОРБЕНТОВ

Васильева Г.К., Стрижакова Е.Р.

Учреждение Российской Академии наук Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН,

142290, Московская обл., г. Пушкино, ул. Институтская, д. 2. gkvasilyeva@issp.psn.ru

Одними из важнейших причин снижения эффективности биоремедиации почв являются их повышенная токсичность, а в некоторых случаях и гидрофобность. В докладе будут обсуждаться перспективы использования различных сорбентов естественного происхождения (активированные угли, цеолиты, торф и продукты его переработки, диатомиты и др.) для повышения эффективности биоремедиации сильно загрязненных почв. Последние исследования показывают, что правильно подобранные формы и дозы сорбентов способствуют ускоренному и более глубокому разложению сравнительно деградируемых загрязнителей (алифатические и ароматические углеводороды нефти вплоть до 3-х-ядерных ПАУ, низкохлорированные соединения и др.). В результате обратимой сорбции самих загрязнителей и их токсичных метаболитов создаются более благоприятные условия для жизнедеятельности как аборигенных, так и инокулированных микроорганизмов-деструкторов. В случае высокостойких загрязнителей (полихлорированные бифенилы, высокоядерные ПАУ) происходит их быстрая детоксикация за счет прочного связывания сорбентами такими как активированный уголь. При этом резко снижается подвижность и биодоступность этих соединений, однако их деградация продолжается как в результате каталитического действия сорбента, так и микробиологически. Помимо способности снижать токсичность загрязнителей сорбенты могут понижать гидрофобность и улучшать структуру почв, загрязненных углеводородами нефти, что также способствует ускоренной биоремедиации этих почв. В то же время для минимизации отрицательных последствий использования сорбентов необходимы исследования по изучению их влиянию на структуру и физико-химические свойства почвы как вскоре после внесения, так и в дальней перспективе.

ENHANCED SOIL BIOREMEDIATION THROUGH THE USE OF NATURAL ADSORBENTS

Vasilyeva G.K., Strijakova E.R.

Institute of Physicochemical and Biological Problems in Soil Science RAS, Pushchino, Moscow region, Bldg. 2, Institutskaja st., 142290, Russia, gkvasilyeva@issp.psn.ru

Low effectiveness of soil bioremediation is often connected with their toxicity to degrading microorganisms and sometimes with the enhanced hydrophobicity of those soils. The main goal of this presentation is to outline perspectives of using some natural adsorbents (activated carbon, zeolite, peat and products ...) for the effective bioremediation of the polluted soil environments. The latest experiments indicate that the correctly chosen forms and doses of adsorbents facilitate accelerated degradation of biodegradable contaminants (aliphatic and aromatic petroleum hydrocarbons up to 3-ring PAHs, lowchlorinated compounds, such as chloroanilines and chlorophenols, and others). The adsorbents may represent original depot where microorganisms are in closer contact to a target substrate and other nutritious elements, and simultaneously they become more protected from toxic pollutants and/or their metabolites in highly contaminated environments. On the other hand, highly persistent contaminants (PCB, high

nuclear PAHs and others) can be detoxified through strong binding in the soils amended with activated carbon (AC). Meantime the sequestered PCBs continue to degrade slowly as due to microbial activity and because of catalytical dechlorination on the surface of AC. In addition some adsorbents may help to reduce hydrophobicity of the soils especially those contaminated with petroleum hydrocarbons. Besides, some adsorbents can improve physical characteristics of the contaminated soils: increase water holding capacity and porosity. That also may help to accelerate soil bioremediation. Nevertheless possible negative influence of some adsorbents on soil properties should be taken into account to minimize unfavorable consequences of their introduction into the contaminated soils.

ИНТРОНЫ И ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ В СИСТЕМЕ ТРОЙСТВЕННОГО СИМБИОЗА (СТС)

Квитко К.В., Воробьев К.П., Мигунова А.В., Андронов Е.Е.¹,

Кафедра Микробиологии СПбГУ,

¹ВНИИСХМ РАСХН

Интронные вставки ДНК (**ИВ**) в структурные гены эукариот, не кодирующие, но способные к сплайсингу после считывания РНК, рассматривали как хлам, накопленный таксоном. Затем было показано, что **ИВ** - это МГЭ, их РНК-копии осуществляют до **6 функций**: это – рибозимы, регуляторы транскрипции, рекомбинации, **факторы** альтернативного и транс-сплайсинга, перетасовки экзонов и **экспорта мРНК из ядра в цитоплазму** (Воробьев и др., 2006). Последняя роль нам кажется одной из самых важных. Присутствие интронов в рДНК генах, по числу копий РНК доминирующих (80% РНК), является правилом (Квитко и др. 2009) для многих СТС. Прямые доказательства этого - число **ИВ** в генах рДНК: у *Chlorella variabilis*, южного симбионта инфузории *Paramecium bursaria* - их 8, а у родича, свободно живущего вида *Ch. vulgaris*, по экзонам 18S РНК идентичного с *Ch. variabilis*, их нет. У *Micractinium conductrix*, хлорелло-подобного северного симбионта, так же идентичного *Ch. vulgaris* по экзону 18S РНК, в рибосомном кластере имеется две **ИВ** (Hoshina & Imamura, 2009). Для теплолюбивого симбионта функции **ИВ** более востребованы, чем для обитателя холодно-водных *P. bursaria*. У пико-эукариот (размером с обычную бактерию, Ø=1мкм), *Ostreococcus lucimarinus* и *O. tauri* определено распределение **ИВ** в двух десятках хромосом (Palenik et al., 2007). Показана неравномерность **ИВ** в них. Большая часть хромосом, 18 - практически синтены у родичей, но две из них отнесены к «виодообразующим», они отличаются от всех 18-ти: отсутствием синтении, богатством транспозонов и обилием **ИВ** в генах с высоким уровнем экспрессии. У всех этих организмов описаны гигантские ядерно-цитоплазматические вирусы, доноры и носители **ИВ** (Yamada et. al., 1994-2006; Воробьев и др., 2006). Так как геном этих вирусов лишен гена РНК-полимеразы, единственный для них способ реализовать свой геном – попасть в ядро хозяина и затем из ядра в цитоплазму транспортировать свои РНК, используя цитоплазму для сборки вирионов. Интроны найдены в *dnapol* гене вирусов и вероятно, одна из функций интронов в вирусах – участие в их репликации.

INTRONS AND GENE EXPRESSION IN TRIPLE SYMBIOTIC SYSTEM (TSS)

K.V. Kvitko, K.P.Vorobyev, A.V.Migunova, E.E.Andronov¹,

Microbiology Dep. of S-Petersburg State University,

¹ARIAM RAAS

Previously non-coding intron insertions that capable of splicing after RNA transcription in structural eukaryotic genes were considered as trash accumulating in course of taxons evolution. Then it was shown that **introns are mobile genetic elements** and their RNA-copies perform at least **six functions** - ribozymes, regulation of transcription and recombination, participation in alternate splicing and trans-splicing, exon shuffle and **mRNA export from nucleus to cytoplasm** (Vorobyev et al., 2006). The last one is seemed to be the most important. Introns presence in the rDNA genes that dominate by the number of copies (80% of RNA) is a principle for many symbiotic systems (Kvitko et al., 2009). Direct proofs of this role are the introns quantity in rDNA genes of southern ecotype of *Paramecium bursaria* symbionts (*Chlorella variabilis*). They contain 8 intron insertions, as the free-living relatives *Ch. vulgaris* possess no introns. *Microactinium conductrix* (chlorella-like northern *P. bursaria* symbionts that contains the identical nucleotides in exonic part 18S rRNA gene to the *Ch. vulgaris* and *Ch. variabilis*) possess two introns in ribosomal cluster (Hoshina and Imamura, 2009). Introns are seemed to be most important for the thermophilic symbionts of *P. bursaria* than for psychrophilic ones. For the pico-eukariotes (size like bacteria, $\varnothing=1\mu\text{m}$) *Ostreococcus lucimarinus* and *O. tauri* was shown irregular introns distribution in 20-21 chromosomes (Palem et al., 2007). Most pairs of chromosomes (18) are virtually *syntenic*, but last two are “species-specific”, differ by lack of syntenic, wealth of transposons and intron insertions in high-expressed genes. All of these organisms attacked by giant viruses that are introns donors (Yamada et al., 1994-2006; Vorobyev et al., 2006). The genome of this viruses deprive the RNA-polymerases genes, the only one chance of virus genome realization – to go into host nuclei and then transport the RNA-copy of their genes to cytoplasm from it, using the cytoplasm for virions assembling. Also *dnapol* genes of them contain introns and presumably one of the virus introns functions is virus replication assistance

КЛАССИЧЕСКАЯ И ОБРАТНАЯ ГЕНЕТИКА В ИЗУЧЕНИИ СИМБИОГЕНОМА БОБОВЫХ РАСТЕНИЙ

Жуков В.А., Неманкин Т.А., Рычагова Т.С., Жернаков А.И., Титов В.С., Сулима А.С., Штарк О.Ю., Борисов А.Ю., Тихонович И.А.

Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии
РАСХН,

Россия, Санкт-Петербург - Пушкин, ш. Подбельского, 3. 196608

Сходство структурной организации геномов различных бобовых облегчает изучение генетической системы бобовых растений, контролирующей взаимодействие с полезными почвенными микроорганизмами. Благодаря этому сходству достижения генетики, геномики и транскриптомики модельных бобовых могут быть «перенесены» на сельскохозяйственно-ценные бобовые культуры. В докладе будут освещены итоги и перспективы работы по изучению симбиотических генов гороха посевного на основании комбинирования методологий классической и обратной генетики.

Подходы классической генетики позволяют выявлять, картировать и секвенировать новые гены, вовлеченные в морфогенез растения и развитие симбиотических систем, а также анализировать их полиморфизм с целью поиска аллелей, наиболее ценных для селекции. Подходы обратной генетики

используются для поиска мутантных аллелей генов с известными последовательностями, а также для изучения экспрессии таких генов.

Понимание генетических основ функционирования симбиотических систем, образуемых бобовыми растениями, является необходимой основой менеджмента «адаптивного» земледелия. Кроме того, ценные аллели симбиотических генов могут быть использованы при создании новых сортов бобовых, например, путем «маркер-ассоциированной селекции».

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки (Государственные контракты № 02.740.11.0276 и П1304), грантов Президента РФ для поддержки ведущих научных школ (НШ-3440.2010.4), РФФИ (09-04-91054-НЦНИ_a, 10-04-00961-a, 10-04-01146-a), NWO-047.117.2005.006 (Нидерланды).

CLASSICAL AND REVERSE GENETICS IN STUDYING THE SYMBIOGENOME OF LEGUME PLANTS

Zhukov V.A., Nemankin T.A., Rychagova T.S., Zhernakov A.I., Titov V.S., Sulima A.S., Shtark O.Y., Borisov A.Y., Tikhonovich I.A.

All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology RAAS, Russia, Saint-Petersburg – Pushkin, Podbelsky chaussee, 3, 196608

The similarity of the structural organization of genomes of various legumes facilitates the study of the genetic system of legumes, which controls interactions with beneficial soil microorganisms. Because of this similarity, the achievements of genetics, genomics and transcriptomics of model legumes can be «translated» to crop legumes. The report will highlight the results and prospects of work on the study of symbiotic genes in pea on the basis of combining the methodologies of classical and reverse genetics.

Approaches of the classical genetics allow identifying, mapping and sequencing the novel genes involved in plant morphogenesis and development of symbiotic systems, and also analyzing polymorphism of these genes in order to find the most valuable alleles for plant breeding. Approaches of the reverse genetics are used to search for mutant alleles of genes with known sequences, as well as for studying the expression of these genes.

Understanding the genetic basis of the functioning of the symbiotic system formed by leguminous plants is a necessary foundation for management of sustainable agriculture. In addition, valuable alleles of symbiotic genes may be used for creation the new varieties of legumes, for instance, by «marker-associated selection».

The work was supported by grants of Ministry of Education and Science (Governmental contracts №№ 02.740.11.0276 and П1304), President of Russia for support the leading scientific schools (НШ-3440.2010.4), RFBR (09-04-91054-НЦНИ_a, 10-04-00961-a, 10-04-01146-a), and NWO-047.117.2005.006 (The Netherlands).

ПОСТЕРЫ И ПУБЛИКАЦИИ POSTERS AND PUBLICATIONS

БИОЛОГИЧЕСКАЯ КОНВЕРСИЯ ОТХОДОВ ПЕРЕРАБОТКИ СЕМЯН ПОДСОЛНУХА

Баурин Д.В., Шакир И.В., Панфилов В.И.

*Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева,
125047, г. Москва, Миусская площадь, д. 9, кафедра биотехнологии.*

Производство и потребление масленичных культур в России ежегодно возрастает. Маслоэкстракционные технологии предполагают практически полное извлечение масла из семян гексаном. Отходом такого производства является подсолнечный шрот и в зависимости от качества исходного сырья и условий экстракции варьируется по составу. Содержание клетчатки колеблется в пределах от 13 до 22%, сырого протеина от 26% до 43%. Шрот используется в сельском хозяйстве как кормовая добавка, однако, значительная часть высокобелкового (>38%) подсолнечного шрота идёт на экспорт. Разработаны технологии, предполагающие выделение растительного белка масленичных культур, а для увеличения кормовой ценности шрота необходимым является снижение содержания клетчатки и увеличение качества и содержания белка.

Проведено исследование процесса депротеинизации подсолнечного шрота, биоконверсии депротеинизированного шрота грибом *Pleurotus ostreatus* и разрабатываются основы малоотходной технологии белкового кормового продукта. В качестве основного критерия оценки процесса культивирования выбраны потребление компонентов субстрата и накопление сырого протеина. Биodeградация компонентов комплексного субстрата микроскопическими грибами связана с его структурой и составом. В качестве субстрата был выбран подсолнечный шрот с содержанием сырого протеина 37%, сырой клетчатки 17-19%, зольных элементов до 7,5%. Щелочная экстракция позволяет извлечь до 80% белковых соединений. В процессе глубинного гетерофазного культивирования на питательной среде с измельченным депротеинизированным шротом сырой протеин достигает значения 35%. Показано, что условия выделения белка определяют скорость, глубину и качество последующей биоконверсии.

BIOCONVERSION OF SUNFLOWER SEEDS PROCESSING RESIDUE

Baurin D.V., Shakir I.V., Panfilov V.I.

*D. Mendeleyev University of Chemical Technology of Russia,
9 Miusskaya sq., Moscow 125047, Russia, Department of Biotechnology.*

Production and consumption of oil crops in Russia is increasing annually. Oil-extraction technologies assume almost full extraction of oil from seeds with hexane. Sunflower meal is a residue of such a processing and composition depends on the feedstock and extraction conditions and varies.

The cellular tissue maintenance varies from 13 to 22 %, a crude protein from 26 % to 43 %. Sunflower meal is used in agriculture as a fodder additive, however, the considerable part of sunflower meal (crude protein > 38 %) is exported. The technologies assuming allocation of the vegetative protein of oil seed cultures are developed, and to increase the fodder value of the oilseed meal both decrease in the maintenance of cellular tissue and increase in quality of the protein maintenance is necessary. A research of sunflower

meal deproteinization, bioconversion of deproteinized meal with *Pleurotus ostreatus* is conducted and the fundamentals of low-waste technology of protein feed product are developed.

The substrate component consumption and accumulation of a crude protein are chosen as the basic criterion of cultivation process estimation.

Biodegradation of components of a complex substratum by fungi is associated with its structure and composition. Sunflower meal with a crude protein content of 37%, crude fiber 17-19% of ash elements to 7,5% has been chosen as a substrate.

Alkaline extraction allows to extract up to 80% of protein compounds. Crude protein reaches 35% in the process of deep heterophase cultivation in a nutrient medium with shredded deproteinized sunflower meal.

It is shown that conditions of protein allocation define speed, depth and quality of the subsequent bioconversion.

ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ ТЕПЛОВАЯ ЭНЕРГИЯ ОТХОДОВ ЛЕСОЗАГОТОВКИ

Хаматаев Р.В.¹, Сычев А.Е.², Кулюкина Е.Д.³, Ватник Л.Л.³, Акопян В.Б.²

¹ОАО «ВСКБТ» (Восточно-сибирский комбинат биотехнологий)

²ОАО «ГосНИИсинтезбелок», 109004, Москва, ул. Александра Солженицына, 27

³МГУ ИЭ, 107884, Москва, ул. Старая Басманная, 21/4

Существенно повысить коэффициент использования сырья и снизить давление производства на окружающую среду можно используя собственные отходы для производственных нужд и в частности для получения дополнительного тепла.

Например, при переработке древесного сырья в перспективный органический растворитель – биобутанол, из 1 тонны абсолютно сухой (а.с.) древесины методом ферментативного гидролиза получают 600 кг сахара и 400 кг а.с. лигнина, а также 210 л бутанола и 380 кг газов (368 кг CO₂ и 12 кг H₂). При сжигании водорода образовавшегося в течение часа в виде отхода процесса брожения на заводе средней производительности по бутанолу, можно получить примерно 2 Гкал тепла, или 4 тонны пара, что позволяет экономить около 2000 рублей ежечасно, и ощутимо снижать себестоимость основного продукта.

Теплотворная способность абсолютно сухого лигнина составляет 5500-6500 ккал/кг, однако, в процессе производства получают лигнин с 65%-ной влажностью и соответственно с теплотворной способностью 1500-1650 ккал/кг.

Для сушки лигнина можно использовать энергию отводящих дымовых газов, а совместное сжигание подсушенного лигнина и водорода в специально сконструированных двухуровневых горелках, либо водолигнинной суспензии в пламени водородных горелок в ряде случаев позволяет удовлетворить значительную часть потребности производства в тепле и снизить давление производства на окружающую среду за счет уменьшения зольности комбинированного горючего, представляющего собой собственные отходы основного производства.

POTENTIAL HEAT OF WOOD WASTES

Hamataev R.V.¹, Sitchev A.E.², Kulukina E.D.³, Vatnik L.L.³, Akopyan V.B.²

¹ VSKTB, 1 Hidroliznaia Str., 665250, Tulun, Irkutsk Reg.

² OAO GosNIIsintezbelok, ul. Aleksandra Solzhenitsyna 27, Moscow, 109004, Russia

³ Moscow State University of Environmental Engineering, 21/4, Staraya Basmannaya str., Moscow, 105066, Russia

Considerably increasing the ratio of raw materials utilization and reduction the negative pressure on the environmental may be realized by using own industrial wastes in particular for additional heat generation.

In case of wood waste processing by enzymatic hydrolysis in organic solvent biobutanol is possible to receive 600 kg of sugar, 400 kg absolutely dry (AS) lignin, than 210 l of butanol and 380 kg of gas mixture (368 kg CO₂ and 12 kg H₂) from 1 ton of AS wood.

At burning out the hydrogen produced within hour at a average biobutanol output factory is possible to receive approximately 2 Giga-calorie heats or 4 tons steam that gives possibility to save about 2000 rubles (57 US \$) per hour (32 millions rubles per year) and to lower the cost price of basic product.

Heat of AC lignin combustion is equal 5500-6500 kcal / kg, however, lignin obtained from industrial process has 65% humidity and, accordingly, his calorific value is only 1500-1650 kcal / kg.

The energy of diverting flue gases may be used for lignin drying. Co-combustion of dried lignin and hydrogen for heat generation in a specially designed two-level burners, allow to satisfy significant part heat needs, to reduce the ash and decrease the pressure on the environment.

О МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ БИОУГЛЯ

Курманбаев А.А.¹, Тапалова О.Б.², Зайтова Т.Ш.², Абдихалык С.Е.²

¹ Институт Микробиологии и Вирусологии Республики Казахстан;

² Казахский Педагогический Университет имени Абая,

Республика Казахстан / Город Алматы / ул. Брусиловского 247-39

Биоуголь - это древесный уголь, получаемый при нагреве органики в условиях отсутствия кислорода. Добавляя био-уголь в почву можно значительно увеличить прорастание семян, рост растений и урожайность. Через устранение лимитирующих факторов за счет повышения влагоудерживающей способности почвы, а также накопления питательных веществ и воздушных пузырьков в микропорах отдельных частиц биоугля создаются оптимальные условия для функционирования микроорганизмов, которые в свою очередь являются мощным средством для повышения плодородия почвы и повышения урожайности. Однако взаимодействие биоугля с почвенными микроорганизмами еще мало изучено. В качестве экспресс-метода проверки возможной патогенности биоугля был проведен опыт по инокулированию среды РПА с добавлением 1.5% биоугля. Биоуголь был получен из кукурузной стерни при температуре 500 С в течение 1 часа. В качестве тестовой культуры использовался *Arthrobacter* spp., как один из агрономически ценных штаммов микроорганизмов. Данный опыт показал отсутствие токсичности биоугля и его стимулирующий эффект на рост микроорганизмов на среде РПА с добавлением биоугля.

При проведении второй серии опытов был использован биоуголь, полученный из березовой древесины. Были поставлены вегетационные опыты на проростках сои. Образцы почв содержали 0.5%, 1.5% и 3% биоугля. В варианте опыта с концентрацией 3% также был добавлен комплекс

бактериальных культур (комплекс состоял из фосфат-мобилизирующих бактерий и одного штамма *Azotobacter spp.*). В ходе опыта было выявлено, что повышенная концентрация биоугля приводит к усилению иммобилизации клеток. В ходе второй серии экспериментов наивысший уровень прироста биомассы наблюдался в варианте опыта с 1.5% концентрацией биоугля. Вариант опыта с 3% концентрацией биоугля показал результаты ниже контроля. Соответственно получены данные, что как уровень концентрации биоугля, исходное сырье и способы его получения, так и тип бактериальных ассоциаций важны как факторы, влияющие на рост высших растений и требуют дальнейшего изучения.

CERTAIN ASPECTS OF BIOCHAR MICROBIOLOGICAL ACTIVITY

Kurmanbayev A.A., Tapalova O.B., Zaitova T.S., Abdikhalyk S.Y

Biochar is charcoal, which is produced from biomass under pyrolytic conditions. Adding biochar to soil can lead to increases in improvements in seed germination, plant growth and yields. One of potential pathways how using biochar can lead to soil fertility improvement is by ameliorating environmental conditions for microorganisms. Reducing the limiting factors by increasing the water-holding capacity of soil, nutrient and air retention in micropores of biochar particles creates optimal living conditions for soil biota, which by itself are an important factor for soil fertility and crop yield improvements

Understanding these mechanisms will enable us to manage them. As an express method to determine possible pathogenicity of biochar we have conducted a following experiment: Nutrient agar medium with 1.5% biochar addition was inoculated with *Arthrobacter spp.* Source material for biochar was cornstalks. Biochar was received under 500 C during 1 hour. *Arthrobacter spp.* was used as it is one of potentially valuable bacterial strains for agriculture. This experiment has shown the absence of toxicity of biochar and the stimulating effect it had on microbial growth in given conditions.

Over the course of second series of experiments we have used biochar, produced from birch wood. Vegetative experiments were conducted with soya sprouts. Soil samples contained 0.5%, 1.5% and 3% biochar respectively. The soil sample with 3% biochar concentration also contained a complex of bacterial cultures (phosphate-solubilizing bacteria and one strain of *Azotobacter spp.*). Over the course of the experiment we have learnt that the increased concentration of biochar leads to more pronounced microbial cell immobilization. During the second series of experiments the highest biomass accrual was achieved in the sample with 1.5% biochar concentration. The sample with 3% concentration has shown the results below the control. Therefore we have learnt that the levels of biochar concentration, source material and the conditions of biochar production as well as types of bacterial complexes are important factors influencing the growth of plants and require further study.

ИНТЕНСИФИКАЦИЯ КАРОТИНОГЕНЕЗА ДРОЖЖЕЙ РОДА RHODOTORULA ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ НА КОМПЛЕКСНЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ

Червякова О.П., Шакир И.В.

*Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева,
125047, г. Москва, Миусская площадь, д. 9, кафедра биотехнологии*

Утилизация отходов сельского хозяйства и пищевой промышленности является одной из остро стоящих проблем на сегодняшний день. С развитием биотехнологии появилась возможность не просто утилизировать данные отходы, но и получать из них ценные продукты, в частности кормовую биомассу, обогащенную каротиноидами. Существующие технологии микробиологического пути получения каротинов обладают рядом недостатков, которые связаны со специфичностью пигментных микроорганизмов, при культивировании которых высокий выход каротиноидов достигается только в случае использования комплексных, сложных и дорогостоящих питательных сред. При использовании же в качестве субстрата каких-либо типов отходов, для большинства микробных культур наблюдается значительное снижение накопления каротиноидов. Указанная проблема может быть решена воздействием стрессорными агентами, которые в определенных условиях могут стимулировать рост и биосинтетическую активность микроорганизмов. Такой подход в последнее время приобретает все большую популярность для совершенствования разнообразных технологических процессов с использованием микробиологических объектов. Основным объектом исследования являлись дрожжи рода *Rhodotorula*, а в качестве растительного отхода была использована свекловичная меласса. Показано, что воздействие перекисью водорода, как агента окислительного стресса, привело к увеличению содержания каротиноидных пигментов в 3,5 – 4,0 раза и составило 1,5 – 2,0 мг в литре культуральной жидкости. Полученные результаты позволяют сделать вывод о возможности использования окислительного стресса для обогащения биомассы каротиноидами. Также представляется целесообразным культивирование дрожжей на растительных отходах, что снизит себестоимость продукта. Это, в свою очередь, позволит в значительной степени повысить ценность биомассы, как источника каротиноидов.

INTENSIFICATION CAROTENOGENESIS OF YEAST GENUS RHODOTORULA AT CULTIVATING ON COMPLEX NUTRIENT MEDIUM

Chervyakova O.P., Shakir I.V.

*Russian Chemical Technology University of D.I. Mendeleev,
125047, Moscow, Miusskaya Square, 9, Department of Biotechnology*

Today recycling of waste agriculture and food industry is one of the acute problems. With the development of biotechnology there was a possibility not simply to utilize the given waste, but also to receive from them valuable products, in particular the biomass feed enriched with carotenoids. Existing technologies of a microbiological ways of obtaining carotene have a number of disadvantages that are associated with the specificity of pigmented microorganisms during cultivation which a high yield of carotenoids is achieved only in the case of complex, sophisticated and expensive nutrient media. Using as a substrate of any types of a waste, for most of microbial cultures considerable decrease in accumulation of carotenoids is observed. This problem can be solved by the influence of stressors agents that, under certain conditions can stimulate the growth and biosynthetic activity of microorganisms. This approach has recently become increasingly popular for improving a variety of manufacturing processes using microbiological objects.

The main object of study was the yeast genus *Rhodotorula*, and as plant waste was used beet molasses. It is shown that influence by hydrogen peroxide as an agent of oxidative stress, has led to increase levels of carotenoid pigments on 3,5 - 4,0 times and amounted to 1,5 - 2,0 mg per liter of culture liquids. The obtained results suggest the possible use of oxidative stress for the enrichment of biomass by carotenoids. Also be useful to the cultivation of the yeasts on plant waste, which will reduce product cost. This, in turn, will significantly enhance the value of biomass as a source of carotenoids.

ИСПЫТАНИЕ ЛЕЧЕБНОЙ И ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОБИОТИКА

Гаврилова Н.Н., Ратникова И.А.,

Институт микробиологии и вирусологии МОН РК,

ул. Богенбай батыра 103, Г. Алматы, Казахстан, 050010

Нами разработан пробиотик на основе молочнокислых и пропионовокислых бактерий, отличающийся широким спектром антимикробного действия в отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов.

Исследования были направлены на испытание нового пробиотика на цыплятах породы “Hi-Line”. В опытной группе 1-суточных цыплят (20 голов), получавших пробиотик с профилактической целью в течение 9 суток в количестве 4% к суточной норме корма до внутрибрюшинного заражения культурой *S. gallinarum* в дозе 6 млрд микробных клеток на голову, заболело 15-20% поголовья. Падежа не было. В контрольной группе, не получавшей препарат, заболеваемость достигла 100% цыплят, гибель - 80%. При энтеральном заражении в опытных группах заболеваемости цыплят не выявлено. В контрольной группе заболело 70% цыплят.

Для выявления профилактического эффекта препарата против колибактериоза птиц опытную группу цыплят разделили на две подгруппы (по 35 голов в каждой). В первой подгруппе цыплята получали пробиотик до заражения штаммом *E.coli* из расчета 4% к суточной норме корма и 6% - после заражения. Во второй подгруппе цыплята получали пробиотик только до заражения в дозе 4% к суточной норме корма. Контрольные цыплята (20 голов) пробиотик не получали. В течение наблюдений (20 суток после заражения) у цыплят, получавших пробиотик до и после заражения, случаи болезни с выраженными и характерными признаками не отмечены. В контрольной группе 17 цыплят болели с проявлением клинических признаков болезни, из них пало 7 цыплят. При бактериологическом исследовании печени и селезенки цыплят первой подгруппы обсемененность органов кишечной палочкой составила 20 и 22%, во второй – 40 и 31%, в контрольной – 73 и 86%, соответственно.

Таким образом, предлагаемый пробиотик на основе молочнокислых и пропионовокислых бактерий позволяет снизить число случаев сальмонеллеза и колибактериоза у цыплят.

TEST OF THERAPEUTIC AND PREVENTIVE EFFECTIVENESS OF A PROBIOTIC

Gavrilova N.N., Ratnikova I.A.

Microbiology and Virology Institute, Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan, Bogenbai Batyr 103, Almaty, Kazakhstan, 050010

We have developed a probiotic based on lactic acid and propionic acid bacteria. The probiotic has a wide spectrum of antimicrobial effect toward pathogenic and opportunistic microorganisms.

This study aimed to test the newly developed probiotic in chicks of “Hi-Line” breed. In the test groups of the 1-day chickens (20 heads) having taken probiotic for prophylactic purpose for 9 days in the amount of 4% of the daily norm of birdseed before infecting them intraperitoneally with the culture *S. gallinarum* in dosage 6 billion of bacteria/head, 15-20% of birds got ill. There was no loss. In the control group in which the chickens did not take medicine morbidity came up to 100%, loss made up - 80%. Morbidity was not observed in the test groups at enteral infection. In the control group 70% of the chickens were taken ill.

Preventive effect of the drug against colibacteriosis in birds to be identified and assessed, the group of 1-day chickens under test was separated into two subgroups (35 chickens in each). In the first subgroup the chickens were given probiotic before the infection with strain of *Escherichia coli* on the basis of 4% of the daily norm of the birdseed and 6% after the infection. In the second group the chickens were given the probiotic only before the infection in the dosage of 4% of the daily birdseed norm. The control chickens (20 heads) were not given the probiotic. During the observation (20 days after the infection) the cases of the disease with pronounced and typical clinical signs were not observed among the chickens which got probiotic before and after the infection. In the control group 17 chickens were ill with manifestation of clinical signs of disease, where 7 chickens died. The bacteriological examination of the liver and spleen of the chickens from the first group showed that the contamination of the organs came up to 20 and 22%, accordingly, in the second group – 40 and 31%, in the control group 73-86%, accordingly.

Thus the proposed probiotic based on lactic acid and propionic acid bacteria helps reduce incidence of salmonellosis, colibacteriosis and Newcastle disease in chicks.

ВЛИЯНИЕ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ НА АНТАГОНИСТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СТРЕПТОМИЦЕТОВ

Хамидова Х.М.¹, Саттарова Р.К.², Ходжибаева С.М.¹

¹*Институт Микробиологии Академии Наук РУз, Ташкент, Узбекистан*

²*Ташкентский Аграрный Университет, Ташкент, Узбекистан*

Поражение хлопчатника вилтом является серьезной проблемой для всех хлопкосеющих регионов, в том числе Узбекистана. Известно, что выявление возможности образовывать антибиотические вещества в процессе жизнедеятельности связано с условиями культивирования микроорганизмов.

Цель исследований заключалась в изучении антагонистической способности актиномицетов, выращенных на питательных средах с отходами различных производств. Два штамма актиномицетов *Streptomyces roseoflavus* 33 и *Streptomyces sp.* 7, выделенных из почвы обладали антагонистической способностью по отношению к патогену *V. dahliae* 57, вызывающему вилт хлопчатника. Культуры выращивали на агаризованной среде Чапека, в которой источник углерода сахара, с целью удешевления питательной среды, был заменен на отходы различных производств. Были использованы отходы: меласса – отход сахарного производства, яблочные выжимки, образуемые при производстве соков, пшеничные отруби – мукомольные отходы, пивная дробина пивного производства, гузапая,

измельченная до размеров частиц в 300 микрон – отход хлопкового производства. Отходы вносили в состав питательной среды в концентрациях от 1 до 4%. Антагонистическую способность культур определяли методом агаровых блоков. Показано, что обе культуры проявили активный рост при выращивании на всех испытанных средах с отходами. Антагонистической способностью обладали культуры через 48 часов роста. Максимальная антагонистическая способность была отмечена при внесении всех отходов в концентрации 2,0 и 3,0%. Высокая антагонистическая активность культур по отношению к зоне задержки роста *V. dahliae* 57, наблюдалась в присутствии 3% мелассы, гузапая и пшеничных отрубей. При этом зона отсутствия роста патогена была не менее 37 – 40 мм в диаметре (в контроле 30 - 33 мм). При культивировании актиномицетов на средах с отходами в течение 20 суток, антагонистические свойства сохранялись. Работа выполнена в рамках гранта 31034 «Биологический контроль вертициллезного вилта хлопчатника».

THE INFLUENCE OF NUTRIENT MEDIUM ON ANTAGONISTIC PROPERTIES OF STREPTOMYCETES

Kh.M. Khamidova¹, R.K. Sattarova², S.M. Khodjibaeva¹

¹ *Institute of Microbiology, Academy of Sciences, Tashkent, Uzbekistan*

² *Tashkent Agricultural University, Tashkent, Uzbekistan*

The affection of cotton by wilt is a significant problem for every cotton growing region including Uzbekistan. Results of many investigations showed perspective of application biological methods of crop plant protection from diseases and usage of microbes-antagonists and their metabolites against pathogenic microorganisms.

It is known that eduction of ability to produce antibiotic substances by microorganisms is related to their cultivation conditions.

The aim of our research focused on studying antagonistic abilities of actinomycetes grown on nutrient medium with various waste products. Two strains of actinomycetes, *Streptomyces roseoflavus* 33 and *Streptomyces* sp.7, isolated from soil showed antagonistic capability towards *Verticillium dahliae* 57 pathogen, causing wilt of cotton.

Strains of streptomycetes were grown on Chapek's agarized medium where saccharose used as a source of carbon was substituted by wastes of various productions. The following wastes were used: molasses – sugar production wastes, apple residues from juice production, cereal grain bran - flour-grinding wastes, grain from beer production, guza-paya – cotton wastes, grinded to particles with the size of about 300 micron. The wastes were introduced to nutrient medium in different concentrations from 1% to 4 %. Antagonistic activity of the strains was defined by the agarized blocs method. Nutrient medium of Chapek with saccharose was used as a control sample. It was shown that both strains had active growth on every examined nutrient media based on wastes. The antagonistic activity of the strains was observed after 48 hours of growth. The maximal antagonistic activity was fixed when concentration of contributed wastes comprised of 2.0 and 3.0%. Nutrient media based on molasses, guza-paya and cereal grain with concentration of 3.0% have provided the highest antagonistic activity of the tested strains towards *Verticillium dahliae* 57. Hereby zone of pathogen growth absence was 37-40 mm in diameter (control was 30-33 mm). The antagonistic properties remain active during 20 days of cultivation of actinomycetes on nutrient media with wastes.

The work has been done within grant 31034 “Biological control of cotton wilt”.

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ БАКТЕРИАЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ В ПОЙМЕННЫХ АГРОЦЕНОЗАХ

Леонтьевская Е.А. Добровольская Т.Г.

МГУ им. Ломоносова, г. Москва

В настоящее время одно из главных направлений в изучении микробных комплексов сельскохозяйственных угодий связано со оценкой влияния вида растений и характера землепользования на структуру микробных сообществ почв.

Целью настоящей работы является определение таксономической структуры бактериальных сообществ в пойменных ландшафтах долины р. Оки, включая анализ эпифитных комплексов овощных культур, сорных растений и бактериальных сообществ почв под естественными лугами и овощными культурами. Таксономическая структура бактериальных комплексов аллювиальных почв изменяется при их интенсивном землепользовании. Доминирующий в целинных почвах артробактер, сменяется в агропочвах бациллами и псевдомонадами. На листьях капусты и корнеплодах моркови (здоровых и гниющих) доминируют энтеробактерии родов *Pantoea* и *Erwinia*. В результате запахивания овощей в почву происходит аккумуляция энтеробактерий, среди которых есть фитопатогенные виды. Исследования, проведенные через год после запашки овощей и получения нового урожая, показали, что происходит перестройка в таксономической структуре почвенных бактериальных сообществ – резко сократилась доля энтеробактерий и псевдомонад. Увеличилась доля целлюлозоразрушающих бактерий, представленных миксобактериями и цитофагами, которые, по-видимому, принимают участие в деструкции запаханных овощей. Бактериальные сообщества на сорных растениях отличаются значительно большим разнообразием по сравнению с овощными культурами. Мы создали коллекцию бактерий, выделенных из филлосферы сорняков, и проверили их на антагонизм по отношению к двум фитопатогенным бактериям: *Pseudomonas syringae* и *Rathayibacter tritici*. Было установлено, что представители родов *Aquaspirillum*, *Comamonas* и *Arthrobacter* обладают антагонистической активностью по отношению к фитопатогенной бактерии *Rathayibacter tritici*, а бактерии рода *Micrococcus* – антагонист фитопатогенной бактерии *Pseudomonas syringae*.

CHARACTERISTICS OF MICROBIAL COMPLEXES' STRUCTURE OF AGRICULTURAL FIELDS

Leontievskaya E.A. Dobrovolskaya T.G.

MSU named after M. V. Lomonosova, Moscow

One of the modern directions in the study of microbial complexes of agricultural fields is the estimation of effects of plants species and the type of land tenure on the structure of soil microbial community.

The aim of present work was determination of taxonomic structure of microbial communities in the flood-lands of Oka river, including the analysis of epiphytic complexes of vegetable cultures, weeds and bacterial communities of soils under conditions of natural meadows and vegetable fields.

The taxonomic structure of bacterial communities of alluvial soils was changed under condition of intensive land tenure. Bacilli and pseudomonas species in agrosoils replaced the arthrobacters usually dominating in virgin soils. On leaves of cabbage and carrots root crops (both healthy and decaying) the enterobacteria of *Pantoea* and *Erwinia* genera were dominating. The plough vegetables in soil resulted in accumulation of enterobacteria, including the phytopathogenic species. The research conducted in a year after a plowing of vegetables and harvesting of a new crop have shown the reorganization in taxonomical

structure of soil bacterial communities – the amount of enterobacteria and pseudomonas species was sharply reduced. In turn, the number of species of cellulolytic bacteria presented by mixobacilla and cytophages which, apparently, took part in destruction the plowed vegetables was increased.

Bacterial communities on weed plants were characterized with much more diversity, compare to that ones of vegetable cultures. We have created a collection of the bacteria isolated from phyllosphaere of weeds, and have studied them in respect of antagonism in relation to two phytopathogenic bacteria: *Pseudomonas syringae* and *Rathayibacter tritici*. The representatives of *Aquaspirillum*, *Comamonas* and *Arthrobacter* species showed the antagonistic activity in relation to *R. tritici*, when bacteria of *Micrococcus* species were the antagonists of *P. syringae*.

ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ, ОБРАЗУЕМЫХ БАКТЕРИЯМИ, НА РОСТ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР

Лисицкая Т.Б., Трошева Т.Д.

Санкт-Петербургский государственный технологический институт (Технический университет), 190013, Санкт-Петербург, Россия, Московский пр., д.26

Некоторые микроорганизмы обладают способностью синтезировать целый ряд биологически активных веществ, в том числе все классы фитогормонов, витамины, аминокислоты. На кафедре технологии микробиологического синтеза СПбГТИ(ТУ) выделен ряд бактериальных культур, способных оказывать значительное влияние на рост и развитие растений, таких как горох, пшеница, овес, рожь, сорго, кукуруза, салат, редис. При обработке семян растений разбавленной культуральной жидкостью происходит увеличение урожая растений, длины стебля растения, увеличивается всхожесть семян.

Культуры бактерий, обладающие самой высокой биологической активностью, были идентифицированы как *Cellulomonas flavigena* um. 32 ТИ, *Cellulomonas biazotea* um. 12 ТИ, *Bacillus coagulans* ТИ. При исследовании у этих бактерий способности вырабатывать стимулирующие рост растений вещества было установлено наличие в их культуральной жидкости фитогормонов: ауксинов, гиббереллинов и цитокининов у бактерий рода *Cellulomonas*, гиббереллинов и аминокислот – у *Bacillus coagulans*.

В результате изучения динамики образования ростстимулирующих веществ установлено, что образование фитогормонов бактериями начинается после перехода культур в стационарную фазу роста и достигает максимума на 10-13 день культивирования, при этом качественный и количественный состав образуемых бактериями фитогормонов зависит от источников углерода, азота, наличия факторов роста в питательной среде, причем использование в питательной среде компонентов, приводящих к уменьшению концентрации биомассы, вызывает увеличение образования ростстимулирующих веществ бактериями. Определен состав питательной среды, способствующий получению культуральных жидкостей с максимальной биологической активностью.

EFFECT OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES FORMED BY BACTERIA ON THE GROWTH OF CROPS

Lisitskaya T.B., Trosheva T.D.

*St.-Petersburg State Technological Institute (Technical University),
190013, St.-Petersburg, Russia, Moskovski pr., 26*

Some microorganisms have the ability to synthesize a variety of biologically active substances, including all classes of phytohormones, vitamins, amino acids. At the department of technology of microbiological synthesis SPbSTI(TU) was identified a number of bacterial cultures capable of exerting considerable influence on plant growth and development, such as peas, wheat, oats, rye, sorghum, corn, lettuce, radish. The treatment of seeds with the diluted cultural liquids increases the crop of plants, the length of the stem of plants and the germination of seeds.

The bacteria with the highest biological activity was identified as *Cellulomonas flavigena* 32 TI, *Cellulomonas biazotea* 12 TI, *Bacillus coagulans* TI. The presence of auxins, gibberellins and cytokinines were found in cultural liquids of *Cellulomonas*, gibberellins and amino acids – in *Bacillus coagulans*.

It was found that the accumulation of phytohormones by bacteria starts when the culture passes to stationary phase of growth and reaches the maximum on the 10-13 day of cultivation. The quantitative and qualitative composition of phytohormones produced by bacteria depends on sources of carbon, nitrogen and the presence of growth factors in nutrient medium. The use of the nutrient medium components, leading to a decrease in biomass concentration, leads to increase of accumulation of growth-promoting factors by bacteria. The composition of the medium helps to ensure a cultural liquids with a maximum biological activity was established.

ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА БЕЛКОВЫХ ГИДРОЛИЗАТОВ ИЗ МЕСТНОГО СЫРЬЯ

¹Мадьяров Ш.Р., ²Усманов П.Б., ²Ташмухамедов Б.А.

Институт зоологии АН РУз, Ташкент. E-mail: shuhm@yandex.ru

²Институт физиологии и биофизики АН РУз, Ташкент, Узбекистан

Белковые гидролизаты широко используются для парентерального питания, в коррекции неполноценного белкового питания, в медицинском безаллергенном питании, в микробиологии, в качестве полифункциональных лечебных и профилактических средств, иммуномодулирующих компонентов в БАДах, антиоксидантов, вкусовых добавок, в косметике и для др. целей.

В настоящем исследовании апробирован ряд потенциальных белковых продуктов, отходов сельского хозяйства и пищевой промышленности. Среди них не утилизируемая у нас в настоящее время кровь сельхоз. животных и её компоненты, желатин, молочная сыворотка, хлебопекарные дрожжи, белки хлопкового и соевого шротов, фиброин и серицин шелка и другие белковые материалы и отходы, решая в то же время проблемы безотходности.

В работе использовали химические и ферментативные методы, а также автолиз белковых продуктов. Для повышения эффективности кислотного или щелочного гидролиза использовали избыточное давление в среде, предупреждающей окисление и деструкцию продуктов гидролиза. После гидролиза среду охлаждали, не допуская разбавления, нейтрализовали и упаривали. Фракционирование, анализ характеристик продуктов гидролиза осуществляли ультрафильтрацией, диализом, гельпроникающей хроматографией, бумажной и тонкослойной хроматографией, а также

спектрофотометрически.

В результате исследования, используя ранее усовершенствованный метод гидролиза белков натурального шелка, были найдены оптимальные условия для эффективного гидролиза изученных белковых материалов растительного и животного происхождения до получения смеси продуктов (пептидов и аминокислот), обладающих биологическим действием. Показано также, что гидролиз в условиях, близких к физиологическим, с использованием автолиза и (или) ферментов дает более высокий выход нативных продуктов.

Полученные продукты гидролиза были сравнены по физико-химическим свойствам с аналогичными препаратами российского (автолизат пекарских дрожжей «Александрина») и препаратами гидролизатов фиброина шелка китайского и южно-корейского производства, а также с другими коммерческими препаратами белковых гидролизатов. Полученные по предлагаемому методу гидролизаты белков не уступали по свойствам зарубежным аналогам. Например, гидролизаты фиброина, полученные в настоящей работе, не требовали дополнительной очистки. Эти и другие охарактеризованные гидролизаты в настоящее время апробируются в составах искусственных питательных сред в качестве биостимуляторов развития и продуктивности в биотехнологии насекомых и биоинсектицидов последнего поколения.

OBTAINING AND CHARACTERIZATION OF PROTEIN HYDROLYSATES FROM LOCAL RAW MATERIALS

¹Madyarov Sh.R., ²Usmanov P.B., ²Tashmukhamedov B.A.

¹Institute of Zoology. Uzbek Academy of Sciences. 1, Niyazov Str., Tashkent, 700095, Uzbekistan, E-mail: shuhm@yandex.ru

²Institute to Physiology and Biophysicists. Uzbek Academy of Sciences. Tashkent, Uzbekistan.

Protein hydrolysates are broadly used for parenteral feeding, for correction of incomplete protein and allergen-free feeding, as well as in microbiology, as polyfunctional medical and preventive remedies, as immunomodulatory components in biologically-active additives, antioxidants, flavor additives, in cosmetics and for others purposes.

The some of potential protein products, wastes of agriculture and food industry are tested in present study. Among them are: nonutilizable at present blood of agricultural animals and its components, gelatin, lacto serum, baker's yeast, proteins of cotton's and soya cake, silk fibroin and sericin and other protein materials and waste. Simultaneously we solved a problem of wastelessness.

In the work we used chemical and enzymatic methods, as well as autolysis of protein products. For increasing of efficiency of acidic or alkaline hydrolysis we used the surplus pressure in the media, preventing oxidation and destruction of hydrolysis products. Then the hydrolysates was cooled down, neutralized and evaporated.

Fractionation, analysis and specification of hydrolysis products were realized by ultra-filtration, dialysis, gel-permeation chromatography, paper and thin-layer chromatography, as well as by spectrophotometry.

As a result of the study, using earlier improved method of natural silk proteins hydrolysis we have found optimal conditions for efficient hydrolysis of studied protein materials of vegetable and animal origin to obtain products mixture (peptides and amino acids) with biological effect. It is shown also that hydrolysis in close to physiological conditions, with use of autolysis and (or) enzymes gives higher output of native products.

The obtained products of hydrolysis were compared by physico-chemical characteristics with similar Russian preparations (baker's yeast autolysate "Alexandrina") and with Chinese and South Korean

preparations of silk fibroin hydrolysates, as well as with other commercial preparations of protein hydrolysates. Protein hydrolysates obtained by proposed method did not yield to foreign analogues by its characteristics. For example, fibroin hydrolysates obtained in the present work did not require the additional purification. At present these and other characterized hydrolysates are tested in composition of artificial diets as biostimulator of development and productivity in biotechnology of insects and biopesticides of last generation.

СИНТЕЗ АНТИКОРРОЗИОННЫХ БИОЦИДОВ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ

Мавлоний М.Э.¹, Нурманов С.Э.²,

¹Институт микробиологии АН РУз,

²Национальный университет Узбекистана им. Мирзо Улугбека, г. Ташкент, Узбекистан

Нефтегазовая промышленность требует значительного капиталовложения из-за низкой надежности и долговечности применяемого оборудования и коммуникаций при их эксплуатации в коррозионных средах. Значительные затруднения связаны с микробиологической коррозией резервуаров для хранения нефти и нефтепродуктов.

Нами была проведена качественная и количественная оценка степени бактериальной зараженности. Установлено, что возбудителями биокоррозии нефтепромыслового оборудования месторождений Южный Уртабулак, Северный Уртабулак, Кокдумалак и Курук являются сульфатредуцирующие и гетеротрофные бактерии. С целью разработки способов защиты нефтепромысловых трубопроводов от коррозии нами синтезирована серия ацетиленовых спиртов и их виниловых эфиров: 3-метилбутин-1-ол-3, 3-метилпентин-1-ол-3, 1-фенил-3-метилбутин-1-ол-3, виниловый эфир 1-фенил-3-метилбутин-1-ола-3, 1-фенил-3-метилпентин-1-ол-3, 1-фенил-3-метил-3-акрилоилбутин-1, бутин-3-ол-2, гексин-3-диол-2,5. В результате изучения действия синтезированных препаратов на сульфатредуцирующие и железобактерии-основных возбудителей биокоррозии отобрано 3 ингибитора: гексин-3-диол-2,5; 1-фенил-3-метилбутин-1-ол-3 и виниловый эфир 1-фенил-3-метилбутин-1-ола-3. Исследовано влияние различных факторов (природа и количество катализаторов, температура и др.) на ход процесса и выходов полученных соединений. Изучены электронная структуры, распределение зарядов в молекулах, а также определены различные квантово-химические характеристики синтезированных веществ. Разработана технология производства нового биоцида 1-фенил-3-метилбутин-1-ола-3 на ОАО "Навоийазот". Указанные биоциды нового поколения рекомендованы для внедрения в нефтедобывающую промышленность как средства защиты нефтепромыслового оборудования от коррозии.

SYNTHESIS OF ANTICORRESION BIOCIDES OF NEW GENERATION

Mavloniy M.E.¹, Nurmanov C.E.²

¹INSTITUTE OF MICROBIOLOGY AS RUz,

²NATIONAL UNIVERSITY OF UZBEKISTAN AFTER NAME MIRZO ULYGBEK, city TASHKENT

Oil-gas industry has required considerable capital investments because of low safety and longevity of using equipment and communications at their exploitation in corrosion mediums. Some considerable difficulties are binded with microbiological corrorion of reservoirs for storage of oil and oil products.

We have carried out qualitative and quantitative values of degree of bacterial infection. It was determined, it at agents of biocorrosion of oil field equipment of deposits of South Urtabulak, North Urtabulak, Kokdumalak and Kuruk are sulfat-reduced and heterotrophic bacteriums with aim of elaboration of method for protection of oil-field pipe-lines from corrosion we have synthesized some acetulenic alcohols and their vinyl ethers: 3-methylbutyne-1-ol-3; 3-methylpentyne-1-ol-3; 1-phenyl-3-methylbutyne-1-ol-3; vinyl ether of 1-phenyl-3-methylbutyne-1-ol-3; 1-phenyl-3-methylpentyne-1-ol-3; 1-phenyl-3-methyl-3-acryloilbutyne-1; butyne-1-ol-2; hexyne-3-diol-2,5. In the result of investigation of some obtained preparates action on the sulphat-reduced and ferrumbacterium -the main agents of biocorrosion 3 in hibitors were selected hehun -3-diol-2,5; 1-phenil-3-methylbutyn-1-ol-3 and vinyl ether 1-phenil-3-methylbutyne-1-ol-3. Electronic structure, distributions of charges in molecules were investigated and also different quantum-chemical parameters of synthesize compounds were determined. Inflnence of different factors (nature and quantity of catalysts, temperature and some others) on investigated process and yield of obtained compounds. Technology of new biocide 1-phenil-3-methylbutyne-1-ol-3 on the enterprise "Navoiyazot" was developed. The obtained biocides of new generation were recommended for introduction in oil-extractive industry as prodection means for oil-produced equipment from corrosion.

АКВАКУЛЬТУРА МИКРОВОДОРОСЛЕЙ ДЛЯ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА В АНТАЛЬЕ

Фархад Сабир оглы Омаров

Директор, Agrohayat Ltd (Antalya, Turkey)

Agrohayat Ltd, M.Kasapoglu Cad. 23, Gokhan Is Merkezi, B blok, No. 1, 07160, Анталья, Турция

Проведены исследования в области промышленной аквакультуры микроводорослей с использованием природных ресурсов в Анталье, Турция. Проводилось изучение и управление методами получения биомассы микроводорослей *Arthrospira (Spirulina)*, *Asteromonas*, *Anabaena*, *Chlorella*, *Dunaliella*. Современные сельскохозяйственные технологии как в мире так и в Турции основаны на значительном применении удобрений. Но химические удобрения несут негативное значение – происходит загрязнение земли и грунтовых вод. Это приводит к отравлению и ухудшению качества сельскохозяйственной продукции. Agrohayat видит колоссальный потенциал применения биомассы микроводорослей (практической алготехнологии) в сельском хозяйстве. Поэтому Agrohayat выполнил ряд задач в сфере создания эффективных экологически чистых удобрений на основе биомассы микроводорослей (хлорелла и др.). Эти органические удобрения позволят осуществить комплексный подход к проблеме восстановления и повышения плодородия почвы и эффективности производства сельскохозяйственной продукции. Органические удобрения из микроводорослей (хлорелла и др.) позволят производить в Турции высококачественную продукцию для внутреннего рынка и что очень важно – на экспорт в Европу. Органические удобрения из микроводорослей (хлорелла и др.) имеют полную биологическую утилизацию и производятся с применением «экологически чистой технологии», в этих технологиях не применяется сжигание углеводородного сырья и не загрязняется окружающая среда. Уникальность новой технологии производства органических удобрений заключается в возможности использовать благоприятные климатические параметры провинции Анталия (солнце, теплый климат, вода). Также показана возможность переработки отходов животноводческих ферм и сточных вод с применением высокопродуктивного штамма хлореллы в органическое удобрение для традиционного земледелия.

AQUACULTURE OF MICROALGAE FOR AGRICULTURE IN ANTALYA

Farhad Sabir oglu Omarov,

Director, partner

Agrohayat Ltd (Antalya, Turkey),

Agrohayat Ltd, M.Kasapoglu Cad. 23, Gokhan Is Merkezi, B blok, No. 1, 07160, Antalya, Turkey

Researches in the field of industrial aquaculture of microalgae are carried out in Antalya (Turkey) with the use of natural resources. Studying and management of methods of reception of biomass of microalgae *Arthrospira (Spirulina)*, *Asteromonas*, *Anabaena*, *Chlorella*, *Dunaliella* was spent.

Modern agricultural technologies, both in Turkey and the rest of the world, are based on a substantial fertilizer use. However, chemical fertilizers bear external costs – earth and ground water pollution. This leads to pollution and a deteriorating quality of produce. Agrohayat sees enormous potential of application of biomass of microalgae (practical algae-technology) in agriculture. Therefore Agrohayat has executed a number of problems in following spheres. To create the organic fertilizers from microalgae (chlorella etc.) allow production of high-quality produce in Turkey, for consumption in the domestic markets as well as for exports to Europe. European standards on chemical reagents in vegetables and fruits are extremely strict. Organic fertilizers from microalgae are entirely biologically utilizable. Organic fertilizers from microalgae and cyanobacteria's are produced using "clean technology" based on the use of natural resources – favorable climatic conditions and sunlight. These technologies do not involve burning of carbon-based compounds and thus do not pollute the air.

Organic fertilizers from microalgae (chlorella etc.) allow re-cultivating of the soil (recovery of agricultural lands). This involves supplying the soil with microelements, biological nitrogen and phosphorus and lowering the acidity of the soil.

Algae-biotechnology is the industrial use of licensed (patented strains) of microalgae in order to produce valued organic products. The uniqueness of our new technology of organic fertilizer production lies in the possibility of use of the favorable climatic parameters of the Antalya province (sun, warm climate, natural water). An important indicator of the project is the ability to effectively convert sewage waters (from livestock farms, for example). It is also possible to convert sewage into organic fertilizers for traditional agriculture by using a highly productive strain of microalgae and cyanobacteria's.

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА «ВЕРБАКТИН» НА ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ ОТВЕТ РАСТЕНИЙ ХЛОПЧАТНИКА

Рузиева Д.М., Насметова С.М., Каримова Ф.А., Ташпулатов Ж.Ж.,

Ходжибаева С.М., Гулямова Т.Т.

Институт микробиологии,

100128, Узбекистан, Ташкент, ул. А.Кадыри, 7Б,

e-mail: imbasru@uzsci.net

Одним из показателей эффективности действия биоконтрольных препаратов является повышение уровня индуцированной устойчивости к патогену в обработанных растениях, выявляемых по активности пероксидазы, β -1,3-глюканазы и хитиназы, относящихся к PR-белкам.

Нами при сравнительном анализе ферментативной активности в отдельных органах растений хлопчатника было показано, что наиболее чувствительные изменения в ферментативной активности наблюдаются в экстракте листьев (цитозоле), где ферменты синтезируются, и межклеточной

жидкости, которая является одним из основных сигнальных путей растения.

Так, было установлено, что в фазе созревания уровень пероксидазной активности в контрольных растениях составляет $1,5 \pm 0,1$ Е/ мг белка в цитозоле и $2,2 \pm 0,1$ Е/ мг белка в межклеточной жидкости. В растениях же, обработанных препаратом, внутриклеточная активность пероксидазы выросла до $8 \pm 0,3$ Е/ мг белка, в то время как в межклеточной жидкости она составила $3,4 \pm 0,2$ Е/ мг белка. Аналогично этому, в обработанных растениях наблюдалось увеличение β -1,3-глюканазной активности. В опытных растениях она возрастала более чем в 5 раз по сравнению с контролем (от $0,45 \pm 0,02$ до $2,4 \pm 0,1$ ед/мг белка - в цитозоле и $0,84 \pm 0,04$ до $4,9 \pm 0,2$ ед/мг белка - в межклеточной жидкости). В то же время хитиназная активность в фазе созревания не обнаруживалась в межклеточной жидкости опытных растений, но в экстракте листьев ее активность была несколько выше, чем в контрольных растениях, составляя $1,4 \pm 0,2$ Е/ мг белка против $1,0 \pm 0,06$ Е/ мг белка в контроле.

О положительном эффекте препарата свидетельствуют также данные, полученные при изучении влияния препарата «Вербактин» на уровень синтеза салициловой кислоты и фитогормонов, также являющихся показателями устойчивости растений. Так, методом ВЭЖХ показано, что в фазе созревания содержание гибберелловой (ГК) и индолилуксусной кислот (ИУК) в экстрактах листьев составляет в опытных вариантах $6,5 \pm 0,6$ мкг/мл и $5,2 \pm 0,6$ мкг/мл против $3,3 \pm 0,3$ мкг/мл ГК и $4,8 \pm 0,4$ мкг/мл ИУК в контроле. Значительно повышается содержание салициловой кислоты, составляя в опытных образцах $4,8 \pm 0,2$ мкг/мл, а в контрольных $1,9 \pm 0,1$ мкг/мл.

Таким образом, полученные данные показывают, что обработка препаратом способствует повышению активности ферментов, связанных с развитием индуцированной системной устойчивости. Более, на наш взгляд, полученные данные косвенно указывают на то, что в фазе созревания обработка препаратом может оказывать влияние на уровень синтеза этих ферментов, о чем свидетельствует значительное увеличение ферментативной активности в цитозоле, обеспечивая, таким образом, более высокую степень устойчивости, проявляющуюся затем в межклеточных путях.

INFLUENCE OF PREPARATION VERBACTIN ON ENZYMATIC RESPONSE OF COTTON PLANTS

**Ruzieva D.M., Nasmetova S.M., Karimova F.A.,
Tashpulatov J.J., Khodjibaeva S.M., Gulyamova T.G.**

Institute of microbiology,

7b A.Kadyri street, Tashkent, Uzbekistan, 100128, imbasru@uzsci.net

The increased level of induced resistance to pathogen in treated plants revealed by activity of peroxidase, β -1,3-glucanase and chitinase related to PR-proteins, is one of indices of efficiency of biocontrol preparations. Comparative analysis of enzymatic activity in separate parts of cotton plants revealed that the most sensitive changes are observed in extracts of leaves (cytosol), where enzymes are synthesized, and in intercellular washing fluid (IWF), which is one of main signal pathways of plant.

It was established that in phase of maturing the level of peroxidase activity in control plants is equal to 1.5 ± 0.1 U/mg of protein in cytosol and to 2.2 ± 0.1 U/mg of protein in IWF. Whereas, peroxidase activity of cytosol in plants treated with Verbactin raised to 8 ± 0.3 U/mg of protein and in IWF it was equal to 3.4 ± 0.2 U/mg of protein. Similarly to this, increased β -1,3-glucanase activity was observed in treated plants. It increased more than five times in treated plants compared to control (from 0.45 ± 0.02 to 2.4 ± 0.1 U/mg of protein in cytosol and from 0.84 ± 0.04 to 4.9 ± 0.2 U/mg of protein in IWF). At the same time, chitinase activity in phase of maturing was not observed in IWF of treated plants, but in leaves'

cytosol its activity was a bit higher compare to control (1.4 ± 0.2 U/mg of protein and 1.0 ± 0.06 U/mg of protein respectively).

Positive effect of preparation is also confirmed by data obtained at study of Verbactin influence on level of synthesis of salicylic acid (SA) and phytohormones, which are indices of plant resistance. HPLC analysis revealed that in phase of maturing content of gibberellic (GA) and indoleacetic acids (IAA) in leaves' extracts of treated plants is equal to 6.5 ± 0.6 μ g/ml and 5.2 ± 0.6 μ g/ml compared to control 3.3 ± 0.3 μ g/ml GA and 4.8 ± 0.4 μ g/ml IAA, respectively. Content of SA is also increased considerably in treated plants (4.8 ± 0.2 μ g/ml) compared to control (1.9 ± 0.1 μ g/ml).

Thus obtained data shows that treatment with Verbactin preparation promotes to increased activity of enzymes linked with development of induced system resistance. Moreover, obtained data indirectly points out on fact that in phase of maturing treatment with Verbactin may express influence on level of synthesis of these enzymes, which is proved by considerable increase of enzymatic activity in cytosol, securing by this higher level of resistance, expressed later in intercellular pathways.

СПОСОБ ЗАЩИТЫ ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА ОТ БИОТИЧЕСКИХ И АБИОТИЧЕСКИХ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ

Ветошкина Д.В.¹, Чепурнова М.А.¹, Бабкина Е.Е.¹, Пиголева С.В.², Захарченко Н.С.²

¹Тульский Государственный университет, 300600, г. Тула, пр. Ленина, 92.

²Филиал Учреждения Российской академии наук Института биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 142290, г. Пущино, пр. Науки, д.6.

С учетом биологической безопасности, колонизация растений ассоциативными микроорганизмами и получение трансгенных растений с генами, экспрессия которых приводит к повышению устойчивости к биотическим и абиотическим стрессам, представляются наиболее перспективными технологиями.

Целью нашей работы было исследование взаимодействия растений томата, хрустальной травки, капусты и табака с ассоциативными микроорганизмами: *Pseudomonas aureofaciens* BS1393 ВКМ В-2188, *P. aureofaciens* (RFP), *P. putida* KT 2442::gfp (pNF142::TnMod) (Km^r, Tc^r) и *Methylovorus mays* ВКМ В-2221, а также получение трансгенных растений с геном антимикробного пептида цекропином P1 и исследование эффекта его экспрессии.

Микробиологическими и микроскопическими методами с помощью флуоресцентных белков показана стабильная ассоциация растений с бактериями. Колонизованные растения отличались повышенными морфологическими свойствами, ускоренным ростом, лучшим укоренением и адаптацией к условиям *in vivo*, повышенной устойчивостью к фитопатогенам. Ассоциативные бактерии способствуют нейтрализации растениями ксенобиотика 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты. Присутствие гена цекропина P1 в геноме исследуемых растений было подтверждено методом ПЦР-анализа ДНК с праймерами к целевому гену *sec P1*. Для анализа уровня экспрессии целевого гена растительные белки, выделенные из каждой линии растений, анализировали с помощью иммуноферментного метода. Полученные результаты показали перспективность применения генноинженерных технологий, а также метода колонизации растений ассоциативными микроорганизмами для защиты растений от биотических и абиотических стрессовых факторов.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 10-04-90781-моб_ст.

WAY TO PROTECT SEED OF BIOTIC AND ABIOTIC STRESS FACTORS

Vetoshkina D.¹, Chepurnova M.¹, Babkina E.¹, Pigoleva S.², Zakharchenko N.²

¹*Tula State University, 300600, Tula, prospect Lenina, 92*

²*Branch of Shemyakin & Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry Russian Academy of Sciences, 142290, Pushchino, Moscow region, prospect Science, 6*

Given the biological safety, the colonization of plant-associative microorganisms and obtaining transgenic plants with genes whose expression leads to increased resistance to biotic and abiotic stresses, seem the most promising technologies.

The aim of our study was to investigate the interaction of tomato plants, crystal grass, cabbage and tobacco-associative microorganisms: *Pseudomonas aureofaciens* BS1393 VKM B-2188, *P. aureofaciens* (RFP), *P. putida* KT 2442:: gfp (pNF142:: TnMod) (Kmr, Tcr) and *Methylovorus mays* VKM B-2221, and obtaining transgenic plants with the gene of the antimicrobial peptide cecropin P1 and study the effect of its expression.

Microbiological and microscopic methods using fluorescent proteins demonstrated a stable association of plants with bacteria. Colonized plants have increased morphological properties, growth, better rooting and adaptation to the conditions in vivo, increased resistance to pathogens. Associative bacteria contribute to the neutralization plant xenobiotic 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. The presence of cecropin P1 gene in the genome of the studied plants was confirmed by PCR analysis of DNA with primers to the target gene cec P1. To analyze the expression level of target gene vegetable proteins isolated from plants of each line were analyzed by ELISA. The results showed promising application of genetic engineering technology, as well as the method of the colonization of plant-associative microorganisms for plant protection against biotic and abiotic stress factors.

This work was supported by Grant *RFFR*: 10-04-90781-mob_st.

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА ВЕРБАКТИН НА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ В ОРОШАЕМЫХ СЕРОЗЕМНЫХ ПОЧВАХ

Золотилина Г. Д., Ходжибаева С. М., Федорова О. А., Ташпулатов Ж. Ж.

Институт микробиологии,

100128, Узбекистан, Ташкент, ул. Кадыри 7б,

e-mail: imbasru@uzsci.net

Вертициллезный вилт хлопчатника широко распространен и наносит значительный ущерб продуктивности хлопка-сырца. В последние годы при разработке биоконтроля вилта хлопчатника особое внимание уделяется биологическим методам. Нами на основе продуктов жизнедеятельности комплекса микроорганизмов разработан препарат Вербактин, изучено его влияние на микробные сообщества в лабораторных, вегетационных, полевых условиях. Показано, что в микробиологических процессах участвуют различные группы бактерий, актиномицетов и микроскопических грибов. Обработка семян хлопчатника препаратом Вербактин стимулировала рост полезных почвенных бактерий, обогащающих корневую систему активными метаболитами, что положительно повлияло на всхожесть семян, рост и развитие растений. Установлено, что Вербактин активизировал сообщества почвенных микроорганизмов, минерализующих органические и минеральные соединения, переработку перегноя почвы, в том числе: аммонификаторов, олигонитрофилов, азотобактера, нитрификаторов, аэробных целлюлозоразлагающих, денитрифицирующих, а также

актиномицетов и микроскопических грибов. В ризосфере больного вилтом хлопчатника увеличение численности микроорганизмов происходило за счет фитопатогенов: грибов *Verticillium dahliae*, *V.lateritium*, *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *F. gibbosum*, *Paecilomyces varioti*, бактерий родов *Xanthomonas*, *Erwinia*, *Pseudomonas*. У здорового растения, за счет микроорганизмов-антагонистов фитопатогенов хлопчатника. Среди актиномицетов и бактерий выявлены микроорганизмы, синтезирующие фитогормоны – ауксины, гиббереллины.

Таким образом, использование Вербактина для биоконтроля вертициллезного вилта хлопчатника является эффективным способом активации микробных сообществ орошаемых сероземных почв.

Работа выполнена в рамках проекта CRDF UZB 31034.

VERBACTIN INFLUENCE ON MICROBIOLOGICAL ACTIVITY OF IRRIGATED SEROZYOM SOILS

Zolotilina G.D., Khodjibaeva S.M., Fedorova O.A., Tashpulatov J.J.

Institute of microbiology,

7b Kadyri street, Tashkent, Uzbekistan, 100128

e-mail: imbasru@uzsci.net

Verticillium wilt on cotton is widely distributed and causes considerable loss to cotton production. Nowadays at development of cotton wilt controlling technologies a special attention is paid to biological methods. A Verbactin preparation was developed on base of secondary metabolites of microorganisms. Its influence on microbial community in laboratory, vegetative and field trails was studied.

It was established that different groups of bacteria and filamentous fungi participate in microbiological processes in soil. Treatment of cotton seeds with Verbactin stimulated growth and development of useful soil borne bacteria enriching root system of cotton plant with active metabolites that positively impacted both the seeds' germination and growth and development of cotton plants. It was determined that Verbactin activated community of soil borne microorganisms mineralizing organic and mineral compounds, transforming of soil humus, including ammonifying and oligonitrophilic bacteria, Azotobacter, denitrifying bacteria, actinomycetes and filamentous fungi.

Increased number of microorganisms on account of phytopathogenic microorganisms (*Verticillium dahliae*, *V. lateritium*, *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *F. gibbosum*, *Paecilomyces varioti*, *Xanthomonas sp.*, *Erwinia sp.*, *Pseudomonas sp.*) was observed in rhizosphere of wilt infected cotton plants. Study of rhizosphere of a healthy cotton plants revealed an increased presence of microorganisms-antagonists. Microorganisms possessing the growth stimulating activity on account of phytohormones (auxin and gibberillin) were identified among actinomycetes and bacteria as well.

Thus, the application of Verbactin for biocontrol of Verticillium wilt on cotton may be considered effective approach for of activation of microbial community on irrigated serozyom soil.

This work was supported by the CRDF project UZB 31034.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ КЛЕТОК РИЗОБАКТЕРИЙ *P. BACILLUS*, ОБЛАДАЮЩИХ ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНЫМИ СВОЙСТВАМИ

Закирьяева С.И., Джуманиязова Г.И.

Институт микробиологии Академии Наук Республики Узбекистан

г. Ташкент, Узбекистан, ул. А. Кадыри, 7б. e-mail: gulnara2559@mail.ru

Для получения сухих препаративных форм бактериальных удобрений на основе фосформобилизующих ризобактерий весьма перспективным представляется применение метода иммобилизации для хранения микроорганизмов в жизнеспособном и активном состоянии.

Нами изучена физиологическая активность иммобилизованных на каолине, фосфоритной муке и биокомпосте клеток фосформобилизующих ризобактерий р. *Bacillus* - *B. megaterium*, BM-1, *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum*, BMVP-11, *B. subtilis* 26. После длительного (4 года) хранения в стерильных носителях ризобактерии не потеряли свою способность к кислотообразованию, т.е. способности к мобилизации P_2O_5 из $Ca_3(PO_4)_2$. Изучение фосфатазной активности иммобилизованных клеток показало, что не все носители способны сохранять ее.

Иммобилизованные на биокомпосте клетки *B. megaterium* var. *phosphaticum*, BMVP-11 показали наиболее высокую фосфатазную активность – 0,093 – 0,091 мг P_2O_5 в 1 мл по сравнению с иммобилизованными на фосфоритной муке и каолине (0,061 и 0,057 мг P_2O_5 в 1 мл), тогда как фосфатазная активность свободных клеток была равна 0,058 мг P_2O_5 в 1 мл. Иммобилизованные на фосфоритной муке клетки *B. subtilis* 26 обладали более высокой фосфатазной активностью – 0,05 мг P_2O_5 в 1 мл, чем иммобилизованные на каолине (0,01 мг P_2O_5 в 1 мл). Фосфатазная активность свободных клеток составляла 0,06 мг P_2O_5 .

Изучение ростстимулирующей, корнеобразующей и антагонистической активности иммобилизованных на различных носителях клеток фосформобилизующих ризобактерий р. *Bacillus* показало их стабильность по этим признакам.

Таким образом, использование в качестве наполнителей каолина, фосфоритной муки и биокомпоста является перспективным для получения сухих препаративных форм бактериальных удобрений на основе фосформобилизующих бактерий, обладающих полифункциональными свойствами.

THE PHYSIOLOGICAL ACTIVITY OF THE IMMOBILIZED CELLS OF RHIZOBACTERIA OF *G. BACILLUS* POSSESSING POLYFUNCTIONAL PROPERTIES

S.I. Zakiryaeva, G.I. Djumaniyazova

Institute of microbiology of Academy Science of the Republic of Uzbekistan

7b A. Kadiri str., Tashkent, Uzbekistan, e-mail: gulnara2559@mail.ru

For reception dry preparatory forms of the bacterial fertilizers on the basis phosphor mobilizing rhizobacteria more perspective introduces using the method to immobilizations for keeping microorganism in viable and active condition.

We are studied physiological activity of cells phosphor mobilizing rhizobacteria of g. *Bacillus* - *B. megaterium*, BM-1, *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum*, BMVP-11, *B. subtilis* 26, immobilized on kaolin, phosphorite flour and biokompost. After long-term storage (4) in sterile carrier rhizobacteria did not lost its ability to form acid i.e. abilities to mobilizations P_2O_5 from $Ca_3(PO_4)_2$. The study of phosphatase

activity of the immobilized cells have shown that not all carriers capable to save it. The immobilized on biokompost cells *B. megaterium* var. *phosphaticum*, BMVP-11 have shown the most high phosphatase activity – 0.093 – 0.091 mg P_2O_5 in 1 ml in contrast with immobilized on phosphorite flour and on kaolin (0.061 and 0.057 mg P_2O_5 in 1ml), whereas the phosphatase activity of free cells was 0,058 mg P_2O_5 in 1ml. The immobilized on phosphorite flour cells *B. subtilis* 26 had more high phosphatase activity – 0.05 mg P_2O_5 in 1ml, than immobilized on kaolin (0.01mg P_2O_5 in 1ml). The phosphatase activity of free cells was 0.06 mg P_2O_5 .

The study growth stimulating, root formation and antagonistic activities of immobilized on different carrier the cells of phosphor mobilizing rhizobacteria of g. *Bacillus* has shown their stability on this characteristics.

Thereby, using as fillers the kaolin, phosphorite flour and biokompost is perspective for reception dry preparatory forms of the bacterial fertilizers the basis phosphor mobilizing rhizobacteria, possessing polyfunctional properties.

ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОГО БИОПРЕПАРАТА КОМПЛЕКСНОГО ДЕЙСТВИЯ НА СНИЖЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ТОКСИЧНЫХ СОЛЕЙ В ЗАСОЛЕННЫХ ПОЧВАХ

Джуманиязова Г.И., Нарбаева Х.С., Закирьяева С.И., Бабина А.Е.

Институт микробиологии Академии Наук Республики Узбекистан

г. Ташкент, Узбекистан, ул. А. Кадыри, 76. e-mail: gulnara2559@mail.ru

Важной проблемой сельского хозяйства является все возрастающее засоление почв. Повышенная концентрация солей, особенно хлористых, может действовать как разобщитель процессов окисления и фосфорилирования и тем самым нарушать снабжение растений фосфором.

Нами создан бактериальный биопрепарат комплексного действия на основе фосформобилизирующих ризобактерий хлопчатника р. *Bacillus*, устойчивых к высоким концентрациям (10-15%) хлоридных ($NaCl$, $MgCl$) и сульфатных (Na_2SO_4 , $MgSO_4$) токсичных солей. Биопрепарат предназначен для предпосевной бактеризации семян и испытан в полевых опытах на засоленных почвах. Интродуцированные ризобактерии р. *Bacillus* хорошо приживались и активно размножались в ризосфере хлопчатника. В результате pH засоленных почв постепенно снижалось в течение вегетации с 8,8 – 8,6 до 7,4-7,2. Биопрепарат оказал стимулирующее влияние на полезное микробное сообщество, вследствие чего произошли изменения катионно-анионного состава почв. В результате повысилось содержание подвижных, усвояемых растениями форм азота, фосфора, калия и др. элементов по сравнению с контрольными вариантами без ризобактерий. Биопрепарат стимулировал корнеобразование хлопчатника, а в результате лучшего усвоения воды и питательных элементов стимулировался рост хлопчатника. Урожайность повысилась на 5-6 ц/га, улучшились также показатели качества волокна.

Мы изучили в динамике в течение вегетационного периода хлопчатника изменения в содержании токсичных солей. Применение биопрепарата способствовало уменьшению в пахотном слое количества $NaCl$ на 0,18-0,29%, Na_2SO_4 на 0,24-0,13%, $MgSO_4$ на 0,23%. Таким образом, новый биопрепарат комплексного действия улучшает макро-микроэлементное питание растений, постепенно снижая степень засоления, зафосфачивания, загрязнения микотоксинами и пестицидами повышает плодородие засоленных почв.

THE INFLUENCE OF BACTERIAL BIOPREPARATION WITH COMPLEX EFFECTS ON DECREASING THE CONTENTS OF TOXIC SALTS IN THE SALINE SOILS

G.I. Djumaniyazova, Kh.S. Narbaeva, S.I. Zakiryaeva, A.E. Babina

Institute of microbiology of Academy Science of the Republic of Uzbekistan

7b A. Kadiri str., Tashkent, Uzbekistan, e-mail: gulnara2559@mail.ru

The important problem of agriculture is increasing salinization of the soils. The raised concentration of the salts, particularly chloride, can act as disconnector of the processes of the oxidation and phosphorylation and hereunder to break providing the plants by phosphorus.

We are created bacterial biopreparation with complex effects on the basis of phosphor mobilizing rhizobacteria of cotton plant g. *Bacillus* which stable to high concentration (10-15%) of chloride (NaCl , MgCl_2) and sulphate (Na_2SO_4 , MgSO_4) toxic salts. The biopreparation is intended for pre-sowing bacterization of seeds and tested in field experiments on saline soils. Introduced rhizobacteria of g. *Bacillus* good acclimated and actively propagated in the rhizosphere of cotton plant. In result the pH of saline soils decreased by degrees during the cotton plant growth from 8.8 – 8.6 to 7.4-7.2.

The biopreparation has rendered the stimulating influence on useful microbial community in consequence of which have occurred changes of cationic-anionic composition of soils. As a result increased the contents of mobile, assimilable by plants forms of the nitrogen, phosphorus, potassium and others element in contrast with checking variant without rhizobacteria. The biopreparation stimulated root formation of cotton plant, and as a result of the best assimilation of water and nourishing elements was stimulated growing of the cotton plant. The productivity increased on 5-6 c/he, were improved also factors of quality the filament.

We have studied in dynamics during the cotton plant growth the changes in contents of the toxic salts. Using the biopreparation promoted the reduction in arable layer amount of NaCl on 0.18-0.29%, Na_2SO_4 on 0.24-0.13%, MgSO_4 on 0.23%. Thereby a new biopreparation with complex effects capable to improve macro-microelemental feeding the plants, gradually reducing degree as salinization, phosphatization, and pollution by mycotoxins and pesticides to raise the fertility of saline soils.

**КРУГЛЫЙ СТОЛ «БИОТЕХНОЛОГИЯ И ЖИВОТНОВОДСТВО»
SEMINAR “BIOTECHNOLOGY AND ANIMAL BREEDING”****КРУГЛЫЙ СТОЛ «БИОТЕХНОЛОГИЯ И ВЕТЕРИНАРНАЯ МЕДИЦИНА»
SEMINAR “BIOTECHNOLOGY AND VETERINARY MEDICINE”****УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS****ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ПРОТЕИНОВ ИНДУСТРИАЛЬНОГО И
ВЕТЕРИНАРНОГО НАЗНАЧЕНИЯ НА ОСНОВЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСПРЕССИОННЫХ
ПЛАТФОРМ НА ПРИМЕРЕ ЭКСПРЕССИИ ПЕПТИДА M2E ГРИППА ПТИЦ ДЛЯ
СОЗДАНИЯ УНИВЕРСАЛЬНОЙ ПРОТИВОГРИППОЗНОЙ ВАКЦИНЫ**

Фирсов А.П.^{1,2}, Тарасенко И.В.^{1,2}, Митюшкина Т.Ю.^{1,2}, Таранов А.И.², Долгов С.В.^{1,2}.

¹Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии
РАСХН, ул. Тимирязевская 42, Москва, Россия, 127550;

²Филиал института биоорганической химии РАН им. акад. М.М. Шемякина и
Ю.А. Овчинникова, г. Пущино Московской обл, проспект Науки, 6, 142290

Целью исследования являлась экспрессия пептида M2e вируса гриппа птиц A/chicken/Kurgan/5/2005(H5N1) в растениях Ряска малой для последующей разработки съедобной вакцины. Для экспрессии был выбран N- терминальный фрагмент белка M2 длиной 30 а.о. Последовательность ДНК, соответствующая целевому фрагменту, была синтезирована методом лигирования синтетических олигонуклеотидов, нуклеотидная последовательность которых была предварительно оптимизирована для экспрессии в ряске. Далее полученная последовательность была клонирована в векторе pBI121 по сайтам XbaI и BamHI. Результирующая конструкция, pBIM130, содержала нуклеотидную последовательность пептида M2e в трансляционном слиянии с N- концом гена β-глюкуронидазы под контролем промотора 35S вируса мозаики цветной капусты. В результате трансформации каллусов ряска вектором pBIM130 были получены трансгенные растения. Присутствие рекомбинантного гена M2e- β-глюкуронидаза в трансгенных растениях было подтверждено методом ПЦР. Экспрессия слитого белка M2e- β-глюкуронидаза детектировалась методом Вестерн блот анализа с использованием антител против пептида M2e вируса гриппа птиц. В трансгенных растениях детектировалась иммунореактивная полоса ожидаемого размера (73 кДа), экспрессия пептида M2e наблюдалась во всех изученных линиях. Таким образом, нами был экспрессирован в трансгенных растениях ряска N- терминальный фрагмент белка M2 вируса гриппа птиц, включающий пептид M2e.

PRODUCTION OF RECOMBINANT PROTEINS FOR INDUSTRIAL AND VETERINARY PURPOSES BASED ON PLANT EXPRESSION PLATFORMS BY THE EXAMPLE OF AVIAN INFLUENZA M2E PEPTIDE EXPRESSION TO DEVELOPMENT A UNIVERSAL INFLUENZA VACCINE

Firsov A.P.^{1,2}, Tarasenko I.V.^{1,2}, Mitioushkina T.Y.^{1,2}, Taranov A.P.², Dolgov S.V.^{1,2}.

¹ *All-Russian Institute of Agricultural Biotechnology, Russian Academy of Agricultural Sciences, 42, Timiryazev st., Moscow, Russia 127550*

² *Branch of Shemyakin & Ovchinnikov Institute of RAS, Pushchino, Moscow Region, Russia, 142290*

The aim of this study was to express M2e peptide from avian influenza virus A/chicken/Kurgan/5/2005(H5N1) in duckweed for following development of edible vaccine. The fragment of M2 protein including 30 N-terminal amino acids was selected for the expression. DNA sequence corresponding to target peptide was synthesized by ligation of the synthetic oligonucleotides, M2e sequence being adapted previously for expression in duckweed. To produce plant expression vector, M2e DNA sequence was cloned into XbaI and BamHI sites of plasmid pBI121. The resulting plasmid (pBIM130) contained M2e encoding region fused in-frame to the 5' end of β -glucuronidase gene under control of cauliflower mosaic virus 35S promoter.

Duckweed calli were successfully transformed with pBIM130 and transgenic plants of duckweed were obtained. The presence of recombinant M2e- β -glucuronidase gene in the transformants was confirmed by PCR. The expression of fused M2e- β -glucuronidase protein was detected by Western blot using antibodies against M2e peptide of avian influenza virus. As expected, 73 kDa immunoreactive bands corresponding to M2e- β -glucuronidase fusion protein were detected in plants, peptide M2e was detected in all tested lines.

Thus, we expressed in transgenic duckweed N- terminal fragment of M2 protein of avian influenza virus A/chicken/Kurgan/5/2005(H5N1).

РОЛЬ МИКРООРГАНИЗМОВ В ДЕТОКСИКАЦИИ УСТОЙЧИВЫХ ПОЛЛЮТАНТОВ

Головлева Л.А.

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН Пущино.

Проблема взаимодействия биосферы с поступающими в нее устойчивыми поллютантами является одной из глобальных, стоящих перед человечеством. В результате деятельности человека в биосферу поступает во все возрастающем объеме поток веществ различного происхождения, главным образом неприродных синтетических соединений, которые наносят вред живым организмам и нарушают стабильность биогеноценозов, приводя, в конечном счете, к их деградации. В решении этой комплексной задачи микроорганизмам придается большое значение, тем более, что эффективных экономических способов разложения ксенобиотиков в биосфере, альтернативных микробиологическому, в настоящее время не существует. Ряд поллютантов, таких как галогенированные соединения, могут быть трансформированы в безопасные для человека соединения только микробиологическим путем. В настоящее время накоплен значительный материал как о конкретных путях метаболизма многих ксенобиотиков микроорганизмами, так и действии этих веществ на микроорганизмы. Однако до сих пор нет ясного представления о потенциальных возможностях микроорганизмов в детоксикации ксенобиотиков, в каких условиях они проявляются в максимальной степени, и о рациональных путях использования микроорганизмов для практического решения сформулированных проблем.

В докладе обобщены данные по микробной биоконверсии различных ксенобиотиков, являющихся приоритетными загрязнителями окружающей среды, таких как полиароматические углеводороды, хлорфенолы, ароматические амины, пестициды, взрывчатые вещества (ТНТ) и др. Описываются процессы и пути превращения этих соединений микроорганизмами, приводящие как к детоксикации поллютантов, так и к образованию соединений, более токсичных и более опасных для окружающей среды, рассматриваются энзиматические и генетические аспекты детоксикации ксенобиотиков, дается краткий анализ современных данных по структурным свойствам ключевых ферментов. Обсуждается экологическая роль воздействия микроорганизмов на устойчивые поллютанты.

THE ROLE OF MICROORGANISMS IN DETOXIFICATION OF PERSISTENT POLLUTANTS

Golovleva L.A.,

G.K. Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms RAS, Pushchino

Interaction between the biosphere and persistent pollutants is one of the global problems the mankind is faced with. Solution of this problem must be based on the following two principles: (1) reduction of the influx of pollutants into the biosphere by means of strict waste control and elimination of their uncontrolled influx and (2) degradation of xenobiotics (e.g., pesticides) introduced into the environment in due course to the end products by entering the natural biosphere cycles of elements.

Microorganisms play an essential role in solution of this complex problem, the more so as at present there are no effective economical methods of xenobiotic degradation in the environment alternative to the microbiological method. A number of pollutants such as halogenated compounds can be transformed into substances safe for humans only microbiologically.

At present, there are many data both on the specific metabolic pathways for different xenobiotics in microorganisms and on the effects of these compounds on microorganisms. However, up to now there have been no clear knowledge of the potential abilities of microorganisms for bioconversion and detoxification of xenobiotics, the conditions when they are manifested to the maximal extent and, hence, the rational ways of using microorganisms for practical solution of the formulated problems.

This presentation gives generalized data on microbial bioconversion of different xenobiotics (priority environmental pollutants) such as polyaromatic hydrocarbons, chlorophenols, aromatic amines, pesticides of different structures, explosives (TNT, RDX), etc. The pathways of bioconversion of these pollutants by microorganisms are described, which lead either to xenobiotic detoxification or to formation of more persistent and toxic compounds more dangerous for the environment. The enzymatic and genetic aspects of xenobiotic detoxification are discussed and the modern data on structural properties of the key enzymes responsible for pollutants degradation are analyzed. The ecological role of the action of microorganisms on persistent pollutants is discussed.

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД МИНИМИЗАЦИИ ПЕСТИЦИДНОГО СТРЕССА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР

Горовая А.И., Лисицкая С.М., Павличенко А.В.,

*кафедра экологии Национального горного университета, г. Днепрпетровск, Украина
пр. К. Маркса, 19, корп. 10; р.тел. (0562) 373-08-14; e-mail: gorovaalla49@ukr.net*

Выращивание сельскохозяйственных культур на пестицидном фоне приводит к структурным (генетическим) и функциональным изменениям в их соматических и половых клетках: блокированию процессов клеточного цикла, угнетению синтеза ДНК, РНК и белка в интерфазных ядрах и др. Глубина таких нарушений зависит как от нормы расхода действующего вещества и чувствительности к нему растительного организма, так и от активности его репарационных систем. Кроме того, пестицидные препараты, применяемые для предпосевной инкрустации семян имеют сложные составы, а именно включают инсектицидные компоненты против почвенной патогенной микрофлоры, фунгицидные – против внешней и семенной грибных инфекций и другие добавочные вещества, улучшающие технологические свойства препаратов.

Поэтому для снижения стрессовых воздействий различных пестицидов на сельскохозяйственные культуры, повышения нормализующего действия в клетках жизненно важных метаболических процессов, связанных с изменениями наследственного материала, нами предлагается вводить в составы предпосевных композиций природные адаптогены гуминового и липидного происхождения.

Показано, что применение 1 %-ного раствора гумината или гумата натрия (50–100 мл действующего вещества на 1 т семян) при выращивании поврежденных пестицидами проростков достоверно стимулирует компенсаторные внутриклеточные процессы, устраняет последствия мутагенности пестицидов и позволяет снижать их ингибирующее воздействие. Аналогичным механизмом действия обладает липидный комплекс биологически активных веществ, полученный на основе отходов щелочной рафинации растительных масел. Липидные компоненты в достаточно низких концентрациях (0,15–0,25 %) способны проявлять защитные пленкообразующие, адъювантные свойства, синергическое влияние на биохимическую активность пестицидов.

Использование в протравителях семян комплекса гуминовых и липидных веществ позволяет снизить практически в 2 раза дозу пестицидов с сохранением их биологической эффективности, приводящей к повышению биопродуктивности.

BIOTECHNOLOGICAL METHOD OF MINIMIZATION OF PESTICIDE STRESS OF AGRICULTURAL CROPS

Gorova A.I., Lysytska S.M., Pavluchenko A.V.

Cultivation of agricultural crops on a pesticide background leads to structural (genetic) and functional changes in their somatic and germ cells: blocking the processes of cellular cycle, inhibition of DNA, RNA and albuminous synthesis in interphase nuclei. The depth of such violations depends on both the application rate of active substance and sensitivity of the plant organism to it, and the activity of its repairing systems. In addition, the pesticide preparations used for pre-inlay of seeds have complex compositions, namely include insecticidal components against soil pathological microflora, fungicide preparations – against the outside and seed mushroom infections and other supplementary materials that improve the technological properties of preparations.

Therefore, to reduce the stressful effects of various pesticides on agricultural crops to, increase the

normalizing processes of their vital metabolic processes associated with changes in the hereditary material, we propose to enter into compounds presowing tracks natural adaptogens humic and lipid origin.

It is shown that the use of a 1% solution of sodium humate (guminata) (50-100 ml of active ingredient per 1 ton of seeds) for growing seedlings damaged by pesticides significantly stimulates compensatory intracellular processes, eliminates the effects of mutagenic pesticides and helps to reduce their inhibitory effects. A lipid complex of biologically active substances derived from the alkaline refining of waste oils a similar mechanism of action has. Lipid components in sufficiently low concentrations (0,15-0,25%) are able to demonstrate the protective film-forming, adjuvant properties, synergistic effect on the biochemical activity of pesticides.

Using of in disinfectants of seeds complex humic and lipid substances makes it possible to minimize the dose of pesticide almost 2 times preserving the biological effectiveness, that conduces to rise the bioproductivity.

БИОТРАНСФОРМАЦИЯ СИСТЕМ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА И ПОЛИМЕТИЛАКРИЛАТА ПОД ДЕЙСТВИЕМ МИКРОМИЦЕТОВ

**Калашников И.Н., Урьяш В.Ф., Смирнова Л.А., Кокурина Н.Ю., Мочалова А.Е.,
Смирнов В.Ф., Смирнова О.Н., Ларина В.Н.**

*Научно-исследовательский институт химии Нижегородского госуниверситета им.
Н.И. Лобачевского,*

Россия, 603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23/5

Гибридные полимерные композиции на основе природного полимера хитозана и полиметилакрилата обладают регулируемой устойчивостью к действию микроорганизмов, что позволяет получать системы как биостойкие, так и напротив, легко биоразлагаемые. Для целенаправленного регулирования их состава необходимо исследовать влияние компонентов на их физико-химические свойства. Поэтому нами были синтезированы блок-сополимеры крабового хитозана (ХТЗ) с метилакрилатом (МА), а также приготовлены смеси ХТЗ с полиметилакрилатом (ПМА) из растворов соответствующих гомополимеров. Перечисленные композиции подвергались воздействию микромицетов *Aspergillus terreus*. Методом дифференциального термического анализа в области $-190-350^{\circ}\text{C}$ изучены температуры релаксационных переходов и термодеструкция гибридных полимерных композиций на основе ХТЗ и ПМА. У обезвоженного ХТЗ проявилось несколько релаксационных переходов (β - и два расстеклования). Он разлагается в две стадии с выделением энергии в форме теплоты (302 и 328°C). Нами определена стандартная энтальпия сгорания ХТЗ (-3155.6 ± 13.3 кДж/моль) и рассчитана его стандартная энтальпия образования (-777.55 ± 13.3 кДж/моль). У ПМА проявилось расстеклование при 14.5°C . Разлагается ПМА в две стадии с поглощением энергии в форме теплоты (326 и 397°C). У блок-сополимера ХТЗ с МА проявляются переходы, характерные для обоих полимеров. На t_g ПМА хитозан не влияет. В свою очередь ПМА немного понижает t_g хитозана, не влияет на его t_{c1} и повышает t_{c2} . В смеси гомополимеров не проявился β -переход ХТЗ и не изменились его температуры стеклования. Воздействие микромицетов *Aspergillus terreus* на блок-сополимер ХТЗ с МА проявляется в изменении температур релаксационных переходов ХТЗ как в случае расположения пленки сополимера поверх грибов с питательной средой, так и когда пленка находилась под грибами с питательной средой.

BIOTRANSFORMATION OF SYSTEMS BASED ON CHITOSAN AND POLYMETHYLACRYLATE UNDER THE ACTION OF FUNGI

Kalashnikov I.N., Uryash V.F., Kokurina N.Yu., Smirnova L.A., Mochalova A.E., Smirnov V.F., Smirnova O.N., Larina V.N.

*Research Institute of Chemistry, Nizhny Novgorod State University,
Russia, 603950, Nizhny Novgorod, Gagarin Prosp., 23/5*

Hybrid polymer composites based on natural polymer chitosan and polymethylacrylate have adjustable resistance to the action of microorganisms, which allows to obtain biological stability of the system as well as on the contrary, easily biodegradable. For the purposeful control of their composition is necessary to investigate the influence of components on the physico-chemical properties. Therefore, we have synthesized block copolymers of crab chitosan (ChTS) with methylacrylate (MA), and cooked the mixture ChTS with polymethylacrylate (PMA) from the solutions of the corresponding homopolymers. The above compositions were exposed to fungi *Aspergillus terreus*. By differential thermal analysis in the $-190-350^{\circ}\text{C}$ temperature relaxation transitions were studied and the thermal destruction of the hybrid polymer composites based on ChTS and PMA. In dehydrated ChTS manifested several relaxation transitions (β - and two devitrification). It splits into two stages with the release of energy in the form of heat (302 and 328°C). We have determined the standard enthalpy of combustion ChTS (-3155.6 ± 13.3 kJ/mol) and calculated its standard enthalpy of formation (-777.55 ± 13.3 kJ/mol). At PMA apparent devitrification at 14.5°C . PMA splits in two stages with the absorption of energy in the form of heat (326 and 397°C). In the block copolymer with ChTS-MA manifest transitions characteristic of both polymers. At t_c PMA chitosan has no effect. In turn, PMA slightly lower t_{β} of chitosan, does not affect the t_{c1} and t_{c2} increases. In mixture of homopolymers did not appear β -transition of ChTS and has not changed its glass temperature transition. The impact of fungi *Aspergillus terreus* on the block copolymer ChTS with MA appears to change the temperatures of relaxation transitions ChTS as in the case of the location of the copolymer film on top of mushrooms with a nutrient medium, and when the film was under the mushrooms with a nutrient medium.

ЭЛЕКТРОСЛИЯНИЕ КОНСТРУКЦИЙ ЦИТОПЛАСТ – ФЕТАЛЬНЫЙ ФИБРОБЛАСТ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В РАСТВОРЕ БЕЗ СОЛЕЙ КАЛЬЦИЯ

Маленко Г.П., Комиссаров А.В., Степанов О.И.,

ГНУ НИИПЗК РАСХН,

140143 Московская обл., пос. Родники, Трудовая 6, Россия

При реконструкции эмбрионов трансплантацию ядра соматической клетки в цитопласт, как правило, осуществляют путем электрослияния клеток. Однако при этом может произойти преждевременное активирование цитопласта в результате проникновения ионов кальция из среды электроислияния (Willadsen, 1986; Prather et al., 1987; Sun, 1989; Collas and Robl, 1991). Целью нашей работы являлось изучить уровень активирования ооцитов крупного рогатого скота и эффективность электрослияния конструкций цитопласт – соматическая клетка, полученных по zona-free методом, под воздействием электроимпульса 1.8 кВ/см длительностью 20 мксек в 0.27 М растворе маннитола, не содержащем или при включении 50 мкМ хлористого кальция. В качестве положительного контроля активирования зрелые ооциты обрабатывали в растворе с 5 мкМ иономицина. Затем слившиеся конструкции и ооциты культивировали 4 часа в среде SOF, содержащей 2 мМ 6-DMP, а по истечении 16 часов окрашивали Hoechst 33342 и исследовали под микроскопом в УФ свете.

Наличие пронуклеуса свидетельствовало об активировании ооцитов.

В результате исключения солей кальция из среды электрослияния уровень активирования ооцитов под воздействием электроимпульса снизился почти в два раза (26 против 47%, соответственно), при уровне активирования под воздействием иономицина 80.8%. При этом уровень слияния конструкций фетальный фибробласт-цитопласт, подготовленных при помощи фитогемагглютинаина, составил 94.8% (510/538, 12 экспериментов. Таким образом, отсутствие солей кальция в среде электрослияния снижает вероятность активирования ооцитов крупного рогатого скота на этом этапе и не оказывает отрицательного влияния на эффективность электрослияния конструкций цитопласт – соматическая клетка, подготовленных с применением фитогемагглютинаина.

ELECTROFUSION OF BOVINE ZONA FREE CYTOPLAST-FETAL FIBROBLAST CONSTRUCTIONS IN THE CA-FREE MEDIUM

G.P. Malenko, A.V. Komissarov, and O.I. Stepanov

Afanasyev Research Institute for Breeding of Fur-Bearing Animals and Rabbits, Russian Academy of Agricultural Sciences, 140143 Trudovaya 6, Rodniki, Moscow Region, Russia

At reconstruction of embryos transplantation of somatic cell nuclei into cytoplasts is realized usually by electrofusion of cells. However, electrical impulse can result in untimely activation of cytoplast in consequence of Ca^{2+} penetration from electrofusion medium (Willadsen, 1986; Prather et al., 1987; Sun, 1989; Collas and Robl, 1991). The study purpose was to determine of activation bovine oocyte level and electrofusion effectiveness of zona-free cytoplast–somatic cell constructions by the direct current 1800 V/cm for 20 μs in 0.27 M mannitol solution without or with 50 μM CaCl_2 . The pairs cytoplast–fetal fibroblast was made manually by pipette in the medium T-PVA with 50 $\mu\text{g/ml}$ phytohemagglutinin. As positive control of activation matures oocytes were treated with 5 μM ionomycin. Then these oocytes and the fused constructions were incubated in SOF medium with 2 mM 6-DMAP for 4 hours at 39°C in an air conditioned medium with 5% CO_2 . At 16 hours they were painted by Hoechst 33342 and studied under microscope with UV-light. The oocytes and constructions with one pronucleus were regarded as activated.

The level activation of oocytes after the electrical impulse in medium with 50 μM CaCl_2 made up 47% and was reduced to 26% in medium without calcium. At that in medium without calcium salts successfully fused 94.8% of the zona free cytoplast–somatic cell pairs (510/538, 12 experiments). Accordingly, lack of calcium salts in electrofusion medium decreases probability of bovine cytoplast activation by the electrical impulse and does not lower effectiveness of electrofusion of pairs of the bovine zona free cytoplast–somatic cell prepared with phytohemagglutinin.

МОДИФИЦИРОВАНИЕ ПОВЕРХНОСТИ НАНОПОРИСТОГО УГЛЕРОДНОГО СОРБЕНТА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫМ КОМПОНЕНТОМ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ПТИЦЕВОДСТВЕ

Лихолобов В. А., Лавренов А.В., Пьянова Л.Г., Седанова А.В.,

Учреждение Российской академии наук Институт проблем переработки углеводородов Сибирского отделения РАН,

644040 г. Омск, ул. Нефтезаводская, 54, E-mail: medugli@ihpp.oscsbras.ru

В институте проводятся работы по модифицированию поверхности углеродных сорбентов биологически активными компонентами. Актуальность данных исследований связано с разработкой новых препаратов для ветеринарии.

Цель работы: модифицирование поверхности нанопористого углеродного сорбента биологически активным компонентом и исследование его свойств физико-химическими методами.

Объекты исследования: микросферический нанопористый углеродный носитель из дисперсного технического углерода (МНУМ). Модификатор: бетулин (3 β , 28-дигидрокси-20(29)-лупен)-тритерпеноид ряда лупана..

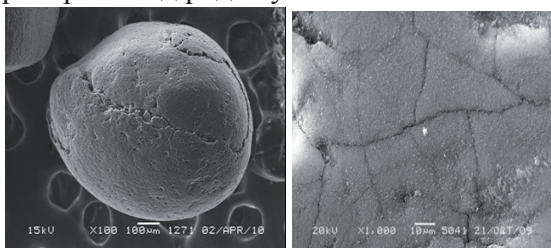


Рис.1 Электронно-микроскопические снимки гранулы и поверхности сорбента МНУМ

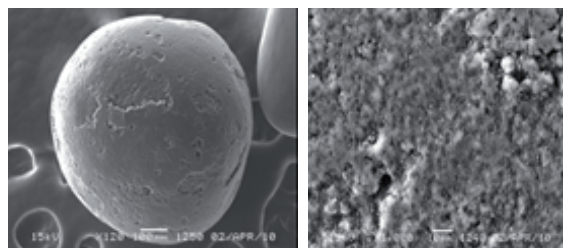


Рис.2 Электронно-микроскопические снимки гранулы и поверхности сорбента БУМ 2

Выбор модификатора – бетулина, обусловлен его уникальными фармакологическими свойствами. Проведено модифицирование поверхности углеродных сорбентов биологически активным соединением. Получены модифицированные образцы: БУМ-1 (содержание биологически активного компонента 0,5%) и БУМ-2 (содержание биологически активного компонента 1,8%) (рис.1,2). Определены условия и параметры модифицирования, обеспечивающие сохранение пористой структуры при высоком содержании биологически активного компонента на поверхности. Изучена пролонгированное действие биологически активного компонента с поверхности сорбентов в модельных средах (десорбция).

Работа выполнена при поддержке госконтракта № 9411.1003702.13.020.

SURFACE MODIFICATION OF NANOPOROUS CARBON SORBENT WITH BIOLOGICALLY ACTIVE COMPONENT FOR USE IN POULTRY BREEDING

V.A. Likholobov, A.V. Lavrenov, L.G. P'yanova, A.V. Sedanova

Institute of Hydrocarbons Processing SB RAS,

54, Neftozavodskaya St.; Omsk; Russia; 644040, e-mail: medugli@ihpp.oscsbras.ru

Surface modification of carbon sorbents with biologically active components is among the activities of our Institute. Such studies are important for the development of novel veterinary preparations.

Purpose of research: modifying the surface of nanoporous carbon sorbent with a biologically active component and investigating its properties by physicochemical methods.

Object of research: the microspherical nanoporous carbon material made of disperse carbon black (MNCM). Modifier: betulin (lup-20(29)-ene-3 β ,28-diol) — a triterpene possessing the lupine skeleton.

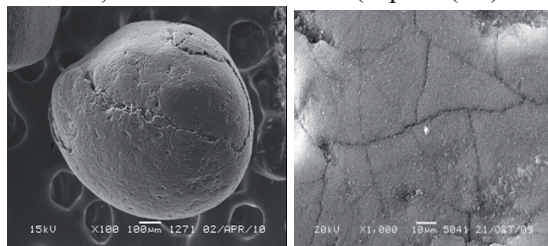


Figure 1. Scanning electron micrographs of granule and carbon sorbent MNCM

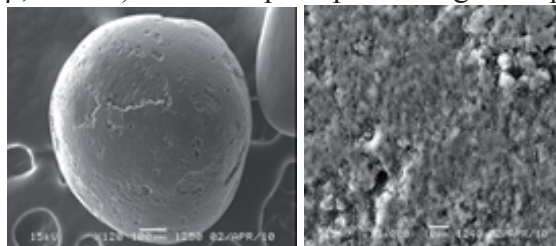


Figure 2. Scanning electron micrographs of granule and carbon sorbent BCM

The modifying agent betulin possesses the versatile pharmacological properties. The carbon sorbent surface was modified with the biologically active component to obtain samples BCM-1 (with 0.5% content of the biologically active component) and BCM-2 (with 1.8% content of the biologically active component) (Figs. 1 and 2). Conditions and parameters of modification providing preservation of the porous structure at high surface contents of the biologically active component were determined. The opportunity of prolonged release of the biologically active component from the sorbent surface (desorption) was studied in model environments.

The work was supported by government contract # 9411.1003702.13.020.

УПРАВЛЯЕМЫЕ ПРОЦЕССЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Раевский А.А., Самуйленко А. Я., Школьников Е. Э., Павленко И. В.

ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности» РАСХН,

141142, Московская обл., Щелковский р-н, пос. Биокомбината, д. 17, ВНИТИБП

Одним из наиболее значимых технологических этапов в производстве биологических препаратов, предназначенных для специфической профилактики инфекционных заболеваний бактериальной этиологии, является культивирование микроорганизмов. Именно на этой технологической стадии производства вакцин происходит синтез антигенов, от которых зависит эффективность иммунных препаратов. В процессе выращивания микроорганизмов необходимо одновременно с увеличением выхода биомассы добиваться того, чтобы бактерии не изменяли свои биологические свойства. Для этого необходимо создавать оптимальные условия культивирования.

С использованием методов математического планирования эксперимента получена математическая модель 2-го порядка, найдены оптимальные условия и разработан способ управляемого периодического культивирования *P. multocida*. В настоящее время получение бактериальной массы микроорганизмов для изготовления вакцин ведется в основном периодическим способом, однако, по данным ряда исследователей наиболее эффективным по накоплению биомассы бактерий является хеостатное культивирование с лимитированием по источнику углерода.

Испытание разработанного процесса хеостатного культивирования *P. multocida*, показало, что он интенсифицирует процесс изготовления вакцин за счет увеличения выхода бактериальной массы при сохранении ее биологических свойств и позволяет получать стандартные биологические препараты.

Выращивание сальмонелл и листерий с использованием мембранного биореактора показали, что данный технологический прием позволяет увеличить концентрацию бактериальных клеток, а также продлевает длительность активной фазы роста бактерий.

CONTROLLED PROCESSES OF MICROORGANISMS CULTIVATION BY MANUFACTURE OF BACTERIAL PREPARATIONS

Raevskiy A.A., Samuilenko A. Ja, Shkolnikov E. E, Pavlenko I.V.

GNU «All-Russia research institute of technology and the biological industry» the Russian academy of agricultural sciences

141142, Moscow Region, the Shchelkovo area, Bioindustrial complex settlement, 17, VNITIBP

One of the most significant technological stages in manufacture of the biological preparations intended for specific preventive maintenance of infectious diseases of a bacterial etiology, is cultivation of microorganisms. At this technological stage of manufacture of vaccines there is a synthesis of antigens on which efficiency of immune preparations depends. In the course of cultivation of microorganisms it is necessary to achieve simultaneously with augmentation of an exit of a biomass that bacteria didn't change the biological properties. For this purpose it is necessary to frame optimum conditions of cultivation.

With use of methods of mathematical planning of experiment the mathematical model of 2nd order is received, optimum conditions are found and the way of controlled periodic cultivation *P. multocida* is developed.

Now reception of bacterial mass of microorganisms for manufacturing of vaccines is conducted basically in the periodic way, however, according to a series of researchers the most effective on accumulation biomass bacteria is hemostat cultivation with limitation on Carbone source.

Test of the developed process cultivation *P. multocida*, has shown that it intensifies process of manufacturing of vaccines at the expense of augmentation of an exit of bacterial mass at conservation of its biological properties and allows to receive standard biological preparations.

Cultivation of salmonellas and *tryptone* with use of the membrane bioreactor has shown that the given processing method allows to enlarge concentration of bacterial cells, and also prolongs duration of an active growth phase of bacteria.

БИОТЕХНОЛОГИЯ - ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ ЧЕЛОВЕЧЕСТВА

Самуйленко А.Я., Гринь С.А., Еремец В.И., Пухова Н.М., Чичелеишвили Г.Д.

ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности» РАСХН, 141142, Московская область, Щелковский р-н, пос.Биокомбината, ВНИТИБП

Прогнозируемый рост численности людей на земле к концу XXI века (до 15 млрд.) потребует значительного увеличения продуктов питания растительного и животного происхождения (Харченко П.Н., 2010). В частности, потребность в чистой воде возрастет в десятки раз. Уже сегодня водопотребление близится к 50 тыс.км³ в год и, в основном, подземных вод. Рассчитывать на естественный процесс восстановления качества воды не приходится, т.к. ее периодичность для подземных вод составляет сотни лет. Существенно уменьшится нетронутая цивилизацией площадь Земли. Пострадает экология и осложнятся взаимоотношения микро- и макроорганизмов. Появятся новые заболевания, усилятся вирулентность болезнетворных агентов, и возникнут мутагенные изменения в делящейся клетке. При этом снизятся резистентность организма животного, человека и эффективность профилактических биопрепаратов (Гринь С.А. и др., 2009). Решение проблем, связанных с обеспечением продуктов питания и белкового дефицита, загрязнением воды и земной поверхности, снижением выработки кислорода, можно решить только с помощью современной

науки – биотехнологии.

В России имеется высокий потенциал биотехнологической науки. В НИИ различного профиля ведутся разработки биотехнологий нового поколения, предусматривающих высокое качество получаемой продукции, ресурсосбережение, экологическую безопасность и конкурентоспособность. Инновационные технологии и получение новых продуктов ведется с использованием экологически безопасных биологических объектов – растений, животных и микроорганизмов. Во ВНИТИБП разработана концепция по научному обеспечению повышения эффективности функционирования агропромышленного комплекса РФ (Самуйленко А.Я. и др., 2010). При государственной поддержке и комплексных мерах по восстановлению и развитию биологической промышленности возможно в ближайшее время решить глобальные проблемы XXI века.

BIOTECHNOLOGY - RESERVING FOR MANKIND

Samujlenko A.J., Grin S.A., Eremets V. I, Puhova N.M., Chicheleishvili G. D.

GNU «All-Russia research institute of technology and the biological industry» the Russian academy of agricultural sciences

141142, Moscow Region, the Shchelkovo area, Bioindustrial complex settlement, 17, VNITIBP

Prognosticated growth of number of people on the earth to extremity XXI of a century (to 15 billion) will demand substantial growth of foodstuff of a vegetative and animal parentage (Harchenko P. N, 2010). In particular, the requirement for pure water will increase in tens times. Already today water consumption approaches 50 thousand км³ in a year and, basically, underground waters. To count on natural process of restoration of quality of water it is not necessary, since its periodicity for underground waters makes hundreds years. The area of the Earth will essentially decrease untouched a civilization. The bionomics will suffer and mutual relations micro- and macroorganisms will become complicated. There will be new diseases, will amplify infection pathogenic agents, and there will be mutagen changes in a sharing cell. Resistance of an organism of an animal, the person and efficiency of preventive biological preparations (Grin S.A., etc., 2009) thus will decrease. The decision of the problems bound to maintenance of foodstuff and protein of deficiency, pollution of water and an earth surface, depression of development of oxygen, it is possible to solve only by means of a modern science – biotechnology.

In Russia there is a high potential of a biotechnological science. In scientific research institute of a various profile workings out of biotechnologies of the new generation providing high quality of received production, resource-saving ecological safety and competitiveness are conducted. Innovathion technologies and reception of new products it is conducted with use ecologically safe biological object – plants, animals and microorganisms. In VNITIBP the concept on scientific maintenance of rising of efficiency of functioning of agriculture of the Russian Federation (Samujlenko A.J. and other 2010) is developed. With the state support and complex measures on restoration and development of the biological industry probably in the near future to solve global problems XXI of a century.

НОВЫЕ КЛЕТОЧНЫЕ СИСТЕМЫ В БИОТЕХНОЛОГИИ ЖИВОТНЫХ

Савченкова И.П.

ГНУ НИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко

Появились данные, демонстрирующие развитие из эмбриональных стволовых клеток (ЭСК) мыши и человека, выделенных из ранних предимплантационных эмбрионов, половых клеток *in vitro*. Возможность получения из ЭСК функциональных гамет *in vitro* открывает новые перспективы для сохранения генома редких и исчезающих видов животных и биоразнообразия нашей природы. В отличие от грызунов и приматов попытки, предпринимаемые учеными в течение последних 20 лет, по созданию ЭСК сельскохозяйственных животных, в том числе свиней, не увенчались успехом. Возможно, это связано с уникальными особенностями ранних предимплантационных эмбрионов, отсутствием специфичных маркеров клеток внутренней клеточной массы и производных эпибласта, а также недостаточным изучением факторов, регулирующих или ответственных за полипотентность. Расшифровка генома и наличие ЭСК свиней позволили бы сделать прорыв к созданию животных резистентных к различным заболеваниям. Генетическая трансформация ЭСК посредством техники гомологичной рекомбинации может быть использована для выключения, изменения и изучения функции определенных, интересующих исследователей генов. Генетически измененные ЭСК могут быть введены в полость бластоцисты реципиента, и дать начало химерному потомству, которое может передать мутантный ген через половые клетки. Создание ЭСК свиней представляет интерес, как для сельского хозяйства, так и для биомедицины. Поэтому разрабатываются новые подходы для получения ЭСК сельскохозяйственных животных. В последнее время накапливаются данные, свидетельствующие о получении из сперматогенных стволовых клеток мыши и человека полипотентных клеток с фенотипом подобным эмбриональным стволовым. Многие вопросы, касающиеся молекулярных и клеточных механизмов, способствующие такой трансформации, остаются не выясненными, а в отношении свиней только начинают изучаться. В докладе обсуждаются данные о роли факторов, которые являются ключевыми в изменении монопотентности сперматогенных клеток хряка в культуре.

Работа поддержана грантом РФФИ 10-04-01471-а

NEW CELLULAR SYSTEMS IN BIOTECHNOLOGY OF ANIMALS

Savchenkova I.P.

Kovalenko's All- Russian State Research Institute of Experimental Veterinary Medicine

There was the data showing development from embryonic stem cells (ESCs) of mouse and human, isolated from early predimplantation embryos of germ cells *in vitro*. The possibility of deriving from ESCs of functional gametes *in vitro* opens new prospects for preservation of genome of rare and vanishing species of animals and a biodiversity of our nature. Unlike rodents and primates the attempts undertaken by scientists within last 20 years, on establishment of ESCs of agricultural animals, including pigs, haven't crowned success. Probably, it is connected with unique features of early predimplantation embryos, absence of specific markers of cells of inner cell mass and its derivative the epiblast, and also insufficient studying of the factors regulating or responsible for pluripotent potential. Transcript of genome and establishment of ESCs of pigs would allow making break to creation of animals resistant to different diseases. A genetic transformation of ESCs by a homologous recombination would allow to study, switch off, and change functions of the certain, interesting researchers of genes. The cells bearing mutations can be introduced

into recipient blastocysts to give rise to chimeric that can pass on the mutated gene through their germline. The establishment of ESCs from species other than rodents and primates, including pig, is of great interest both from the agricultural perspective and for biomedical applications. Therefore new approaches are developed for establishment of ESCs of agricultural animals. Recently the data bear record to derivation from mouse and the primates spermatogenic cells of pluripotent cells with a phenotype similar ESCs are accumulated. Many questions, concerning the molecular and cellular mechanisms, promoting such cellular transformation, remain not found out. In the report the data about role of factors which are key in change unipotent of boar spermatogenic cells in culture are discussed.

The research is supported by grant of the Russian Foundation for Basic Research: 10-04-01471-a

СОЗДАНИЕ И АПРОБАЦИЯ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ ТЕСТОВ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БРУЦЕЛЛЕЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Сотников Д.В.¹, Бызова Н.А.¹, Жердев А.В.¹, Ескендинова С.З.², Балтин К.К.², Дзантиев Б.Б.¹

¹ Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва, Россия

² Республиканское государственное предприятие «Национальный центр биотехнологии Республики Казахстан», Астана, Казахстан

Бруцеллез является общепризнанной мировой проблемой вследствие значительного экономического ущерба, вызываемого при заражении сельскохозяйственных животных. Задачей нашего исследования была разработка и апробация иммунохроматографических тест-систем для выявления антигена бактерии *Brucella abortus* и антител против данного антигена (серодиагностики). Принципиальным преимуществом иммунохроматографии по сравнению с методами, традиционно используемыми в диагностике бруцеллеза: бактериологическим методом, иммуноферментным анализом (ИФА), реакцией агглютинации, реакцией связывания комплемента и др., является возможность проведения быстрого внелабораторного анализа без использования дополнительных реагентов (контакт пробы с тест-полоской инициирует все специфические реакции) и оборудования (возможность визуальной детекции результатов по окрашиванию определенных зон тест-полоски),

В результате проведенных исследований были разработаны иммунохроматографические тест-системы для детекции антигена (липополисахарида (ЛПС)) *Br. abortus* и специфических антител к нему. Предел обнаружения ЛПС в биоматериале составляет 5 нг/мл, единого стандартного антигена *Br. abortus* – 10⁶ кл./мл. Длительность определения – 10-15 минут.

При апробации тест-системы для серодиагностики было проанализировано 54 сыворотки коров с положительной реакцией на бруцеллез по данным ИФА и 17 отрицательных сывороток. Показано полное совпадение результатов иммунохроматографического и иммуноферментного анализа, свидетельствующее о перспективности практического использования разработки.

Работа выполнена при поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 гг. (Госконтракт П423 от 12.05.2010).

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF IMMUNOCHROMATOGRAPHIC TEST-SYSTEMS FOR THE DIAGNOSIS OF BOVINE BRUCELLOSIS

Sotnikov D.V.¹, Byzova N.A.¹, Zherdev AV¹, Eskendirova S.Z.², Baltin K.K.², Dzantiev B.B.¹

¹ A.N. Bach Institute of Biochemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

² Republican State Enterprise "National Center for Biotechnology of Republic of Kazakhstan", Astana, Kazakhstan

Brucellosis is a recognized global problem due to the significant economic damage caused by infection of farm animals. The aim of our study was the development and validation of immunochromatographic tests for detection of *Brucella abortus* antigen and antibodies against this antigen (serodiagnosis). The principal advantage of immunochromatography compared with the methods traditionally used in the diagnosis of brucellosis (enzyme immunoassay (ELISA), agglutination, complement-fixation, bacteriological method, etc.) is the possibility of rapid analysis without additional reagents (contact of a sample with the test strip initiates all the specific reactions) and equipment (the possibility of visual detection of results).

Immunoassay systems for detection of antigen (lipopolysaccharide (LPS)) of *Br. abortus* and specific antibodies against it were developed. The detection limit of LPS in biomaterial is 5 ng/ml, and standard (for agglutination test) antigen of *Br. abortus* – 10⁶ cells/ml. Duration of the assay – 10-15 minutes.

When validating the system for serodiagnosis 54 cows with brucellosis positive sera according to the ELISA and 17 negative sera were tested. A complete coincidence of the results of immunochromatographic and enzyme immunoassays was obtained. These results confirm prospects of practical application of the developed test-systems. The work was supported by the Federal Program "Scientific and scientific-pedagogical cadres of innovative Russia" in 2009 -2013 years. (State contract P423 dated May 12, 2010).

МЕТОДЫ БИОТЕХНОЛОГИИ В СОЗДАНИИ НОВЫХ ГЕНОТИПОВ САДОВЫХ РАСТЕНИЙ

Высоцкий В.А., Алексеенко Л.В.

ГНУ Всероссийский селекционно-технологический институт садоводства и питомниководства Россельхозакадемии, Россия, г. Москва, vstisp@vstisp.org

В селекционных программах с садовыми растениями наиболее широко используются культура семян, культура изолированных семян, культура пыльников и культура изолированных зародышей. В настоящее время получение на искусственных питательных средах сеянцев из зародышей поздних фаз развития не представляет особых сложностей. Однако, для селекционеров эти методы не всегда приемлемы, так как в случае проявления несовместимости при отдаленных скрещиваниях аборт зародыша происходит на самых ранних фазах развития, и получение гибридных сеянцев из них остается проблематичным. В нашем институте разработана методика получения растений из зародышей ранних фаз развития, что позволяет в случаях несовместимости эндосперма и зародыша при отдаленной гибридизации своевременно, в ранних фазах изолировать зародыш и получить гибридные экземпляры. Разработанные приемы были с успехом испытаны для получения растений от скрещиваний вишня х черешня, вишня х черемуха, слива х алыча, слива х терн и других комбинаций. Для повышения общего выхода растений в культуре изолированных зародышей дополнительно использовали семядоли, которые отсекали от развивающихся эмбрионов на первых этапах культивирования *in vitro* и помещали на питательную среду, где происходила индукция адвентивных побегов.

Это позволило получать уникальные генотипы при межвидовых скрещиваниях. В частности, среди потомства от скрещивания алычи гибридной со сливой домашней (Кубанская комета x Нарач) было отобрано два гибридных сеянца, характеризующиеся повышенной устойчивостью к зимним повреждениям. В настоящее время эти сеянцы, получившие названия Величавая и Тулица, проходят Государственные сортоиспытания. Их гибридная природа была подтверждена молекулярно-генетическим анализом. Таким образом, в случаях, когда получение гибридных сеянцев косточковых культур по каким либо причинам затруднено, можно воспользоваться культурой зародышей на искусственных питательных средах, а для повышения конечного выхода новых генотипов и культурой изолированных семядолей.

BIOTECHNOLOGICAL TECHNIQUES FOR NEW GENOTYPES OF HORTICULTURAL PLANTS CREATION

Vysotskiy V.A., Alekseenko L.V.

All-Russian Horticultural Institute for Breeding, Agrotechnology, and Nursery of Russian Academy of Agrarian Science, Moscow, 115598, Zagorievskaya str., 4, e-mail: vstisp@vstisp.org

In horticultural plant breeding projects the widest using have seed culture, ovary culture, anther culture and embryo culture. At present moment obtaining seedlings from embryos of the late developmental stages on the artificial nutrient media could be done without any difficulties. However for breeders this technique not always suitable because in case of incompatibility during distant crossings aborting of embryo take place on the earliest development stage and the obtaining of hybrid's seedlings from such seeds remains problematic.

At our Institute the technique of plants obtaining from embryo of early development stage has been working out. It permits in case of incompatibility of endosperm and embryo during distant hybridization in high time on early stage to isolate the embryo and obtain hybrid plants. This technique has been successfully used for producing plants from crossings sour cherry x sweet cherry, sour cherry x bird cherry, plum x cherry plum, plum x blackthorn and other combinations. For increasing the total output of plants in isolated embryo culture additionally the cotyledons have been used. The cotyledons were cut from developing embryos on the first stage of cultivation and placed on the nutrient media where the induction of adventitious shoots took place. This allow to obtain unique genotypes during interspecific crossings. By means of this among the progeny from crossing *Prunus cerasifera* x *Prunus domestica* (Kubanskaya kometa x Narach) two hybrid seedlings characterized of increased resistant against winter injuring have been selected. Now these seedlings named Velitchavaya and Tuliza are under State varieties trials. Their hybrid's nature has been proved by means of molecular genetic analysis. Thus, in case when obtaining of hybrid seedlings for horticultural plants due to some causes meets any difficulties it is possible to use embryo culture *in vitro* and for increasing final output of new genotypes to use the culture of isolated cotyledons.

ПОСТЕРЫ И ПУБЛИКАЦИИ POSTERS AND PUBLICATIONS

РАЗРАБОТКА БИЗНЕС-МОДЕЛИ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ФИРМЫ ООО «ДНК-ТЕСТ»

Беляева Марина Александровна

Государственный университет управления

Деятельность фирмы ООО «ДНК-тест» заключается в проведении молекулярно-генетической экспертизы племенного животноводства, представляет уникальную для России услугу по чистоте породы, популяции, анализе консолидированности, на основании экспертизы можно признать хозяйство генофондным по исследуемым породам сельскохозяйственных животных. Потребителями услуги являются племенные животноводческие хозяйства, совхозы, колхозы, находящиеся на территории РФ государственные и частные). Фирма основана на базе лаборатории Института общей генетики им. Н.И.Вавилова РАН и сотрудничает с Минсельхозом РФ. В рамках сотрудничества предполагается перевод данной экспертизы в разряд обязательных для государственных хозяйств.

В хозяйствах проводится селекционная работа по выведению новых и сохранению популяций наиболее ценных пород животных, а также улучшению качественных характеристик породы. Селекционная работа совершенствуется, однако, хозяйства нуждаются в контроле показателей на уровне молекулярных исследований и изучения отдельных животных. «ДНК – тест» позволяет осуществлять контроль с помощью новых технологий: при проведении исследования используются особые генетические маркеры, что позволяет предоставлять информацию высокой точности по необходимым заказчику параметрам. На сегодняшний день это единственная отечественная фирма, осуществляющая подобный анализ и научное обслуживание.

Процесс формирования заключения экспертизы включают непосредственно лабораторное и статистическое исследование, а также проведение совещания группы экспертов по вопросам применения результатов для разработки селекционной тактики хозяйств. Цель создания моделей - изучение работы фирмы, выявление узких мест, анализ деятельности для принятия оптимальных решений по улучшению выполнения всех функций, в связи с этим в задачи вошли сбор и анализ информации о бизнес-процессах фирмы, внутренней организации, взаимодействие с внешней средой (заказчики, поставщики, государственные организации).

Разработанные на основе методологии системного структурного анализа модели бизнес-процесса включают: организацию проведения экспертизы, проведения исследования, выполняемые лабораторными, математическими и аналитическими отделами по обработке биоматериалов, получения результатов в виде таблиц, по статистической обработке данных с формированием графиков и матриц, а также заседания экспертной комиссии по вопросу разработки рекомендаций и подведению итогов исследования.

Бизнес - модели разрабатывались с использованием программных продуктов BPWin и ARIS. В результате деятельности фирмы создается заключение генетической экспертизы, формируется отчет о ее проведении для Минсельхоза. Созданные модели охватывают все процессы, потоки работ, потоки данных - документооборот, организационную структуру фирмы, процессы управления, входы и выходы, материально-техническое оснащение, стратегические цели фирмы. На основе анализа бизнес-моделей, проведения оптимизации, можно совершенствовать деятельность фирмы.

WORKING OUT OF BUSINESS MODEL OF ACTIVITY OF FIRM OF OPEN COMPANY «DNA – TEST»

Belyaeva Marina

The State University of management

Activity of firm of Open Company “DNA -test” consists in carrying out of molekular -genetic examination of breeding animal industries, represents unique service for Russia after cleanliness of breed, population, the analysis on the basis of examination it is possible to recognize an economy genes on fund investigated breeds of agricultural animals. Service consumers are breeding cattle-breeding economy, state farms, the collective farms which are in territory of the Russian Federation (state and private). The firm is based on base of laboratory of Institute of the general genetics of N.I.Vavilova of the Russian Academy of Sciences and cooperates with the Ministry of Agriculture of the Russian Federation. Within the limits of cooperation transfer of the given examination in the category obligatory for state farms is supposed.

In economy selection work on deducing new and to preservation of populations of the most valuable breeds of animals, and also improvement of qualitative characteristics of breed is spent. Selection work is improved, however, economy need control of indicators at level of molecular researches and studying of separate animals. «ДНК – test» allows to carry out control by means of new technologies: at research carrying out special genetic markers that allows to give the split-hair accuracy information on parameters necessary for the customer are used. For today it is the unique domestic-owned firm which is carrying out the similar analysis and scientific service.

Process of formation of the judgement is included by directly laboratory and statistical research, and also carrying out of meeting of a commission of experts concerning application of results for working out of selection tactics of economy. The purpose of creation of models - studying of work of firm, revealing of bottlenecks, the analysis of activity for acceptance of optimum decisions on improvement of performance of all functions in this connection problems included gathering and the analysis of the information on business processes of firm, the internal organization, interaction with environment (customers, suppliers, the state organizations).

Developed on the basis of methodology of the system structural analysis of model of business process include: the organization of carrying out of examination, the carrying out of research which are carried out by laboratory, mathematical and analytical departments on processing of biomaterials, receptions of results in the form of tables, on statistical data processing with formation of schedules and matrixes, and also sessions of a commission of experts concerning working out of recommendations and to research summarizing.

Business - models were developed with use of software products BPWin and ARIS. As a result of firm activity the conclusion of genetic examination is created, the report on its carrying out for the Ministry of Agriculture is formed. The created models cover all processes streams of works, the data-document circulations, organizational structure of firm, managerial processes, inputs and exits, material equipment, firm strategic targets. On the basis of business models it is possible to improve firm activity.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ШТАММОВ ВИРУСА БЕШЕНСТВА

Чернов А.Н., Иванов А.В., Хисматуллина Н.А., Юсупов Р.Х.,

Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных,

e-mail: vnivi@mail.ru, Тел.: (843)239-53-42

Известно, что изоляты уличного вируса бешенства, циркулирующие в природе, отличаются широкой вариабельностью биологических свойств. Принято считать, что причиной этой вариабельности является изменчивость, обусловленная, главным образом, особенностями экологической ниши. В этой связи ставилась задача изучение антигенных и патогенных свойств эпизоотических штаммов рабического вируса, циркулирующих на территории Республики Татарстан.

В опытах в качестве специфических антител применяли антирабический гамма-глобулин, полученный из сыворотки крови овец, иммунизированных вакцинным штаммом «Овечий» ГНКИ вируса бешенства с индексом нейтрализации равным 2 и более.

Методами ИФА, МФА, а также биопробой на белых мышах и в культуре клеток НГУК-1 проведены исследования 239 проб патологического материала от различных видов животных. Указанными методами выявлено 80 положительных проб патологического материала. Методом ИФА положительные результаты получены в 78 случаях (97,5%), МФА – в 74 случаях (92,5%). Уличный рабический вирус в культуре клеток НГУК-1 выделялся в более ранние сроки (24-72 ч), чем при интрацеребральной инокуляции мышей (до 30 суток). Цитопатического действия изучаемых штаммов не обнаружено.

В дальнейших исследованиях вакцинировали котят 3-х месячного возраста (30 голов) инактивированной культуральной вакциной из штамма «Щелково-51». Через 14 суток после 2-го введения вакцины животных подвергали контрольному заражению и наблюдали в течение 45 суток. По истечению срока наблюдения вакцинированные животные оставались здоровыми после заражения, а контрольные (не иммунизированные) заболевали и погибали. Экспериментальным заражением была установлена патогенность изучаемых изолятов для лабораторных животных.

Полученные результаты указывают на антигенное соответствие циркулирующих в Татарстане эпизоотических изолятов вируса бешенства вакцинным штаммам «Овечий» ГНКИ и Щелково-51 и это имеет определенное значение при проведении противоэпизоотических мероприятий (диагностика, профилактика).

BIOLOGICAL FEATURES OF RABIES VIRUS STRAINS

Chernov A.N., Ivanov A.V., Khismatullina N.A., Yusupov R.Kh.

Federal Center for Animals Toxicological and Radiation Safety

e-mail: vinvi@mail.ru, tel.: (843)239-53-42

Circulating in nature rabies virus strains are known to have a wide range of biological features variability. The main reason for such variability is considered to be changeability conditioned by its ecological niche peculiarities. In this case, the main task was to study antigenicity and pathogenicity of rabies virus epizootic strains circulating on Tatar Republic territory.

Anti-rabies gamma globuline from ovine vaccinated with vaccine strain “Ovechy” was used as a specific antibody.

239 pathological material samples taken from various animals were investigated using ELISA and

fluorescence antibody method and biological sampling on white mice and rat Ganglion Gasser nodes neurinoma cells. Of them 80 samples were found positive. ELISA method revealed 78 positive results (97,5%) and fluorescence antibody method detected 74 positive cases (92,5%). Urban rabies virus can be detected more rapidly in NGUK-1 cells (24-72 hours than mice intracerebral inoculation (30 days). No cytopathic effect in the investigated strains was detected.

At further experiments 3months-old cats (n=30) were vaccinated with “Scholkovo-51” strain inactivated cultural vaccine. At 14 days after revaccination the animals were exposed to control challenge and were observed during 45 days. By the observation period expiration the vaccinated animals remain healthy and control animals (not vaccinated) got sick and died. The experimental challenge demonstrated the investigated isolates pathogenicity on laboratory animals.

The data obtained indicate the antigenic correlation between circulating in Tatarstan rabies virus isolates and “Ovechy” and “Scholkovo” vaccine strains and this fact should be paid attention during rabies control measures planning (diagnostics and prevention).

БОЛЕЗНЬ АУЕСКИ, СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ СРЕДСТВ ДИАГНОСТИКИ

Чернов А.Н., Иванов А.В., Юсупов Р.Х., Хисматуллина Н.А., Мифтахов Н.Р.,

Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных,

e-mail: vnivi@mail.ru, Тел.: (843)239-53-20

Болезнь Ауески – остро протекающее контагиозное вирусное заболевание животных, проявляющееся признаками поражения центральной нервной системы, органов дыхания и другими признаками. Отход молодняка свиней и пушных зверей при появлении заболевания достигает 80-90%

Одним из наиболее чувствительных и экспрессных серологических методов обнаружения и титрования специфических антител при многих инфекционных заболеваниях сельскохозяйственных животных и человека является реакция непрямой гемагглютинации (РНГА)

Основные исследования были направлены на разработку диагностического набора на основе РНГА из маркированного штамма «ВК» вируса болезни Ауески для дифференциации постинфекционных и поствакцинальных антител.

Исследования были направлены на получение маркированного (делеционного по gE) антигена для изготовления эритроцитарного диагностикума на основе РНГА при болезни Ауески, позволяющего дифференцировать наличие в крови постинфекционных и поствакцинальных антител.

Была проведена адаптация вируса, делеционного по gE, к культуре клеток НГУК-1. В исследованиях, проведенных по изучению репродукции вируса БА различных штаммов («ВГНКИ», «ВК»), нами установлено, что вирус, обладая выраженным нейротропным свойством, успешно размножался на клетках невриномы Гассерова узла крысы (НГУК-1).

Были получены специфические сыворотки крови кроликов и крыс путем иммунизации их различными вакцинами против болезни Ауески, в том числе с делеционным по гликопротеину gE штамм “ВК” вируса БА.

В дальнейшем полученные сыворотки использовались для определения активности и специфичности диагностического набора, изготовленного на основе делеционного по гликопротеину gE. На основе проведенных исследований разработан новый диагностический набор.

AUJESZKY'S DISEASE DIAGNOSTIC METHODS IMPROVEMENT

Chernov A.N., Ivanov A.V., Khimatullina N.A., Yusupov R.Kh., Miftakhov N.R.

Federal Center for Animals Toxicological and Radiation Safety

e-mail: vinvi@mail.ru, tel.: (843)239-53-20

Aujesky's disease is an acute contagious viral disease affecting central nervous system. In young infected fur animals and piglets mortality rate reaches up to 80-90 per cent.

One of the most sensitive and expressive serological methods used for specific antibodies detection and titration is indirect hemagglutination test which helps to detect many transmittable diseases.

The main investigations were carried out to develop a novel diagnostic kit based on indirect hemagglutination test and "VK" pseudorabies virus marked strain for postinfection and postvaccination antibodies discrimination.

The target of the development performed was to obtain a marked gE- deletional antigen for preparing erythrocytar diagnostic kit detecting pseudo rabies and discriminating postinfection and postvaccination antibodies in blood serum.

gE- deletional pseudo rabies virus was adapted to rat Ganglion Gasser nodes neurinoma cells. During the investigations on pseudo virus strains reproductivity ("VGNKI" and "VK" strains) the virus was established to have an expressed features and successfully replicated in rat Ganglion Gasser nodes neurinoma cells.

Sera specific antibodies were obtained by immunizing rats and rabbits with various pseudo rabies vaccines one which was "VK" gE- deletional pseudo rabies virus strain.

Further, the sera obtained were used to determine activity and specificity of the diagnostic kit based on gE- deletional strain. Basing on the performed investigations novel diagnostic kit was developed.

НОВЫЕ ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ И ВИРУСОВ

Плотникова Э.М., Гурьянов Н.И., Ганиев И.М., Хамзина Е.Ю., Кириллова Ю.М., Хусаенов Р.Х.,

ФГУ «Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных», e-mail: vnivi@mail.ru, Тел.: (843)239-53-20

В решении современных как теоретических, так и практических проблем ветеринарной биотехнологии, значительное место занимает культивирование клеток in vitro. Они являются важным объектом при проведении вирусологических, биохимических и других исследований. В связи с этим актуальна проблема разработки условий наиболее эффективного их выращивания.

В связи с вышеизложенным была проведена работа по экспериментальному обоснованию возможности культивирования перевиваемой линии клеток ЛЭК (легкое эмбриона коровы) на питательной среде, основой которой являлась среда ГЛА. Затем перевиваемую линию клеток ЛЭК, выращенную на экспериментальной среде использовали для репродукции герпесвируса типа I крупного рогатого скота штамм «ТКА-ВИЭВ-В2» и вируса инфекционного ринотрахеита, которые прошли по 4 пассажа. Инфекционную активность вирусов определяли титрованием в культуре клеток ЛЭК.

В ходе опытов показано зависимость накопления вируса от состава ростовой среды. Инфекционный титр герпесвируса типа I (штамм «ТК-А (ВИЭВ) - В2») на культуре клеток ЛЭК,

выращенной на среде Игла MEM, был $7,52 \pm 0,1 \lg \text{TCD}_{50/\text{мл}}$, т.е. на $1,8 \lg \text{TCD}_{50/\text{мл}}$ выше, чем при культивировании его на ЛЭК, выращенной на среде ГЛА. При культивировании вируса ИРТ было выявлено снижение инфекционной активности на $1,0 \lg \text{TCD}_{50/\text{мл}}$ в опыте по сравнению с контролем.

Таким образом, среда Игла MEM не может быть полностью заменена средой ГЛА при культивировании клеток ЛЭК для получения инфекционного материала. Полученные данные являются основанием для прекращения экспериментальной работы по адаптации перевиваемой линии клеток ЛЭК к среде, содержащей 90 % ГЛА и 10% сыворотки КРС.

NEW NUTRIENT MEDIUMS FOR CULTIVATING CELLS OF ANIMAL INCUBATION AND VIRUSES

E.M. Plotnikova, N.I. Guryanov, I.M. Ganiev, E.Y. Khamzina, Y.M. Kirillova, R.K. Khusaenov
FGI «The Federal Center For Toxicological And Radiation Safety Of Animals»

Cells in vitro incubation plays a crucial role in solving modern theoretical and practical problems of veterinary biotechnology. They are very important for virological, biochemical and other researches performance. Therefore, the development of most effective incubation conditions is of high priority.

In this case, we decided to prove experimentally the possibility of calf embryo lung (CEL) cells incubation on a hydrolyser lacto albumin nutrient medium. Then the incubated CEL cells grown in the experimental medium was used to reproduce bovine herpes virus type I («TK-A (VIEV)-V2» strain) and infectious bovine rhinotracheitis virus after 4 passages. Their virulence was determined by titration in CEL cell culture.

The experiment showed the virus accumulation dependence on cultivation medium content. The bovine herpes virus type I («TK-A (VIEV)-V2» strain) titer grown using CEL cell culture and Ig MEM was $7,52 \pm 0,1 \lg \text{TCD}_{50/\text{мл}}$ i.e. for $1,8 \lg \text{TCD}_{50/\text{мл}}$ higher than that of grown up on hydrolyser lacto albumin medium. During IBR virus incubation, virulence decrease on $1,0 \lg \text{TCD}_{50/\text{мл}}$ comparing to the control has been revealed.

Thus, the Ig MEM medium cannot be completely replaced by hydrolyser lacto albumin medium for CEL cell culture incubation to obtain pathologic material. The data obtained proved to stop the experiments on (CEL) cells incubation in nutrient medium containing 90 % hydrolyser lacto albumin and 10 % cattle serum.

ИЗУЧЕНИЕ МЕТОДОМ ВЭЖХ ИЗМЕНЕНИЯ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ХИТОЗАНА И ПРИМЕСНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ПРЕПАРАТАХ ХИТОЗАНА ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ХРАНЕНИИ

Хабаров В.Б.¹, Пронин А.Я.¹, Самуйленко А.Я.², Буряк А.К.¹

¹Учреждение российской академии наук Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, 119991, Москва, Ленинский проспект, 31, корп. 4

²Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности РАСХН, 141142, Московская область, Щёлковский район, пос. Биокомбинат

В [1] установлено, что полимерные молекулы препаратов хитозана, разделённые методом ВЭЖХ на колонке с высокосшитым ПДВБ сорбентом, образуют качественно схожие хроматограммы

состоящие из трёх хроматографических пиков, относящихся соответственно к молекулам чистого хитозана (не имеет УФ-спектры поглощения при 210-400 нм), гетерогенным хитозан-хитиновым полимерным молекулам и молекулам хитозан-белкового комплекса, которые имеют УФ-спектры поглощения при $\lambda = 235$ нм за счёт группировки пептидной связи – CO –NH– [2], имеющейся в хитине и белке.

Методом ВЭЖХ определяли физико-химические характеристики лиофильно высушенных препаратов хитозана (ЗАО “Биопрогресс”, Россия и фирмы “Флюка”, Япония) при длительном хранении при температуре 20-25° С. Применена колонка из стекла (150 x 3 мм) с высокосшитым ПДВБ сорбентом, зерна 10 мкм. Для растворения проб препаратов хитозана и в качестве элюента использовали 4 %-й водный раствор уксусной кислоты [1]. Жидкостный хроматограф и детекторы – рефрактометрический [3] и ультрафиолетовый с жидкостным трактом в безметаллическом исполнении [4].

При длительном хранении препаратов хитозана при температуре 20-25° С отмечаются изменения физико-химических характеристик:

- В первую стадию хранения карбонильные и гидроксильные группы молекул хитозана вступают в химическое взаимодействие с аминными группами хитозан-хитиновых полимерных молекул и молекул хитозан-белкового комплекса, что приводит к исчезновению поглощения в УФ-спектре при $\lambda = 235$ нм после разделения на колонке [5, 6].

- Во вторую стадию хранения полимерные молекулы хитозана, разделённые по эксклюзионному механизму, поглощают УФ при $\lambda = 254$ нм и $\lambda = 280$ нм. Хитозан-хитиновые полимерные молекулы элюируются из колонки по эксклюзионному механизму с ММ 680-4290 Да (определяли по градуировочному графику по декстранам) и детектируются при $\lambda = 254$ нм и $\lambda = 280$ нм. Измерение площадей пиков показало, что относительное содержание хитозан-белкового комплекса уменьшается в 2 раза до 7 % (рефрактометрический детектор), который поглощает УФ при $\lambda = 254$ нм и $\lambda = 280$ нм после разделения на колонке.

Полученные данные позволяют сделать вывод, что методика ВЭЖХ [1] с использованием жидкостного хроматографа и детекторов – рефрактометрического [3] и ультрафиолетового с жидкостным трактом в безметаллическом исполнении [4] позволяет выявлять изменения физико-химических характеристик препаратов хитозана при хранении.

Литература

1. Хабаров В.Б., Пронин А.Я., Самуйленко А.Я., Гринь А.В. Способ определения полимерных молекул хитозана в препаратах хитозана. Пат. РФ № 2295127. МПК⁷ G01N 30/02. Бюл. 2007. № 7.
2. Химическая энциклопедия. М., 1988. Т. 1. С. 147, 250.
3. Хабаров В.Б., Пронин А.Я., Панина Л.И., Буряк А.К. Устройство крепления и герметизации кварцевой кюветы в рефрактометрическом детекторе для жидкостной хроматографии // Пат. РФ № 2362143. МПК⁷ G01N 21/05. Бюл. 2009. № 20.
4. Хабаров В.Б., Пронин А.Я., Буряк А.К. Исследование биополимеров методом высокоэффективной жидкостной хроматографии при использовании хроматографического тракта жидкостного хроматографа в безметаллическом исполнении. // Тезисы Всероссийской конференции «Хроматография – народному хозяйству». 19-23 апреля 2010. Дзержинск. С. 84-85.
5. Хабаров В.Б., Пронин А.Я., Самуйленко А.Я., Буряк А.К., Гринь А.В. Изучение методом ВЭЖХ физико-химических характеристик препаратов хитозана при их изготовлении и хранении. // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. 2009. № 4. С. 58-60.
6. Хабаров В.Б., Пронин А.Я., Самуйленко А.Я., Буряк А.К., Гринь А.В. Изменение спектров поглощения в УФ области хитозан-хитиновых и хитозан-белковых молекул в препаратах хитозана при хранении. // Тезисы 5-го Московского международного конгресса «Биотехнология: состояние и перспективы развития». Часть 1. 16-20 марта 2009. М., Россия. С. 318.

ANALYSIS BY HPLC METHOD OF THE CHANGES IN THE PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERISTICS OF CHITOSAN AND OF THE IMPURITY ADMIXTURES IN CHITOSAN PREPARATIONS DURING LONG-TERM STORAGE

V.B. Khabarov¹, Pronin A.Ya.¹, Samuilenko A.Ya.², Buryak A.K.¹

¹*Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry named after A.N.Frumkin, RAS, Moscow*

²*Russian Federal Research and Technological Institute of Biological Industry, Schelkovo*

It has been established in [1], that the polymer molecules of chitosan preparations, separated by HPLC method in a column with highcrosslinked PDVB sorbent, form qualitatively similar chromatograms that consist of three chromatographic peaks. Those peaks are attributed to (a) pure chitosan (which has no UV absorption spectra in the range 210-400 nm), to (b) heterogeneous chitosan-chitin polymeric molecules, and to (c) molecules of chitosan-protein complex, which have UV absorption spectra at $\lambda = 235$ nm originating from a grouping of a peptide bond - CO - NH - [2], present in chitin and albumen.

The physico-chemical characteristics of the lyophilically dried chitosan preparations (produced by companies «Bioprogress», Russia and «Fluca», Japan) have been studied by the HPLC method during long-term storage at the temperature of 20-25° C. The column made of glass (150 x 3 mm) with highcrosslinked sorbent, with grains 10 microns in size has been used. For the dissolution of samples of chitosan preparations and as an eluent a 4% aqueous solution of acetic acid has been utilised [1]. The liquid chromatograph and the detectors used are of refractometer type [3] and ultra-violet type with a liquid channel in non-metallic configuration [4].

We report the following changes of the physico-chemical characteristics of chitosan preparations in the course of long-term storage at the temperature of 20-25° C:

- During the first stage of storage the carbonyl and hydroxyl groups of chitosan molecules interact chemically with the amine groups of chitosan-chitin polymeric molecules and molecules of the chitosan-albumen complex. That leads to the disappearance of absorption in the UV-spectrum at $\lambda = 235$ nm after separation in a column [5, 6].

- During the second stage of storage the chitosan polymeric molecules, separated by the exclusion mechanism, absorb UV radiation at $\lambda = 254$ nm and $\lambda = 280$ nm. The chitosan-chitin polymeric molecules are eluted from a column by exclusion mechanism with MM 680-4290 Da (determined by the calibration chart on dextrans) and are detected at $\lambda = 254$ nm and $\lambda = 280$ nm. The measurement of peaks' area demonstrated the reduction of the relative concentration of chitosan-albumen complex by 2 times down to 7%, according to refractometer detector, which measures UV absorption at $\lambda = 254$ nm and $\lambda = 280$ nm after separation in a column on sorbent.

The obtained data leads to a conclusion, that the HPLC technique [1] based on the liquid chromatograph and detectors – refractometer-type [3] and UV-type with a liquid channel in nonmetallic configuration [4] allows one to reveal and measure changes of the physico-chemical characteristics of chitosan preparations during storage.

The literature

1. Khabarov V.B., Pronin A.Ya., Samuilenko A.Ya., Grin A.V. Patent of Russia 2295127, G01N 30/02. A way of definition of polymer molecules chitosana in chitosan preparations.

Publishing. Bul. 2007. № 7.

2. Chimichesky encyclopaedia. Moscow, 1988. V. 1. P. 147, 250.

3. Khabarov V.B., Pronin A.Ya., Panina L.I., Buryak A.K. The device of attachment and hermetic sealing quartz side ditches in the refractometric detector for liquid chromatography. Patent of Russia 2362143., G01N 30/02. Publishing. Bul. 2009. № 20.

4. Khabarov V.B., Pronin A.Ya., Buryak A.K. Research chitosan and impurity connections by a method of high-performance liquid chromatography at usage of a chromatographic channel of a liquid chromatograph in metallical and metalles fulfilment.

5. Khabarov V.B., Pronin A.Ya., Samuilenko A.Ya., Buryak A.K., Grin A.V. HPLC Study of the Physicochemical Characteristics of Chitosan Preparations during Their Manufacture and Storage. Doklady Rossiiskoi Akademii Selskokhozyaistvennykh Nauk. 2090. No 4. Pp. 58-60.

6. Khabarov V.B., Pronin A.Ya., Samuilenko A.Ya., Buryak A.K., Grin A.V. The change of UV absorption

spectrums for chitosan-chitin and chitosan-albumen molecules in chitosan preparation at storage. The fifth Moscow international congress Biotechnology: state of the art and prospects of development. Part 1. 16-20 mart 2009. M., Russia. P. 319.

КЛЕТОЧНАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ В РЕШЕНИИ ПРОДОВОЛЬСТВЕННОЙ ПРОГРАММЫ

Гильмутдинов Р.Я., Иванов А.В.

ФГУ «Федеральный Центр токсикологической и радиационной безопасности животных», г. Казань (ФГУ ФЦТРБ-ВНИВИ) 420075

Проблема обеспечения населения продовольствием, особенно животноводческой продукцией, приобретает все большую значимость в связи с ростом как численности людей, так и потребления ими мяса. В качестве альтернативного источника питания рассматривается выращивание искусственного (синонимы: экстракорпоральное, культивируемое) мяса, предполагается запуск международной программы по данной проблеме. Современные исследования по получению мяса в пробирке возникли из экспериментов НАСА, пытающейся найти более совершенные способы долгосрочного питания для астронавтов в космосе. В 1995 году метод был одобрен Управлением по контролю качества продуктов и лекарств США (FDA) и с 2001 года НАСА стало проводить эксперименты с мышечными клетками индейки. Позже для этих целей использовались животные и других видов, в частности золотые рыбки, овцы, свиньи.

На сегодня определились два подхода в производстве искусственного мяса: формирование совокупности несвязанных мышечных клеток, либо структурированных мышц. Второй подход значительно сложнее в реализации. Для размножения мышц, состоящих из соответствующих многоядерных волокон, необходимо слияние клеток-предшественников, в качестве которых могут выступать эмбриональные стволовые клетки или клетки-спутники — специализированные стволовые клетки в мышечных тканях. Сложность процесса культивирования заключается в необходимости:

- перфузии системы мышечных клеток для доставки питательных веществ и кислорода близко к растущим клеткам, а также удаление отходов;
- одновременного выращивания других типов клеток, например, адипоцитов, являющихся химическими посыльными для предоставления растущим мышцам сведений об их структуре;
- физически растягивать или «упражнять» мышечную ткань, чтобы она правильно развивалась.

Разработаны две альтернативные технологии «выращивания» искусственного мяса. Согласно первой, мышечные клетки после активизации их стволовыми клетками приобретают способность к размножению и полученная «мясная закваска» в протеиновой среде может превращаться в мясные ткани. Согласно второй (технология НАСА), мясо «выращивается» в биореакторах с помощью стволовых клеток. Несмотря на повышенную секретность данной разработки, известно о получении таким способом кусков мяса млекопитающих и птиц. Технология дорога, но в перспективе предполагается значительно снижение ее стоимости.

CELLULAR BIOTECHNOLOGY IN THE FOOD PROGRAMME DECISION**Gilmutdinov R. Ja, Ivanov A.V.***FGU «The Federal Center of Toxicological and Radiating Safety of animals»,
Kazan (FGU «FTSTRB-VNIVI») 420075*

The problem of maintenance of the population the foodstuffs, especially cattle-breeding production, gets the increasing importance in connection with growth as number of people, and consumption of meat by them. As the alternative power supply cultivation artificial meat, start of the international program on given to a problem is supposed. Modern researches on meat reception in a test tube have arisen from experiments of NASA, trying to find more perfect ways of a long-term food for astronauts in space. In 1995 the method has been approved by Food and Drug Administration of the USA (FDA) and since 2001 of NASA began to make experiments with muscular cages of a turkey. Later for these purposes animals and other kinds, in particular goldfishes, sheep, pigs were used.

For today two approaches in manufacture of artificial meat were defined: formation of set of untied muscular cages, or the structured muscles. The second approach is much more difficult in realization. For reproduction of the muscles consisting of corresponding multinuclear fibres, merge of cages-predecessors in which quality can act embryonic stem cells or cells-companions — specialized stem cells in muscular fabrics is necessary. Complexity of process of cultivation consists in necessity:

- perfusion systems of muscular cells for delivery of nutrients and oxygen close to growing cages, and also waste disposal;
- Simultaneous cultivation of other types of cages, for example, adipocytes, being chemical messengers for granting to growing muscles of data on their structure;
- Physically to stretch or «exercise» a muscular fabric that it correctly developed.

Two alternative technologies are developed. The first represents cultivation of meat pieces from muscular cells by activation by their stem cells. As a result it is received capable weight to the growth, known as «meat ferment» which is capable to transform the protein environment into meat fabrics. According to technology of NASA, meat is grown up in bioreactors by means of stem cells. Despite the raised privacy of the given working out, it is known that it was possible to grow up meat and bird pieces. The technology road, but in the long term is supposed it considerably decrease.

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ ТОРФОВ**Инишева Л.И.¹, Гостищева М.В.²**¹*Томский государственный педагогический университет, inisheva@mail.ru*²*Сибирский государственный медицинский университет,*

Поиск новых сырьевых ресурсов БАВ природного происхождения для разработки на их основе новых лекарственных препаратов является актуальной задачей современной фармации. Фармакологические свойства и токсичность нативных ГК торфов (пирофосфатный метод) практически не изучены, возникает необходимость химической и биологической стандартизации ГК торфов различного происхождения.

Было проведено химико-фармакогностическое исследование химической структуры нативных ГК репрезентативных торфов современными методами физико-химического анализа. На основе выявленных особенностей химической структуры гуминовых кислот разработаны методы их стандартизации, определены показатели их подлинности и качества, и составлен проект

фармакопейной статьи предприятия «Гуминовые кислоты торфа».

Были изучены также токсикологические и фармакологические свойства ГК; проведена оценка острой токсичности ГК при разных способах введения. При внутрибрюшинном введении токсичность ГК значительно повышается. При внутрибрюшинном введении летальных доз ГК крысам смерть наступает от острой сердечной недостаточности, возникающей в результате ишемической дистрофии миокарда; выявлены органы-мишени, показано прямое кардиотоксическое действие ГК.

На экспериментальных моделях патологий установлены антигипоксические и гепатозащитные свойства ГК. Они имеют выраженную гепатозащитную активность в условиях острого CCl_4 -гепатита. Их предварительное внутрижелудочное введение препятствует повреждающему действию тетрахлорметана на функционально-метаболические и морфологические показатели печени крыс.

ГК обладают выраженным антигипоксическим действием - увеличивая срок жизни животных и снижая летальность в условиях гипотоксической и гипобарической гипоксии при профилактическом внутрижелудочном введении мышам.

Влияние 5-кратного внутрижелудочного введения ГК на продолжительность жизни мышей в условиях гипобарической гипоксической гипоксии, ($X \pm \Delta x$)

Группы животных	Количество животных	Время жизни, мин (t-критерий Стьюдента)	Летальность от гипоксии (χ^2 -критерий)
Контроль	25	$11,88 \pm 1,13$	92 %
ГК (25 мг/кг)	25	$13,72 \pm 1,24$	84 %
ГК (50 мг/кг)	25	$16,44 \pm 1,19^*$	76 %
ГК (100 мг/кг)	25	$17,80 \pm 1,31^{**}$	64 %

Примечание: * – достоверное различие ($p < 0,05$) по сравнению с контролем; ** – достоверное различие ($p < 0,05$) по сравнению с гуминовыми кислотами 25 мг/кг.

В условиях нормобарической гиперкапнической гипоксии ГК предотвращают разобщение окислительного фосфорилирования в митохондриях, нормализуя активность сукцинат- и НАД-зависимых процессов энергопродукции в митохондриях головного мозга и печени мышей.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ (№№ 09-05-00235), и федерального агентства по науке и инновациям (Госконтракт № 02.740.11.0325).

PHARMACOLOGICAL STUDY OF PEAT HUMIC ACIDS

Inisheva L.I., Gostischeva M.V.,

Siberian State Medical University, Tomsk State Pedagogical University

Search for new raw materials of natural origin BAS for development of new drugs on the basis is an urgent challenge of modern pharmacy. Pharmacological properties and toxicity of native peat HA (pyrophosphate method) have not been studied, also needed the chemical and biological standardization of Civil peats of different genesis. There was a chemical-pharmacognostic research of the chemical structure of native HA representative peat modern methods of physicochemical analysis. Based on the identified characteristics of the chemical structure of humic acids there were developed methods of standardization, identified indicators of their authenticity and quality, drafted pharmacopoeial monograph Enterprise peat humic acids. There were also studied toxicological and pharmacological properties of HA; evaluated acute

toxicity of GC at different ways of application, identified target organs, there was also shown a direct cardiotoxic effect of HA.

In experimental models of pathologies there were tested antihypoxia and hepatoprotective properties of HA. They have expressed hepatoprotective activity in acute CCl₄-hepatitis. Their prior intragastric introduction prevents the damaging effect of carbon tetrachloride on functional and metabolic and morphological parameters of rat liver.

HA have expressed antihypoxic effect - increasing the life span of animals and reducing mortality in gistotoksicheskoy and hypobaric hypoxia in prophylactic intragastric test in mice.

Effect of 5-fold intragastric test of HA on the lifespan of mice under hypobaric hypoxia, ($X \pm \Delta h$)

Species	Number of animals	Life span, min (t-Student criteria)	Mortality from hypoxia (χ^2 -)
Control	25	11,88 $\pm$ 1,13	92 %
HA (25 mg/kg)	25	13,72 $\pm$ 1,24	84 %
HA (50 mg/kg)	25	16,44 $\pm$ 1,19*	76 %
HA (100 mg/kg)	25	17,80 $\pm$ 1,31**	64 %

Note: * – significant difference ($p < 0,05$) in comparison with the control, ** – significant difference ($p < 0,05$) compared with humic acid 25 mg / kg.

Under normobaric hypercapnic hypoxia GC prevent uncoupling of oxidative phosphorylation in mitochondria, normalizing the activity of succinate- and NAD-dependent processes of energy production in mitochondria of brain and liver of mice.

This research was supported by Ministry of Education and Science (№ 02.740.11.0325), the work is done by means of support grants of RFFI (№ 09-05-00235).

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРОСТАГЛАНДИНСИНТАЗНОЙ СИСТЕМЫ ОВЕЦ ДЛЯ СОЗДАНИЯ БИОТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ПРОСТАГЛАНДИНОВ

Бейсембаева Р.У., Карпенюк Т.А., Гончарова А.В.

КазНУ имени аль-Фараби, г. Алматы, аль-Фараби, 71

Простагландины - молекулярные биорегуляторы, влияющие на многие физиологические процессы у человека и животных, в том числе на функционирование репродуктивной и иммунной систем, гистогенез костной ткани. Они применяются в животноводстве для ускорения селекции сельскохозяйственных животных, в исследованиях по трансплантации эмбрионов, в лечении послеродовых болезней, синхронизации половых циклов и времени появления приплода. Для биотехнологического получения простагландинов в качестве стабильного и высоко активного гетерогенного биокатализатора может служить простагландинсинтазная биферментная система, которая состоит из простагландин Н синтазы (PGH-синтаза) и простагландин Н конвертазы (PGH-конвертаза). Разработана технология выделения и получения иммобилизованного препарата мембраносвязанной простагландинсинтазной системы. Для получения гетерогенного катализатора проведены сравнительные исследования эффективности использования простагландинсинтазной системы, выделенной из разных органов овец. (везикулярные железы, матка и клетки периферической крови). Наиболее перспективный для практического использования препарат был получен из

клеток периферической крови овец и содержал PGH-синтазу и глутатионзависимую конвертазу. Разработана процедура иммобилизации биферментной системы на силикагель, содержащий 13% CaSO_4 . Показано, что иммобилизованная биферментная система стабильна в процессе нескольких циклов реакции. В одном цикле реакции выход продукта PGB_2 составляет 17 -18 мкг в расчете на 1 мг белка. Показано, что иммобилизованная ферментная система проявляет меньшую активность, чем неиммобилизованный препарат. Установлено, что снижение активности мембраносвязанной простагландинсинтазной системы после иммобилизации обусловлено влиянием глутатиона (кофактора PGE_2 -изомеразы), присутствующего в реакционной среде, на PGH-синтазу. Проводятся исследования по оптимизации условий иммобилизации фермента для повышения выхода целевого продукта.

ESTIMATION OF EFFICIENCY OF USE THE SHEEP PROSTAGLANDINE-SYNTHASE SYSTEM FOR CREATION OF PROSTAGLANDIN RECEIVING BIOTECHNOLOGY

Bejsembaeva R.U., Karpenyuk T.A., Goncharova A.V.

The Kazakh National al-Farabi University, Almaty, al-Farabi av., 71.

Prostaglandins are molecular bioregulators, influencing on the numeral physiological processes at the human and animals, including the functioning of reproductive and immune system, histogenesis of bone tissue and so on. They are applied in stock breeding to acceleration of farming animal selection, in researches on transplantation of embryos, in treatment of postnatal illnesses, synchronization of sexual cycles and time of litter occurrence. Prostaglandin-synthase bi-enzyme system, which consists of prostaglandin-H-synthase (PGH-synthase) and prostaglandin H convertase (PGH-convertase) can be used for biotechnological reception of prostaglandins as stable and highly active heterogeneous biocatalyst. The technology of allocation and reception of immobilized preparation of membrane-bounded prostaglandin-synthase system has been worked out. Comparative researches of the efficiency of use prostaglandin-synthase system allocated from different organs of sheep (vesicular glands, a uterus and cells of peripheral blood) for reception of the heterogeneous catalyst have been conducted. The most perspective preparation for practical use has been received from cells of sheep's peripheral blood and it contained PGH-synthase and glutathione depending convertase. Procedure of bi-enzyme system immobilization on silico gel, containing 13% of CaSO_4 has been worked out. It was shown that immobilized bi-enzyme system is stable in process of several cycles of reaction. In one cycle of reaction the yield of product PGB_2 makes 17-18 mkg counting on 1 mg of protein. It has been shown that immobilized enzyme system demonstrates smaller activity, than no immobilized preparation. It has been established that decrease of membrane-bounded prostaglandin-synthase system activity after immobilization is caused by influence of glutathione (cofactor PGE_2 – izomerase), presenting at the reaction medium, on PGH-synthase. Researches on optimization of enzyme conditions of immobilization for increase of an exit of a target product are conducted.

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПОЛУЧЕНИЯ СИНБИОТИЧЕСКИХ КОМПЛЕКСОВ ДЛЯ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА

Неминушная Л.А., Самуйленко А.Я., Воробьева Г.И., Титова Е.И., Еремец О.В.

ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности» Россельхозакадемия

141142, Моск. обл., Щелковский район, пос. Биокомбината, д. 17, ВНИТИБП

Внедрение интенсивных технологий в современное животноводство выдвигает новые требования к количественному и качественному составу кормов с целью обеспечения не только их питательной ценности, но и биопротекторного действия на организм животных. Это обусловило бурное развитие *экобиотехнологий*, в частности направление, связанное с разработкой и применением пробиотиков, пребиотиков и синбиотиков как в здравоохранении, так и в ветеринарии. Такие лечебно-профилактические и ростостимулирующие экологически чистые препараты физиологичны по своему действию, безвредны для животных, просты в наработке, относительно дешевы, технологичны для группового применения.

Во ВНИТИБП при участии других институтов (ВНИТИП, ГосНИИСинтезбелок и др.) разработаны и прошли успешные испытания синбиотические комплексы для птицеводства: АВИЛАКТ-ФОРТЕ (пробиотик на основе *Lactobacillus acidophilus* и пребиотик на основе культуральной жидкости высшего лечебного гриба *Fusarium sambucinum*); ЛАКТОСУБТИЛ-ФОРТЕ (пробиотик на основе *Lactobacillus acidophilus*, пробиотик на основе *Bacillus subtilis* и кормовая добавка с пребиотическими свойствами на основе биоконверсии отходов зернопроизводства культурой дрожжей-сахаромицетов). Отработана технология культивирования микроорганизмов с использованием питательных сред на основе молочной сыворотки и отходов зерносырья; проведены доклинические испытания безопасности и специфической активности; разработаны способы применения; показана лечебно-профилактическая и экономическая эффективность при откорме бройлеров кроссов «Конкурент», «Кобб-500», «Кобб – авиан-48». Разработки защищены патентами РФ. В настоящее время на основе аналогичных методических подходов осуществляется разработка состава и технологии производства синбиотиков для коневодства.

BIOTECHNOLOGICAL ASPECTS OF PRODUCTION OF SYNBIOTICAL COMPLEXES FOR AGRICULTURE

Neminushchaja L.A., Samujlenko A.J., Vorobjeva G. I., Titova E.I., Eremets O.V.

GNU «All-Russia research and institute of technology of the biological industry» the Russian academy of agricultural sciences,

141142, Moscow Region, the Shchelkovo area, Bioindustrial complex settlement, 17, VNITIBP

Introduction of intensive technologies in modern animal industries makes new demands to quantitative and qualitative structure of forages for the purpose of maintenance not only their nutritional value, but also bioprotective actions on an organism of animals. It has caused intensive development ecological biotechnology, in particular a direction connected with working out and application probiotics, prebiotics and synbiotics both in public health services, and in veterinary science. Such treatment-and-prophylactic non-polluting preparations are physiologic on the action, are harmless to animals, are simple in an operating time, are rather cheap, technological for group application.

In VNITIBP with the assistance of other institutes (VNITIP, GosNIISintezbelok, etc.) synbiotic

complexes are developed and have successful tested for poultry farming: AVILAKT-FORTE (probiotic on the basis of *Lactobacillus acidophilus* and prebiotic on a basis cultural liquid of the higher medical mushroom *Fusarium sambucinum*); LAKTOSUBTIL-FORTE (probiotic on the basis of *Lactobacillus acidophilus*, probiotic on the basis of *Bacillus subtilis* and a fodder additive with prebiotical properties on the basis of bioconversion by yeasts-saccharomycetes *S.cerevisiae* (diastaticus) of fodder- grain-wastes). The technology of cultivation of microorganisms with use of nutrient mediums on the basis of dairy whey and a fodder- grain-wastes is fulfilled; tests of safety and specific activity are spent; ways of application are developed; it is shown treatment-and-prophylactic and economic efficiency for broilers of cross-countries «Competitor», «Kobb-500», «Kobb – avian-48». Workings out are protected by patents of the Russian Federation. Now on the basis of similar methodical approaches we work out of structure and production technology synbiotics for horse breeding.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ПЕРВИЧНОЙ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК ЛЭК К ВИРУСАМ

Плотникова Э.М., Хамзина Е. Ю., Кириллова Ю.М., Чернов А.Н.,

Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных,

e-mail: vnivi@mail.ru, Тел.: (843)239-53-20

Использование клеточных линий для решения фундаментальных и прикладных проблем биологии, медицины и сельского хозяйства является свидетельством высокого уровня исследований. Перспективность клеточных моделей определяется дешевизной, технологичностью, чувствительностью и скоростью проведения исследований, в отличие от классических методов цитологических испытаний. На моделях культивируемых клеток регулярно проводятся работы по определению восприимчивости полученных линий к изолированным вирусам. Известно, что в респираторной и желудочно-кишечной патологии животных существенное место занимают вирусы герпеса, парагриппа-3, вирусной диареи, рота- и другие, для изоляции и изучения которых могут быть использованы культуры клеток тканей из легкого, почек и других органов (Л.П. Дьяконова, 1985). Первичная культура клеток, полученная из ткани и выращиваемая *in vitro* до начала субкультивирования является высокочувствительной системой.

С целью изучения чувствительности полученной нами первичной культуры клеток легкого эмбриона коровы (ЛЭК) к вакцинным штаммам ПТК-45/86 вируса парагриппа -3 (ПГ-3) и ТК-А (ВИЭВ) - В-2 вируса инфекционного ринотрахеита (ИРТ) крупного рогатого скота проведены 6 пассажей. Цитопатическое действие вируса ИРТ в первичной культуре ЛЭК проявилось через 18-24 часа после заражения, характеризовалось округлением клеток, разрыхлением и разрушением монослоя с последующим отторжением клеток от стекла. Морфологические изменения характеризовались маргинацией хроматина в ядрах, а через 24-30 часов - формированием внутриядерных включений характерных для герпесвирусов. Полное деструктивное изменение монослоя клеток наступало к 48 часам. ЦПД вируса ПГ-3 на культуре клеток ЛЭК обнаруживалось через 48 часов после заражения, и завершалось к 96 часам. Изменения в инфицированной культуре клеток характеризовались появлением многомерных клеток (симпластов) и постепенным разрушением монослоя через 72-96 ч. Инфекционная активность вирусов в течение 6 пассажей была стабильной и достигала уровня $6,5 \pm 0,2 \lg \text{ТЦД}_{50/\text{мл}}$ к вирусу ИРТ и $6,25 \pm 0,15 \lg \text{ТЦД}_{50/\text{мл}}$ к вирусу ПГ-3 крупного рогатого скота.

DETERMINATION OF SENSIBILITY OF PRIMARY CULTURES OF CELLS LEK TO VIRUSES

Э.М. Plotnikova, E.Y. Khamzina, J.M. Kirillova, A.N. Chernov

Federal Center of Toxicological and Radiation Safety of Animals, Kazan.

Use of cell lines for decides of fundamental and applied problem of biology, medicine and agriculture is evidence of a high level of researches. Availability of cellular models is determined by cheapness, adaptability streamlined method, sensitivity and speed of carrying out of researches, unlike classical methods of cytological tests. It is known, that herpes virus, bovine parainfluenza virus-3, virus diarrhea, rota-and borrow others viruses are an important factor in a respiratory and gastroenteric pathology of animals. Cultures of cells from a lung, kidneys and other bodies can be used for isolation and studying of animal's viruses (L.P. Dyakonov, 1985). The primary culture of cells is high-sensitivity system.

We studied sensitivity of the primary culture of cells LEK to vaccine strains PTK-45/ 86 bovine parainfluenza virus-3 (PIV-3) and TK-A at (VIEV)-B-2 a infectious bovine rhinotracheitis virus (IBR) during 6 passages. Cytopathic effect of virus IRT in primary culture LEK was showed in 18-24 hours after infection and characterized by a rounding off of cells, sponginess and destruction of a monolayer with the subsequent tearing away of cells from glass. Morphological alterations were characterized by formation of intranuclear inclusions which typically for herpes viruses. Full destructive change of a monolayer of cells observed by 48 hours. Cytopathic effect of virus PIV-3 on culture of cells LEK was found out in 48 hours after infection. Alterations in the infected culture of cells were characterized by occurrence of multivariate cells and gradual destruction of a monolayer through 72-96 h. Infectious activity of viruses was stable and come up to $6,5 \pm 0,2 \lg_{TCID50/ml}$ to IBR and $6,25 \pm 0,15 \lg_{TCID50/ml}$ to PIV-3 during 6 passages.

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ STREPTOMYCES ORNATUS S1220 ПРИ ПЕРЕРАБОТКЕ ОТХОДОВ ПТИЦЕПЕРЕРАБАТЫВАЮЩЕЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Полетаев А.Ю.

Кемеровский технологический институт пищевой промышленности

Современное ведение промышленного птицеводства вышло на качественно новый уровень. По прогнозам в 2012 году объем российского производства мяса птицы достигнет 3,5 млн. тонн. Это на 1 млн. тонн больше чем в 2009 году. С увеличением объема производства мяса птиц пропорционально увеличиваются отходы птицепереработки. Нарращивание производства мяса птицы приводит к значительному накоплению мало используемого крупного пера-подкрылка, которое состоит на 85% из белка кератина при полном наборе аминокислот.

В основе получения пептидов и аминокислот из кератинсодержащего сырья лежат биотехнологические процессы. Проведенный анализ литературных источников и предварительные исследования позволили выявить наиболее перспективный микроорганизм – *Streptomyces ornatus* S1220. Из широкого набора воздействий, оказываемых на микроорганизмы, к числу наиболее экстремальных относится повышенная температура. Для того чтобы определить влияние температуры на рост мицелия мы использовали 3 питательные среды: крахмальную среду, среду Чапека и МПА (мясопептонный агар). Культивирование *Streptomyces ornatus* S1220 осуществляли на этих средах при 30°C и 37°C в течение 7 суток. Определили число выросших в чашках Петри колоний и установили, что наибольший прирост мицелия происходит при 30°C на МПА и составил 590 тыс.КОЕ/г. Также установлено, что максимальная динамика накопления биомассы происходит в течение 3 суток, а при повышении температуры продуцент кератиназы становится малоактивным.

Проведенные исследования позволяют рекомендовать данный штамм для использования его в промышленных условиях. Это даст возможность выгодно использовать перопуховое сырье на предприятиях птицеперерабатывающей промышленности и, как следствие, избавиться от загрязнения окружающей среды.

STUDYING OF POSSIBILITY OF USE STREPTOMYCES ORNATUS S1220 AT PROCESSING OF A WASTE OF POULTRY PROCESSING THE INDUSTRIES

Poletaev A.U.

The Kemerovo technological institute of food industry

Modern conducting industrial poultry farming left on qualitatively new level. Under forecasts in 2012 the volume of the Russian manufacture of fowl will reach 3,5 million tons. It on 1 million tons is more than in 2009. With increase in volume of output of meat of birds a waste poultry processing proportionally increases. Escalating of manufacture of fowl leads to considerable accumulation of a poorly used large feather-underwing which consists on 85 % of keratin fiber at a totality of amino acids.

At the heart of reception of peptides and amino acids from keratin containing raw materials biotechnological processes lie. The carried out analysis of references and preliminary researches have allowed to reveal the most perspective microorganism – *Streptomyces ornatus* S1220. From a wide set of the influences rendered on microorganisms, the raised temperature concerns number of the most extreme. To define influence of temperature on growth of a mycelium we used 3 nutrient mediums: the starched environment, circle of Capek and BEA (beef-extract agar). Cultivation *Streptomyces ornatus* S1220 carried out on these environments at 30°C and 37°C within 7 days. Have defined number of Petri which have grown in cups of colonies and have established that the greatest gain of a mycelium occurs at 30°C on BEA and has made 590 thousand CFU/g. Also is established that the maximum dynamics of accumulation of a biomass occurs within 3 days, and at rise in temperature the producer of keratinase becomes an active less.

The conducted researches allow to recommend given strain for his use in industrial conditions. It will give the chance to use favourably feather-down raw materials at the enterprises of poultry processing the industries and, as consequence, to get rid of environmental contamination.

ОЦЕНКА СТАБИЛЬНОСТИ ПРОИЗВОДСТВА ВАКЦИН ДЛЯ ВЕТЕРИНАРИИ

Скотникова Т.А., Самуйленко А.Я., Неминущая Л.А., Токарик Э.Ф., Еремец Н.К.

ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности» Россельхозакадемии

141142, Московская обл., Щелковский р-н, пос. Биокомбината, д. 17, ВНИТИБП

Методы математической статистики – важный элемент современного подхода для управления качеством на производстве. С их помощью по ограниченному числу испытаний можно проводить анализ точности и стабильности технологических процессов и их регулирование, выборочный приемочный контроль и оценку общего уровня качества продукции. Классическая модель обеспечения качества продукции в процессе производства: постоянное наблюдение → своевременное выявление дефектов → устранение причины дефектов → принятие мер по их устранению. В этом залог стабильности производства и качества выпускаемой продукции.

В работе для оценки точности и стабильности производства вакцин на модели вакцины против ньюкаслской болезни (НБ) по основному показателю качества (инфекционная активность вируса) применяли метод построения гистограмм распределения и контрольные карты Шухарта. Форма полученных гистограмм с двусторонней симметрией и распределение накопленной частоты свидетельствует о нормальном распределении данных и позволяет сделать вывод о стабильности технологического процесса.

Для выявления особых причин повышенной вариабельности продукции служат карты Шухарта, которые графически изображают динамику процесса производства: изменение показателей качества во времени и применяются для регулирования и анализа технологических процессов. Для оценки контрольных границ карты (границ регулирования) применяют трехкратное среднее квадратическое (стандартное) отклонение. В нашей работе использовалась карта средних значений инфекционной активности вакцины и их размаха ($\bar{O}$, R). Случаев выхода значений за статистические границы основного параметра живых вакцин – биологической активности не отмечено. Ретроспективный анализ процесса производства вакцины против НБ также подтвердил его стабильность.

ESTIMATION OF STABILITY OF MANUFACTURE OF VETERINARY VACCINES

Skotnikova T.A., Samujlenko A.J., Neminushchaja L.A., Tokarik E.F., Eremets V. I.

GNU «All-Russia research and institute of technology of the biological industry» the Russian academy of agricultural sciences

141142, Moscow Region, the Shchelkovo area, Bioindustrial complex settlement, 17, VNITIBP

Methods of mathematical statistics – an important element of the modern approach for quality management on manufacture. With their help on the limited number of tests it is possible to carry out the analysis of accuracy and stability of technological processes and their regulation, selective acceptance control and an estimation of the general degree of quality of production. Classical model of maintenance of quality of production in the course of manufacture: constant supervision → timely revealing of defects → elimination of the reason of defects → acceptance of measures on their elimination. In it pledge of stability of manufacture and, as consequence, quality of let out production.

In work methods of statistical data processing as the management tool are used by technological process of manufacturing of a vaccine. To an estimation of accuracy and stability of manufacture of veterinary vaccines on the model of vaccine against Newcastle disease (ND) on the basic indicator of quality (infectious activity of a virus) applied a method of construction of histograms of distribution and control cards of Shuharta. The form of the received histograms with bilateral symmetry and distribution of the saved up frequency testifies to normal distribution of the data and allows to draw a conclusion on stability of technological process.

For revealing of the special reasons of the raised variability of production cards of Shuharta which graphically represent dynamics of process of manufacture serve: change of indicators of quality in time also are applied to regulation and the analysis of technological processes. To an estimation of control borders of a card (regulation borders) apply a triple average quadratic (standard) deviation. In our work the card of average values of infectious activity of a vaccine and their scope (R) was used. Cases of an exit of values for statistical borders of key parameter of live vaccines – biological activity it is noted. The retrospective analysis of process of manufacture of a vaccine against ND also has confirmed its stability.

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ОПАСНОСТЬ КОРМОВ И КОРМОВЫХ ДОБАВОК, ЗАГРЯЗНЕННЫХ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ В РАЦИОНАХ ЖИВОТНЫХ

Лесова Ж.Т.¹, к.т.н., доцент, Свамбаев А.¹, д.б.н., профессор; Свамбаев Ж. А.², Свамбаев Е. А.², Тусупбекова С.Т.², Султанбеков Г.А. ² с.н.с.

¹АО Алматинский Технологический Университет, ² ТОО FTB “Company”

050060 г. Алматы. Гагарина 232 – 29,

Тел. Факс (8727-2) 49-06-83; Моб. 87013620897. E-mail: svaman1@rambler.ru

Токсичность кормов и кормовых добавок определяется их способностью оказывать вредное влияние на животный организм.

К сожалению, кормовые отравления пока еще причиняют значительный экономический ущерб народному хозяйству (гибель животных, потеря ими продуктивности). Этот ущерб усугубляется отравлениями людей, употребляющих в пищу молоко, мясо и яйца от этих животных. Ущербы бывают тем значительнее, чем менее знакомы с этими вопросами животноводы, смешивающие токсикозы с другими незаразными или заразными болезнями животных. В результате таких ошибок проводятся неправильные мероприятия, которые в большинстве случаев не ликвидируют заболевание, а, наоборот, способствуют его распространению.

Чаще других встречаются отравления безобидными, на первый взгляд, кормовыми добавками и из-за их неграмотного использования. Это - отравления поваренной солью, солями меди, молибдена, селена и фтора, солями тяжелых металлов, которыми часто бывают, загрязнены кормовые добавки минерального происхождения и многие корма промышленного происхождения.

В настоящее время используют ПДК на тяжелые металлы, разработанные в СССР, которое необходимо пересматривать с учетом особенности регионов и областей.

Наши исследования, проведенные по изучению кормов, кормовых добавок и ингредиентов комбинированных кормов показывают загрязненность рационов животных. В рационах животных и птиц были обнаружены ядовито-опасные химические элементы, такие как Hg, Pb, Cd, As, а также другие химические элементы и токсины. В рационах животных были обнаружены наличие радиоактивных элементов.

Наличие в рационе животных опасных ядовитых веществ не гарантирует безопасную жизнедеятельность и не обеспечивает нормальному развитию биотехнологии в пищевой отрасли в целом.

ECOLOGICAL DANGER OF FORAGES AND FODDER ADDITIVES POLLUTED WITH HEAVY METALS IN DIETS OF ANIMALS

Lesova Z.T., Cand.Biol.Sci., the docent, Svambayev Amanbek., d.b.s., the professor
(Joint-stock company Almaty Technological University)

Svambayev Zhassulan Amanbekovich, Svambayev Yerkebulan Amanbekovich, Tusupbekova Sania Temirgalievna, Sultanbekov Galymbek Adilbekovich. – The senior scientific employees.

(Open Company FTB “ Company “ 050060. Almaty, Pr. Gagarin 232 - 29,

Fax. (8727-2) 49-06-83; Моб. 87013620897. E-mail: svaman1@rambler.ru

Toxicity of forages and fodder additives is defined by their ability to render harmful influence on an animal organism.

Unfortunately, fodder poisonings for the present cause significant economic damage to a national

economy (destruction of animals, loss of fertility. This damage is aggravated with poisonings of people using in I peep milk, meat and eggs from these animals. Damages that are more significant, than the cattle breeders mixing toxicoses with other noncontagious or infectious illnesses of animals are less familiar with these questions. As a result of such mistakes are carried out wrong actions which in most cases do not liquidate disease, and, on the contrary, promote its distribution.

More often than others there are harmless poisonings, at first sight, fodder additives and because of their illiterate use. It - poisonings with table salt, salts of copper, molybdenum, selenium and fluorine, salts of heavy metals which frequently are polluted fodder additives of a mineral origin and many forages of an industrial origin.

Now have been using maximum concentration limit on the heavy metals developed in the USSR which is necessary for reconsidering in view of feature of regions and areas.

Our researches which have been lead on studying of forages, fodder additives and components of the combined forages show impurity of diets of animals. In diets of animals and birds have been found out poisonous - dangerous chemical elements such as Hg, Pb, Cd, As, and also other chemical elements and toxins. In diets of animals have been found out presence of radioactive elements.

Presence in a diet of animal dangerous poisonous substances does not guarantee safe ability to live as a whole and does not provide to normal development of biotechnology in food branch as a whole.

НОВЫЙ ПРОБИОТИЧЕСКИЙ ПРЕПАРАТ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ЭНТЕРИТОВ И РЕСПИРАТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Сверчкова Н.В.¹, Колосовская М.С.¹, Романовская Т.В.¹, Жук Г.В.¹, Коломиец Э.И.¹, Красочко П.А.², Ломако Ю.В.²

¹Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь, e-mail: biocontrol@mbio.bas-net.by

²РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. Н.С.Вышеселеского», Минск, Беларусь, e-mail: krasochko@mail.ru

Для современного мясного и молочного животноводства одной из проблем является увеличение заболеваний инфекционной этиологии. По последним данным, всеобщую эпизоотическую значимость приобрели дисбактериозы кишечника. Приоритетной тенденцией в обеспечении профилактических и терапевтических мер лечения является переход от использования загрязняющих окружающую среду химических средств, к внедрению в практику животноводства экологически безвредных биологических средств защиты. С этой точки зрения особый интерес представляют пробиотические препараты, разрабатываемые на основе микроорганизмов и продуктов их метаболизма.

В Институте микробиологии НАН Беларуси на основе штамма *Bacillus subtilis* БИМ В-454 Д, обладающего высокой антагонистической активностью в отношении возбудителей болезней животных - *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella holeraesuis*, *Staphylococcus sp.*, *Pasterella multacida*, *Streptococcus sp.*, и иммуностимулирующим действием, разработана технология получения пробиотического препарата Бацинил.

В условиях АПК Беларуси проведены производственные испытания профилактической и лечебной эффективности Бацинилла при энтеритах и респираторных заболеваниях молодняка крупного рогатого скота. При использовании препарата длительность течения заболеваний сокращается в 1,9-2,4 раза, профилактическая эффективность препарата составляет 93,3 %, лечебная – 96 %.

По решению Ветбиофармсовета РБ от 15.07.2010 г. препарат Бацинил зарегистрирован и внесен в реестр ветеринарных препаратов, разрешенных для использования на территории Республики Беларусь.

NEW PROBIOTIC FOR PREVENTION AND TREATMENT OF ENTERITIS AND RESPIRATORY DISEASES OF FARM STOCK

Sverchkova N.V.¹, Kolosovskaya M.S.¹, Romanovskaya T.V.¹, Zhuk G.V.¹, Kolomiets E.I.¹, Krasochko P.A.², Lomako Y.V.²

¹ Institute of Microbiology, Belarus National Academy of Sciences, Minsk, Belarus, e-mail: biocontrol@mbio.bas-net.by

² Institute of Experimental Veterinary Sciences, Minsk, Belarus, e-mail: krasochko@mail.ru

Today dairy and meet stock breeding faces a challenge of growing incidence of infections pathologies. Recent data have emphasized global epizootic significance of intestinal disbacterioses. A priority trend in preventive ensuring and therapeutic strategy is transition from chemicals polluting the environment to eco-friendly biological control agents. From this viewpoint especially attractive are probiotics based on microbial strains and their metabolites.

Technology of manufacturing probiotic agent Bacinyl was elaborated at the Institute of Microbiology, National Academy of Sciences, Belarus using strain *Bacillus subtilis* BIM V-454 D displaying high antagonistic activity towards animal pathogens – *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella holeraesuis*, *Staphylococcus* sp., *Pasterella multacida*, *Streptococcus* sp. and showing immunostimulating action.

Trials of preventive and therapeutic efficiency of Bacinyl in treatment of enteritis and respiratory diseases of young cattle were performed at Belarusian farms. Bacinyl application shortens duration of pathologies by 1.9-2.4 times, its prophylactic efficiency reaches 93.3%, curative effect – 96%. On July 15, 2010 Bacinyl was registered by Veterinary Biopharm Council and entered into the list of drugs for use in Belarus republic.

ВЛИЯНИЕ ДОБАВОК БЕНТОНИТОВ В КОРМА СОДЕРЖАЩИЕ ХЛОПКОВЫЙ ШРОТ НА ПРИВЕС БРОЙЛЕРОВ

Вешкурова О.Н.¹, Максимов В.В.¹, Султанова Э.М.¹, Узбеков В.В.¹, Салихов Ш.И.¹, Исмазова Р.А.², Хаитов В.Р.², David A. Laird³

¹ Институт биоорганической химии им. А.С. Садыкова АН РУз, 100125 Ташкент, ул. М. Улугбека. 83

² Узбекский научно-исследовательский институт ветеринарии, Узбекистан, 704453, Самаркандская область, пос. Тайляк

³ Department of Agronomy, Iowa State University, Ames, Iowa, USA

Шрот, получаемый из семян хлопчатника после экстракции масла, является потенциальным источником белка для кормов сельскохозяйственных животных, однако его широкому использованию в качестве кормовой добавки мешает присутствие крайне токсичного пигмента госсипола. Госсипол ингибирует активность протеолитических ферментов желудочно-кишечного тракта и тем самым

снижает усвоение белка животными. В Узбекистане фермеры обычно используют кормовые смеси на основе импортных сои и кукурузы, что приводит к увеличению цены выращиваемых бройлеров. Из-за высокой токсичности госсипола допускается только 5% добавка хлопкового шрота в корма, используемые в птицеводстве, без значительного влияния на привес и здоровье бройлеров. При патологоанатомическом осмотре через 21, 42 и 56 дня после кормления с добавками 23,2% хлопкового шрота вместо соевого были обнаружены значительные изменения внутренних органов и тканей бройлеров. Нарушения характеризовались слабо выраженными гемодинамическими расстройствами в головном мозге, почках, миокарде, печени и воспалением слизистой тонкого отдела кишечника. У отдельных бройлеров был значительно увеличен слепой отдел желудочно-кишечного тракта.

С целью снижения токсического эффекта госсипола мы добавляли к кормам, содержащим хлопковый шрот, адсорбенты на основе бентонита из различных месторождений Узбекистана. Эксперименты проводили на цыплятах Росс 308, используя кормовые смеси с различным содержанием (от 5 до 23,2%) хлопкового шрота по различным схемам откорма. Применение в течение 56 дней кормов с 23,2% добавкой хлопкового шрота приводило к снижению привеса бройлеров на 51%. Напротив, применение корма с добавкой бентонитов в дозе 15 г/кг корма приводило к привесам сравнимым с привесом контрольной группы, получавшей соевый шрот. Таким образом, исследование динамики увеличения веса бройлеров показало высокую эффективность добавок бентонитов в корма с хлопковым шротом. Будут приведены результаты биохимического состава крови и распределения госсипола в различных органах и тканях бройлеров.

Работа выполнена при финансовой поддержке CRDF, грант UZB2-31009-TA-08

INFLUENCE OF BENTONITE FEED ADDITIVES ON BROILER WEIGHT GAIN FOR DIETS CONTAINING COTTONSEED CAKE

Veshkurova O.N.¹, Maksimov V.V.¹, Sultanova E.M.¹, Uzbekov V.V.¹, Salikhov Sh.I.¹, Ismatova R.A.², Haitov V.R.², David A. Laird³

¹*A.S Sadykov Institute of Bioorganic Chemistry Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, 100125 Tashkent, M. Ulugbek str. 83*

²*The Uzbek Scientific-Research Institute of Veterinary, Uzbekistan, 704453, Samarqand region, Taylak District*

³*Department of Agronomy, Iowa State University, Ames, Iowa, USA*

Cotton seeds cake obtaining after oil extraction is a potential source of protein in animal feed; however the presence of the extremely toxic pigment gossypol prevents the wide use of cotton seed cake in animal feed. Gossypol inhibits activity of proteolytic enzymes in the digestive tract and leads to considerable decrease in assimilation of protein by animals. In Uzbekistan, poultry farmers typically use mixed feeds containing imported soy and corn and leads to considerable increase of expense for cultivation of broilers. Because of high toxicity gossypol only 5 % cotton seed cake can be added to poultry feed without seeing adverse effects on weight gain and animal health. Anatomical surveys have shown significant changes in internal organs and tissues after feeding chicken diets containing cotton seed cake for 21, 42 and 56 days. Pathologies were characterized by poorly expressed hemodynamic infrastructure in a brain, kidneys, myocardium and liver. Also inflammation of the mucous layer in the small intestines was observed and the appendix was enlarged.

We added natural bentonite adsorbents from various Uzbekistan deposits to poultry feed mixes containing cotton seed cake in an attempt to decrease of gossypol toxicity. Feeding experiments were conducted using

Ross 308 broilers using feed mixes containing various levels of cotton seed cake additives (from 5 to 23.2 %) under various schemes of feeding trials. Use of feed containing 23.2 % cotton seed cake, without bentonite additives, resulted in a 51% decrease in broiler weight gain relatively to control broilers given feed containing soybean for 56 days. By contrast, broilers fed the same cotton seed cake diet containing 15 g bentonite /kg feed resulted in weight gain comparable to the controls. Study of dynamics of increasing in weight of broilers has shown high efficiency of bentonite additives. Data of blood biochemical composition and gossypol enantiomer distribution in various organs and tissues of broilers will be presented.

This work is supported by CRDF project UZB2-31009-TA-08

РАЗРАБОТКА МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВАКЦИН ПРОТИВ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ПАСТЕРЕЛЛЕЗА, РАСПРОСТРАНЕННЫХ В УЗБЕКИСТАНЕ

Ахунов А.А.¹, Вшивков С.О.¹, Пшеничных Е.А.¹, Хашимова Н.Р.¹,
Эльмуратов Б.А.², Пурди Ч.У.³

¹Институт Биоорганической химии им. академика А.С.Садыкова, 100125, Узбекистан, Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 83

²Узбекский НИИ Ветеринарии, 104453, Узбекистан, Самаркандская область, поселок Тайлак

³USDA/ARS, Conservation and Production Research Laboratory, PO Drawer 10, Bushland, Texas 79109

Узбекистан входит в число первых центральноазиатских государств по количеству крупного рогатого скота, овец и коз. Одной из главных причин потерь молодняка этих трех видов животных является пастереллез. Ежегодные потери от пастереллеза составляют существенный экономический ущерб. Описаны несколько биотипов и сероваров в различных популяциях возбудителя пастереллеза *Pasteurella haemolytica*. Для разработки эффективной бактериин-токсоид вакцины крупного рогатого скота против этого заболевания необходимо определение преобладающих в Узбекистане серотипов возбудителя пастереллеза и характеристика их вирулентности.

Используемые ранее бактерины против *Pasteurella haemolytica* способствуют образованию антител к капсульным антигенам, что не дает достаточного лечебного эффекта в опытах с телятами. Наши исследования направлены на изучение повышения защитных свойств вакцин при образовании специфических антител к цитотоксинам (лейкотоксинам) *Pasteurella haemolytica*.

Нами проведено исследование вирулентности восьми сероваров *Pasteurella haemolytica*, встречающихся в Узбекистане по степени сравнительной токсичности продуцируемых ими лейкотоксинов.

С целью исследования способности получаемых вакцин, созданных на основе наиболее токсичных сероваров *Pasteurella haemolytica*, продуцировать антитела к лейкотоксину нами разработан метод выявления специфических антител с применением твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA).

DEVELOPMENT OF THE METHOD FOR EFFICIENCY CONTROL OF VACCINES AGAINST PASTERELLOSIS AGENTS INDIGENOUS IN UZBEKISTAN

**Akhunov A.A.¹, Vshivkov S.O.¹, Pshenichnov E.A.¹, Khashimova N.R.¹,
Elmuradov B.A.², Purdy Ch.W.³**

¹*A.S. Sadykov Institute of Bioorganic Chemistry, Tashkent, Republic of Uzbekistan, 100125, Mirzo Ulugbek, 83*

²*The Uzbek Scientific-Research Institute of Veterinary, Republic of Uzbekistan, 104453, Taylak District, Samarkand region*

³*USDA/ARS, Conservation and Production Research Laboratory, PO Drawer 10, Bushland, Texas 79109*

Uzbekistan is one of the largest producers of cattle, sheep and goats in the Central Asian Region. Pasterellosis (acute pneumonia) is a leading cause of death in these three ruminant species in Uzbekistan. Estimated annual lost due to pasterellosis in cattle has great economical damage. A number of pasterellosis agents (*Pasteurella haemolytica*) biotypes and serotypes are described. With the aim of development of effectively bacterin-toxoid cattle vaccine against this disease it is necessary to determine of prevailing *Pasteurella* sp. serotypes in Uzbekistan and characterization of their virulence.

Earlier wide used *Pasteurella haemolytica* bacterins produced antibodies against capsule antigens. Thus, their therapeutic effects were not enough for treatment of cattle pasterellosis. Our investigations are referred to increase of defense properties of pasterellosis vaccines by producing of antibodies to *Pasteurella haemolytica* cytotoxins (leukotoxins).

We have investigated the virulence of different eight serotypes of *Pasteurella haemolytica* indigenous in Uzbekistan by the determination of comparative level of produced leukotoxins.

We have developed immunoenzyme analysis (ELISA) of leukotoxin specific antibodies developed on the base of vaccines against more virulent *Pasteurella haemolytica* serotypes.

**КРУГЛЫЙ СТОЛ «КЛЕТОЧНАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ В СЕЛЕКЦИИ РАСТЕНИЙ НА
УСТОЙЧИВОСТЬ К ПАТОГЕНАМ»
SEMINAR “CELLULAR BIOTECHNOLOGY IN THE SELECTION OF THE PLANTS FOR
THE PATHOGENS RESISTANCE”**

**УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS**

**GENETICALLY MODIFIED AGRICULTURAL PRODUCTS – SAFETY ASSESSMENT AND
PATH TO MARKET**

Natalia N. Bogdanova,

D.V.M., Biotechnology Regulatory Solutions, LLC, St. Louis, USA

Agricultural crops produced by methods of biotechnology have been on the market since 1996. Numerous benefits for the farmer and the environment have been identified and described. At the same time, potential risks associated with this technology with regard to the safety of these crops and products for human and animal consumption, and the environment, have been identified and are routinely assessed. Regulatory agencies throughout the world are constantly developing requirements for the assessment of the food, feed and environmental safety of these crops and products derived from them. Although the general scientific principles for the safety assessment are similar among countries, approaches differ depending on the cultural and political situations.

Safety considerations are taken into account from the first steps of product development. The origins of the genetic elements and gene of interest are considered. Proteins produced by the introduced gene(s) are characterized and mode of action, potential for allergenicity and toxicity are analyzed. The main principle for the food and feed safety is to demonstrate that the product is as safe as its conventional counterpart and nutritional comparisons of a large number of critical metabolites are conducted. Agronomic characteristics, pollen flow, potential impact to non-target organisms, and the management of potential resistance development by target organisms (insect pests or weeds) to the introduced protein(s) are some of the key aspects of the environmental safety assessment.

Coordination of regulatory import and cultivation approvals with production of the seed is an important step for a product launch. Factors such as seed production, market distribution and conditions for crop cultivation are critical. For insect-protected products, grower compliance with conditions of crop planting is very important. Post-commercial monitoring is implemented once the product is on the market. This presentation will describe the safety assessment, registration and introduction to the market of genetically modified crops using as an example insect-protected corn in the US.

НОВИЗНА ПРИЗНАКА, ОПРЕДЕЛЯЮЩЕГО ХЛЕБОПЕКАРНЫЕ СВОЙСТВА, ПОЛУЧЕННОГО С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА ХИМИЧЕСКОГО МУТАГЕНЕЗА НА ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЕ

¹Эйгес Н.С., ¹Волченко Г.А., ²Кузнецова Н.Л., ¹Вайсфельд Л.И.,

^{2,3}Упелниек В.П., ²Артамонов В.Д., ¹Волченко С.Г.

¹Учреждение Российской академии наук Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН. Россия. 119334, г. Москва, ул. Косыгина, 4

²Учреждение Российской академии наук Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина. Россия. 127276, г. Москва, ул. Ботаническая, 4

³Учреждение Российской академии наук Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Россия. 119991, г. Москва, ул. Губкина, 3

Признак высокого хлебопекарного качества у озимой мягкой пшеницы, редко возникающий при использовании традиционных методов селекции – гибридизации и отбора, возникает часто с применением метода химического мутагенеза при правильном подборе трех составляющих: мутаген – доза – исходный сорт. При этом получить признак относительно просто. Признак хлебопекарного качества является сложным, определяемым рядом параметров. При использовании супермутагена этиленимина – одного из первых, сильные мутагенные свойства которого были открыты в нашей стране И.А. Рапопортом, наблюдается одновременное положительное влияние на ряд параметров, определяющих хлебопекарные свойства. Это связано с возникновением множественных мутаций и широкими возможностями выбора нужных наследственных изменений в широком мутационном спектре. В настоящей работе исследованы некоторые характерные черты метода химического мутагенеза, представляющие собой новизну в отношении признака хлебопекарных свойств: 1) частое возникновение признака; 2) неопределенно длительная его сохранность; 3) сохранение высоких хлебопекарных свойств на разных агрофонах при разных климатических условиях, стабильное проявление признака. Из сказанного следует, что хлебопекарные свойства, возникающие при использовании метода химического мутагенеза, более определяются генотипом и менее зависят от внешних условий в отличие от хлебопекарных свойств, получаемых вне метода химического мутагенеза. Последние чаще нестабильны и колеблются в зависимости от климатических условий года и агрофона.

THE NOVELTY OF CHARACTER, DETERMINING BRED BAKING PROPERTIES OF WINTER WHEAT, OBTAINED USING THE METHOD OF CHEMICAL MUTAGENESIS

¹Eiges N.S., ¹Volchenko G.A., ²Kusnetsova N.L., ¹Weisfeld L.I.,

^{2,3}Upelniek V.P., ²Artamonov V.D., ¹Volchenko S.G.

¹Emanuel Institute of Biochemical Physics, Kosygina st., 4, 119334 Moscow, Russia

²Tsytsin Main Moscow Botanical Garden of Academy of Sciences. Botanicheskaya st., 4, 127276 Moscow, Russia

³Vavilov Institute of Common Genetics of Academy of Sciences Gubkina st, 3, 119991 Moscow, Russia

The character of high bred baking quality of soft winter wheat appears rarely when applying traditional methods of selection – hybridisation and choice. However it arises often when applying the chemical mutagenesis method under proper combination of three components: mutagen – dose – original variety. Under these conditions it is relatively easy to obtain this character. The character of bred baking quality

is complex, determined by a number of parameters. When applying supermutagen of ethylene imine (one of the first mutagens, its high mutagenic properties were discovered in our country by I.A. Rapoport), a simultaneous positive effect on a number of parameters determining bred baking properties is observed. This effect is connected with the rise of multiple mutations and wide possibility of choice of necessary hereditary changes within a wide mutation spectrum. In the present paper some typical characteristics of chemical mutagenesis method were novelty relatively to the character of bred baking: 1) frequent origin of this character; 2) its indefinitely long safety; 3) preservation of high bred baking quality in different agricultural backgrounds under different climatic conditions, the stable conservation of the character. As appears from the above, under the application of chemical mutagenesis method the baking properties are determined more by genotype and are less dependent on environmental conditions. In contrast, without application of chemical mutagenesis the baking properties are more often unstable and depend on the climatic conditions of the given year and agricultural background.

БИОТЕХ ПШЕНИЦА: СОЗДАНИЕ, БИОБЕЗОПАСНОСТЬ И ПЕРСПЕКТИВЫ В РОССИИ

Мирошниченко Д.Н., Долгов С.В.

Станция искусственного климата «Биотрон»,

Филиал Института Биоорганической Химии РАН им. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова, г.

Пушино, Московская обл. 142290

Лаборатория генетической инженерии растений,

Всероссийский Институт сельскохозяйственной биотехнологии РАСХН,

ул.Тимирязевская д.42, г.Москва, 127550

Пшеница исторически является важнейшей зерновой культурой в мире. Несмотря на огромную потребность в сортах устойчивых к различным стрессовым факторам внешней среды, в настоящий момент трудно получить желаемые формы вследствие сложной генетической природы большинства признаков. Создание биотех пшеницы с заданными свойствами методами генетической инженерии открывает альтернативный путь для получения новых устойчивых форм. В течение последних десяти лет нами ведутся работы по созданию эффективной системы генетической трансформации пшеницы, включающей все этапы работ (от пробирки *in vitro* до полевых испытаний гомозиготных популяций), позволяющей значительно сократить время и затраты на получение биотех форм. Результатом этих исследований стало получение более 200 независимых трансгенных линий с генами устойчивости к биотическим и абиотическим стрессам. Наиболее перспективные линии успешно прошли испытания в условиях зимних теплиц и на полевых участках, в результате чего отобраны биотех формы пшеницы устойчивые к гербицидам и солевому стрессу. Большое внимание в наших исследованиях уделено вопросам биобезопасности возделывания генномодифицированных форм пшеницы, в частности анализу дрейфа трансгенов. Изучение различных факторов (сезонность, климатические характеристики, удаленность растений-реципиентов и др.) позволили проанализировать вероятность вертикального переноса трансгенов с пылью в условиях поля и оценить перспективы внедрения биотех форм пшеницы в широкую практику.

BIOTECH WHEAT: DEVELOPMENT, BIOSAFETY AND FUTURE PROSPECTS IN RUSSIA

Miroshnichenko D.N and Dolgov S.V.

'Biotron', Branch of Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Moscow Region, Russia, 142290

All Russian Research Institute of Agricultural Biotechnology RAAS, Timiryazevskaja 42, Moscow, Russia, 127550

The availability of transformation technology provides an opportunity to manipulate cereals to enhance its agronomic performance, resistance to abiotic and biotic stresses and yield. Although wheat can now be routinely transformed using biolistic or agrobacterium methods, the complete process for production of commercial genotypes from the efficient DNA delivery to fast generation of the homozygous transgenic progenies still remains an art. Our research is being directed toward the speeding up the process of identification of transgenic tissue and the reducing the time and the amount of work involved in the production of transgenic plants of Russian cultivars and their transgenic progenies. To date a number of homozygous transgenic populations were successfully undergone the field trials and showed the stability and inheritability of the new traits in wheat. To improve the plant growth and yield of wheat, we have generated transgenic wheat plants over-expressing genes encoding the resistance to herbicides and salt stress. Besides the modification for better agronomic characters, the assessment of transgenic wheat safety was also investigated in field trials. One of the most discussed environmental effects associated with the use of transgenic plants is the flow of genes to plants in the environment. Our research for crop-to-crop genes flow was aimed to identify the potential risks of gene escape from transgenic wheat through pollen dispersal. Analyses of phenotypic and molecular data showed that gene flow was greatly affected by the direction of the dominant wind, the distance between the targets and amount of transgenic plants cultivated as the donors of the pollen. Basing the latest progress in the relation of different aspects of the transgenic wheat, the future trends in the exploitation of biotech wheat will be discussed.

SILICON AND ITS ABILITY TO IMPROVE DROUGHT STRESS TOLERANCE IN BARLEY (*HORDEUM VULGARE* L.) CULTIVARS AT DIFFERENT DEVELOPMENTAL STAGES

Raheem Haddad, Zahra Moshiry, Ramin Hosseini

Department of Agricultural Biotechnology, Faculty of Engineering & Technology, Imam Khomeini International University, Qazvin, IR of Iran;

E-mail: raheemhaddad@yahoo.co.uk; Tel: (+98) 281 837 1165, Fax: (+98) 281 378 0073

Silicon presents a close relationship with the amelioration of environmental stresses. However, mechanisms of Si-mediated alleviation of these stresses remains poorly understood. This work aimed at studying the relationship between the silicon and antioxidant enzyme activities, proline and glycine betaine contents, total soluble protein and relative water content in barley under drought stress. Two barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars differing in drought tolerance (Kavir (tolerant), Jonub (sensitive)) grown in pots and were studied at different developmental stages (2 leaves, 4 leaves and tillering). Three different treatments (Control (C), Drought (D), Drought + Silicon (DSi)) were employed to collect the data on three replications. Silicon treatment was initialized by adding sodium silicate (2 mmol kg⁻¹ soil) before sowing. Sampling was performed when soil potential received to -1 MPa in drought and silicon drought treatments. The results illustrated that antioxidant enzyme activities and osmolyte contents were increased with the application of silicon in compared to the control and drought treatments. Application of silicon improved

the water status of drought stressed plants. Activities of antioxidant enzymes (Catalase (CAT), Superoxide dismutase (SOD), Peroxidase (POD), Ascorbate Peroxidase (APX)) and osmolytes were higher in tolerant cultivar than sensitive. Also experiment exhibited that silicon effects are time dependent and its effects increased with lapse. Since antioxidant enzymes were produced against reactive oxygen species (ROS) induced by drought stress and osmolyte accumulation occurred in response to stress to protect plant tissues against oxidative stress, therefore, exogenous silicon might be applied to reach a higher efficiency of plant production.

РАЗРАБОТКА БЫСТРЫХ ИММУНОХИМИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ОПРЕДЕЛЕНИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ ВИРУСОВ

Сафенкова И.В.¹, Бызова Н.А.¹, Чирков С.Н.², Жердев А.В.¹, Дзантиев Б.Б.¹, Атабеков И.Г.²

¹Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН,

Ленинский проспект, 33, 119071 Москва

²Биологический факультет Московского государственного университета им.

М.В. Ломоносова, 119991 Москва

Иммунохроматография – быстрый и экономичный одношаговый способ, позволяющий определить наличие или отсутствие искомого вещества в пробе. Цель данной работы состояла в выявлении ключевых факторов, влияющих на предел обнаружения «сэндвич»-формата иммунохроматографического анализа, и разработке методов определения практически значимых патогенов – X вируса картофеля (ХВК) и вируса шарки сливы (ВШС). Были получены моноклональные антитела к вирусам и пять препаратов коллоидного золота (КЗ) со средними диаметрами частиц от 5 до 60 нм по данным электронной микроскопии. Конъюгаты антител с КЗ синтезировали при варьировании концентрации антител от 10 до 100 мкг/мл, pH конъюгации – от 7,5 до 10,0. Максимальным связыванием в аналитической зоне иммунохроматографической тест-системы характеризовались конъюгаты, синтезированные при pH 9,0–9,5. Сравнение конъюгатов с разной степенью заполнения антителами поверхности КЗ показало, что для максимального связывания вируса достаточна концентрация антител при иммобилизации, равная 15 мкг/мл. Установлена зависимость между размером коллоидных частиц в конъюгатах с антителами и пределом обнаружения вирусов в иммунохроматографическом анализе: в ряду частиц с диаметром от 6,4 до 33,4 нм предел обнаружения уменьшается от 80 до 3 нг/мл, а при больших размерах частиц – возрастает, достигая 9 нг/мл при диаметре, равном 52 нм. На основании установленных закономерностей разработаны иммунохроматографические тест-системы для экспрессного (10 мин) выявления ХВК и ВШС в листьях растений с пределом обнаружения 3 нг/мл. Проведенная апробация тест-систем показала их эффективность для внелабораторного контроля растительного материала.

Работа поддержана государственными контрактами № П975 от 20.08.2009 и № 02.740.11.0868 от 28.06.2010.

DEVELOPMENT OF RAPID METHODS FOR IMMUNOCHEMICAL DETECTION OF PLANT VIRUSES

Safenkova I.V.¹, Byzova N.A.¹, Chirkov S.N.², Zherdev A.V.¹, Dzantiev B.B.¹, Atabekov I.G.²

¹*Institute of Biochemistry Russian Acad. Sci., Leninsky prospect 33, 119071 Moscow*

²*Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, 119991 Moscow*

Immunochromatographic (lateral-flow) assay is fast and economical one-step method to determine presence or absence of the target substance in the tested sample. The purpose of this study were to identify key factors affecting the limit of detection (LOD) for sandwich-format of immunochromatographic assay and to develop test-systems for the detection of such practically important pathogens as potato virus X (PVX) and plum pox virus (PPV). Monoclonal antibodies against the viruses were prepared and five preparations of colloidal gold (CG) with average particle size in the range from 5 to 60 nm according to electron microscopy measurements were obtained. Conjugates of antibodies with CG were synthesized by varying the concentration of the antibodies from 10 to 100 µg/ml, and pH of the conjugation – from 7.5 to 10.0. Conjugates obtained at pH 9.0-9.5 were characterized by maximal binding in the analytical zone of lateral-flow tests. The comparison of the conjugates obtained by varying the degree of antibodies' coverage of the CG demonstrated that the immobilization of antibodies with the concentration equal to 15 µg/ml was sufficient to reach maximal binding of viruses in lateral-flow tests. The dependence between the size of colloidal particles in conjugates with antibodies and the LOD of viruses in lateral-flow immunoassay was described. The increase of the particles diameters from 6.4 to 33.4 nm corresponds to decrease of the LOD from 80 to 3 ng/ml, and for larger particles the LOD increases reaching 9 ng/ml for particles with diameter equal to 52 nm.

Based on the established correlations lateral-flow assays for express (10 min) detection of PVX and PPV in plant leaves were developed with the LOD equal to 3 ng/ml. The application of the developed assays confirmed their efficiency as tools for out-of laboratory conditions.

The work was supported by State contracts No P975 from 08.20.2009 and No 02.740.11.0868 from 06.28.2010.

ПОСТЕРЫ И ПУБЛИКАЦИИ POSTERS AND PUBLICATIONS

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ТОТАЛЬНО МЕЧЕННОГО СТАБИЛЬНЫМИ ИЗОТОПАМИ ЛИПИД-ТРАНСПОРТИРУЮЩЕГО БЕЛКА ЧЕЧЕВИЦЫ

Богданов И.В.^{1,2}, Финкина Е.И.¹, Баландин С.В.¹, Рыбалко А.Е.², Овчинникова Т.В.¹

¹Учреждение Российской академии наук Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10.

²Сочинский институт Российского университета дружбы народов, 354348, Сочи, ул. Куйбышева, 32.

Более 40 лет прошло с момента открытия нового семейства растительных неспецифических липид-транспортующих белков (nsLTP), однако их биологическая роль в физиологии растений все еще не вполне ясна. На сегодняшний день определенно можно сказать, что многочисленные функции этих небольших катионных белков связаны с их способностью обратимо связывать и переносить различные липидные молекулы.

Ранее из пророщенных семян чечевицы *Lens culinaris* нами был выделен липид-транспортующий белок, обладающий антимикробной активностью и названный Lc-LTP2. Были установлены его полная аминокислотная последовательность и структура кДНК. Для исследования методом гетероядерной ЯМР-спектроскопии пространственной структуры Lc-LTP2 был получен его ¹⁵N-меченный рекомбинантный аналог. Клетки *E. coli* BL-21(DE3), трансформированные плазмидой pET-His8-TrxL-Lc-LTP2, выращивали при пониженной температуре на бедной среде, содержащей ¹⁵N-меченный хлорид аммония в качестве единственного источника азота. Очистка рекомбинантного ¹⁵N-меченного Lc-LTP2 включала его выделение из растворимой фракции клеточного белка, металлохелатную хроматографию, расщепление гибридного белка бромцианом, повторную аффинную хроматографию и обращенно-фазовую ВЭЖХ. Экспериментально полученная методом MALDI-TOF масс-спектрометрии молекулярная масса рекомбинантного белка (9395,08 Да) соответствует расчетной массе Lc-LTP2 (9395,7 Да), totally меченного стабильным изотопом ¹⁵N.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках реализации ФЦП "Научные и научно-педагогические кадры инновационной России" на 2009-2013 годы (проект НК-602П/19, госконтракт П1159).

BIOTECHNOLOGICAL UNIFORM STABLE ISOTOPE LABELING OF LENTIL LIPID TRANSFER PROTEIN

Bogdanov I.V.^{1,2}, Finkina E.I.¹, Balandin S.V.¹, Rybalko A.E.², Ovchinnikova T.V.¹

¹Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Miklukho-Maklaya str., 16/10, 117997 Moscow, Russia

²Sochi Institute of Peoples' Friendship University of Russia, Kuibysheva str., 32, 354348 Sochi, Russia

More than 40 years have passed since new family of the plant nonspecific lipid transfer proteins (nsLTP) was described, however their precise biological role in plant physiology still isn't quite clear. So far, it is definitely possible to tell that numerous functions of these small basic proteins are related with their ability to reversibly bind and transport a variety of different lipids.

In previous study a novel plant nsLTP called Lc-LTP2 and exhibited antimicrobial activity was purified from the lentil *Lens culinaris* germinated seeds. Complete amino acid sequence and cDNA structure of the lentil protein were determined. In order to determine Lc-LTP2 tertiary structure by heteronuclear NMR spectroscopy, ^{15}N -labeled recombinant analog was obtained. *E. coli* BL-21(DE3) cells, transformed with the plasmid pET-His8-TrxL-Lc-LTP2, were grown in a minimal medium, containing $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ as the only source of nitrogen, at low temperature. Purification protocol of ^{15}N -labeled recombinant Lc-LTP2 involved its isolation from cell soluble protein fraction by immobilized metal affinity chromatography, CNBr cleavage of the fusion protein at intentionally introduced methionine residue, subsequent affinity chromatography and final purification by reversed-phase HPLC. Molecular mass of the recombinant ^{15}N -labeled protein (9395.08 Da), determined by MALDI-TOF mass spectrometry, correlated well with the calculated molecular mass of ^{15}N -labeled Lc-LTP2 (9395.7 Da).

This work was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation within the FTP "Scientific and Scientific-Pedagogical Personnel of the Innovative Russia in 2009-2013" (project NK-602P/19, government contract P1159).

ОТЗЫВЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ НУТА НА ДВОЙНУЮ ИНОКУЛЯЦИЮ В УСЛОВИЯХ ОРЛОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Донская М.В.^{1,2}, Суворова Г.Н.¹, Васильчиков А.Г.¹

¹Всероссийский научно-исследовательский институт зернобобовых и крупяных культур (ВНИИЗБК), г. Орел, n/o Стрелецкое, nmaria_87@mail.ru

²Орловский государственный аграрный университет, г. Орел

Изучена отзывчивость растений нута *Cicer arietinum* L. на предпосевную инокуляцию азотфиксирующими бактериями *Mesorhizobium ciceri* (штамм 527, ВНИИСХМ) и эндомикоризными грибами *Glomus*. Исследования проводились на опытном поле ВНИИЗБК (Орловская область, пос. Стрелецкий) на темно-серых лесных почвах с содержанием гумуса 4,7-4,9 %. Схема размещения растений 45 x 6 см. В качестве материала для исследований служили 12 сортообразцов нута различного географического происхождения коллекции ВИР. В вариантах с инокуляцией ризобиями в фазу бутонизации на растениях образовывалось до 30 клубеньков на основном на главном корне. Максимальное значение активности нитрогеназы на уровне 256 мкг N/раст./час отмечено у сорта Краснокутский 123 в варианте с двойной инокуляцией. В контрольных вариантах клубеньки формировались в единичных случаях, что свидетельствует об отсутствии специфичных для нута азотфиксирующих бактерий в почвенной микрофлоре Орловской области. В условиях дефицита влаги в течение вегетационного периода 2010 года прямой корреляции между показателями деятельности азотфиксирующих бактерий и продуктивностью растений не наблюдалось. Тем не менее, сорта Память, Зерноградский, и Краснокутский 28 проявили положительную реакцию на двойную инокуляцию. Если в контрольных вариантах средняя семенная продуктивность растений данных сортов составляла 10,6 - 12,4 г, то в вариантах с двойной инокуляцией ризобиями и эндомикоризными грибами растения формировали в среднем 16,1 - 19,6 г семян. Проведенные исследования показывают перспективность приема предпосевной обработки семян нута ризобиями и грибами арбускулярной микоризы в зоне интродукции культуры.

RESPONSE OF CHICKPEA PLANTS TO DOUBLE INOCULATION IN OREL REGION

Donskaya M.V.^{1,2}, Suvorova G.N.¹, Vasilchikov A.G.¹.

¹The All-Russia Research Institute of Legumes and Groat Crops (VNIIZBK), p/b Streletskoye, Orel, 302502, Russia, nmaria_87@mail.ru

²The Orel State Agrarian University, Orel, Russia

Response of chickpea plants *Cicer arietinum* L. to seed inoculation of nitrogen fixing bacteria *Mesorhizobium ciceri* (strain 527, ARRIAM) and mycorrhizal fungi *Glomus* was studied. Experiment was conducted at the field of VNIIZBK (Orel region, Streletsky) on the dark-gray forest soils with a humus content of 4,7-4,9%. Plant layout was 45 x 6 cm. 12 chickpea accessions of different geographical origin from VIR gene bank were included into research. At the budding stage up to 30 nodules were formed per plant on the main root in variants of rhizobia inoculation. The maximum nitrogenase activity was observed at the Krasnocutsky 123 cultivar in variant of double inoculation. In control variants the nodules were formed in a few cases that indicated the absence of chickpea specific bacteria in soil microflora of Orel region. There was no direct correlation between activity of nitrogen fixing bacteria and plant yield during the water deficient growing season of 2010. Nevertheless cvs. Pamyat, Zernogradsky and Krasnocutsky 28 showed a positive reaction to the double inoculation. If average seed production per plant in control variants was 10,6-12,4 g, then plant yield in variants of double inoculation was 16,1-19,6 g of seeds in average. The obtained results showed the benefit of seed pretreatment by rhizobia and micorrhizal fungi for chickpea in the zone of its introduction.

ПОДБОР РОДИТЕЛЬСКИХ ПАР ДЛЯ ГИБРИДИЗАЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДНК - МАРКЕРОВ

**Федулова Т.П., Богомолов М.А., Богачева Н.Н.,
Жужжалова Т.П., Федорин Д.Н., Ошевнев В.П., Хуссейн А.С.**

ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свеклы имени А.Л. Мазлумова
Россельхозакадемии,
396030, Воронежская обл., Рамонский р-н, ВНИИСС

Внедрение высокоурожайных гибридов сахарной свёклы в производство предполагает поиск комбинаций скрещиваний с максимальным гетерозисным эффектом. Целью настоящей работы является оценка эффективности ДНК-маркеров для генотипирования родительских форм сахарной свёклы и их гибридов.

На основании ранее проведенных экспериментов нами было отобрано 5 произвольных праймеров к умеренно повторяющимся последовательностям ДНК, позволяющим получать наибольшее количество полиморфных полос. Все праймеры инициировали амплификацию ДНК и установили наличие полиморфных фрагментов у исследуемых образцов. Анализ полиморфизма умеренных повторов позволил установить различие между исследованными селекционными материалами. Основная зона разделения ампликонов находилась в пределах 200-1500 п.н. Максимальное количество полиморфных полос получено в результате амплификации с праймером PAW S 5. Анализ RAPD-спектров амплификации геномной ДНК родительских форм и гибридов показал, что спектры гибридных растений не являются копией спектра одного из родителей, а имеют различное сочетание фрагментов обоих родителей. RAPD-фрагменты по-разному проявляются у гибридных образцов: передаются гибридам, не наследуются гибридами, а в некоторых случаях родительская

форма и гибрид имеют одинаковые профили, но с различной выраженностью отдельных фрагментов. Следует отметить, что высокопродуктивные гибриды отличаются увеличением числа повторов локуса PAW S 5 (AAC GAG GGG TTC GAG GCC) длиной от 200 до 1500 п.н. Данный локус обнаружен у обоих родителей в значительно меньшем количестве (у каждого двукратный повтор). Такое увеличение количества повторов данного локуса произошло в процессе гибридизации, что, по-видимому, связано с усилением признака, кодируемого этим локусом.

ПОДБОР РОДИТЕЛЬСКИХ ПАР ДЛЯ ГИБРИДИЗАЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДНК - МАРКЕРОВ

T.P. Fedulova, M.A. Bogomolov, N.N. Bogachova,

T.P. Zhuzhzhhalova, D.N. Fedorin, V.P. Oshevnev, A.S. Hussein

State Research Organization "The A.L. Mazlumov All-Russian Research Institute of Sugar Beet" of Russian Agricultural Academy,

396030, Voronezh region, Ramon, VNIISS

Application of high-yielding sugary beet hybrids to production supposes the search of crossing combinations with maximal heterosis effect. The purpose of the present work is estimation of DNK-marker efficiency for determining genotypes of sugary beet parental forms and their hybrids.

On basis of the experiments carried out previously, we had selected 5 random primers for moderately repeated DNK sequences that allow obtaining the greatest quantity of polymorphous bands. All the primers initiated amplification of DNK and determined the presence of polymorphous fragments in the samples tested. Analysis of the moderate repeats allowed determining difference between the studied breeding materials. The main zone of amplicons' separating was within 200 -1500 b.p. Maximal quantity of polymorphous bands was received as a result amplification with the primer PAW S 5. RAPD-spectra analysis of genome DNK amplification in parental forms and hybrids showed that spectra of hybrid plants were not the copies of a parent spectrum, but had various combinations of the fragments from both parents. RAPD-fragments are displayed in hybrid samples differently: they can be inherited or not inherited by hybrids, and, in some cases, a parental form and a hybrid have similar profiles, but with different expression of individual fragments. It should be noted, high-yielding hybrids are characterized by increased number of the PAW S 5 locus repeats (AAC GAG GGG TTC GAG GCC), with length from 200 to 1500 b.p. The given locus was revealed in both parents in considerably less quantity (two repeats in each). Such increasing of the given locus repeats' quantity occurred during process of hybridization that is apparent connected with greater expression of a trait coded by this locus.

ОТВЕТ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ РАПСА (*BRASSICA NAPUS* L.), СОДЕРЖАЩИХ ВСТРОЕННЫЙ ГЕН РИСА *OSMYB4*, НА ДЕЙСТВИЕ ПОНИЖЕННОЙ ПОЛОЖИТЕЛЬНОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ

Гомаа А.¹, Бурмистрова Н.А.², Радионов Н.В.², Ралдугина Г.Н.²

¹Российский университет дружбы народов, ул. Миклухо Маклая, 6, 117198 Москва

²Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая, 35, 127276 Москва,

Ген *OsMyb4*, выделенный из риса, является геном транскрипционного белка, вызывающего экспрессию генов, отвечающих за устойчивость растений к различным неблагоприятным факторам. При встраивании гена *OsMyb4* в другие растения они должны стать более устойчивыми к воздействию неблагоприятных факторов. Нами были получены трансгенные растения рапса сорта Вестар с этим геном под *cor*-промотором, индуцируемым низкими положительными температурами. Конструкция, была предоставлена сотрудниками Института с/х биологии и биотехнологии, Милан, Италия. Полученные трансгенные растения по внешнему виду не отличались от нетрансформированных, были фертильны и при высаживании в почву образовали после самоопыления семена, в части которых содержался ген *OsMyb4*. Только в 23 растениях из 95 исследованных он наследовался совместно с геном *nptII*. Экспрессию трансгена наблюдали только у 15 растений. Из них были отобраны 3 линии с различной активностью экспрессии, на которые воздействовали температурой +4°C в течение 5-ти сут. У растений было измерено содержание растворимых сахаров и пролина. До начала опыта содержание сахарозы и пролина у трансгенных и контрольных растений было примерно равно, тогда как фруктозы и глюкозы у нетрансформированных в 2 раза больше. При воздействии холода суммарное содержание сахаров у трансгенных растений было значительно ниже, чем у контрольных. При этом у трансгенных растений происходило сильное увеличение синтеза пролина. Воздействие холода было обратимым и нивелировалось при возврате в комнатные условия. Можно заключить, что действие холода на трансгенные растения количественно отличается от действия на нетрансформированные растения. Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 10-04-00799-а; 09-08-01243-а, а также программы Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология».

THE RESPONSE OF TRANSGENIC *BRASSICA NAPUS* PLANTS EXPRESSING A MYB4 GENE FROM RICE (*ORYZA SATIVA*) TO LOW TEMPERATURE

Goma A.¹, Burmistrova N.A.², Radionov N.V.², Raldugina G.N.²

¹Peoples' Friendship University of Russia, Mikluho-Maklaya, 6, 117198, Moscow

²Institute of Plant Physiology RAS, Botanicheskaya 35, 127276 Moscow

The *OsMyb4* gene encodes the transcription factor that is essential for the regulation of gene expression controlling the abiotic and biotic stress tolerance of plants. Transgenic oilseed rape plants (*Brassica napus*, spp. *Westar*) were obtained through transformation with the *OsMyb4* rise gene under the control of the COR cold-inducible promoter. Plasmid with the target gene under *cor* promoter, also containing *nptII* gene for agrobacterium transformation, was kindly donated by the Institute of Agricultural Biology and Biotechnology of Milan, Italy. There was no difference in appearance between transgenic and normal rapeseed plants. Seeds that were formed after self-pollination of soil-cultivated transgenic plants were germinated *in vitro*. Only 23 of 95 seeds inherited the target gene conjointly with the *nptII* gene. Using RT-PCR we found that after exposure at 4°C only 15 transgenic *Brassica napus* plants showed detectable

expression of the *OsMyb4* gene. We selected three lines with various expression of the incorporated gene. The selected soil-less-cultivated plants were treated with low temperatures (4°C) for 5 days. We analyzed the ability of transgenic plants to accumulate soluble sugars and proline. We found that there was no difference between transgenic and non-transgenic plants in the concentration of sucrose and proline under normal growth conditions, whereas non-transgenic plants contained twice as much fructose and glucose molecules compared with transgenic plants. The total soluble sugar content was lower in transgenic plants than with normal oilseed rape plants at low temperature conditions. At the same time transgenic plants showed activation of proline synthesis. It is interesting that after five days of low temperature treatment on the non-transgenic rapeseed plants that the content of the sucrose decreased whereas the concentration of fructose and glucose increased. There was no such effect for transgenic plants. Content of all the measured metabolites tended to become normal on the fourth day after returning the transgenic plant lines to the normal temperature (20°C). Indeed, we conclude that the expression of the incorporated gene produces changes in plant response to low temperature stress. Work is supported by grants RFBR 10-04-00799-a; 09-08-01243-a, and Programs of Presidium RAS «Molecular and Cellular Biology».

КЛОНАЛЬНОЕ МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ ЭНДЕМИКА СЕВЕРНОГО КАВКАЗА *MENTHA LONGIFOLIA*(L.) HUDS

Губаз С.Л., Рыбалко А.А.

*Сочинский институт Российского университета дружбы народов,
354348, Сочи, ул. Куйбышева, 32.*

Мята - род ароматических многолетних трав, принадлежащих к семейству Lamiaceae. Эти растения произрастают главным образом в умеренных и субумеренных областях мира. Несколько разновидностей рода рассматриваются индустриальными культурами, поскольку они - источники эфирных масел, содержащих некоторые монотерпены, широко используемые в продовольствии, ароматической индустрии, косметических и фармацевтических отраслях промышленности. Кроме того мята является важной пищевой культурой. Целесообразно также рассмотреть использование этого растения в ландшафтном дизайне. Мята имеет большое количество разновидностей, которые отличаются широко по характеристикам и уровню плоидности.

На Черноморском побережье г. Сочи произрастают несколько видов семейства Lamiaceae. В том числе эндемичный и находящийся под угрозой вид *Mentha longifolia* (L.) Huds. Учитывая большое экономическое значение этого вида мы провели исследования по разработке методики введения в культуру *in vitro* и микроразмножения этого вида. Биологический материал для исследований отбирали в окрестностях села Красная воля Адлерского района г. Сочи. Отобранные растения выращивали в теплице. В работе использовали молодые побеги. Перед введением в культуру проводили стерилизацию поверхности эксплантов в растворе гипохлорита натрия в концентрации 0.5 % в течение 15 минут и промывали последовательно в 3-х порциях стерильной дистиллированной воды. Стеблевые верхушки размером 0,2 – 0,3 мм вводили на поверхность питательной среды МС с инозитом 100 мг/л, агаром - 8 г/л и сахарозой - 30 г/л. Состав этой основной среды отличался по содержанию фиторегуляторов (К и ВАР, НУК). Полученные стерильные культуры выращиваются в ростовой камере. Отрабатывается методика повышения коэффициента размножения и нестерильного укоренения пробирочных черенков для разработки технологической карты производства посадочного материала.

ОПТИМИЗАЦИЯ СВЕТОВОГО РЕЖИМА ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ ОЗДОРОВЛЕННЫХ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ *IN VITRO* С ЦЕЛЬЮ ПОВЫШЕНИЯ ПРОДУКЦИОННОГО ПРОЦЕССА

Дорофеев В.Ю., Медведева Ю.В., Карначук Р.А.

Томский государственный университет,
634050, г. Томск, пр. Ленина, 36

Основным способом оздоровления растений картофеля – является метод апикальных меристем и получение микроклонов *in vitro*. Ранее нами показано, что свет разного спектрального состава регулирует рост, фотосинтез и продуктивность растений *in vivo* и *in vitro*. Полученные результаты дают основание для исследований по разработке оптимального режима освещения, используя досветку селективным светом при культивировании микроклонов растений картофеля *in vitro* для последующего сокращения сроков вегетации, ускорения столоно- и клубнеобразования в условиях гидропоники. Использовали районированные раннеспелые нематоустойчивые сорта картофеля Red Scarlett Крепыш. Оздоровленные методом апикальных меристем растения *in vitro* были клонированы и выращены в течение 28 суток в условиях освещения люминесцентными лампами (36 Вт) белого света и при досветке красным (КС) и синим (СС) светом с равной интенсивностью. Показано, что досветка СС сокращала длину междоузлий и, как следствие, длину растений картофеля сорта Red Scarlett, в то время как КС достоверно увеличивал эти показатели. Аналогичная закономерность обнаружена и для растений сорта Крепыш. При этом сухая масса растений, экспонированных в режиме досветки на СС, была больше, чем на КС. Содержание хлорофилла а и каротиноидов было выше у верхнего яруса листьев растений обоих сортов, выращенных при досветке СС. Таким образом, полученные данные позволяют рассматривать возможность досветки селективным светом микроклонов растений картофеля *in vitro* для дальнейшей ускоренной адаптации и сокращения сроков вегетации при культивировании на гидропонной установке с целью получения оздоровленных безвирусных миниклубней. Работа поддержана грантом программы «Старт 10» Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере (государственный контракт №7803р/11524 от 15.04.2010).

OPTIMIZATION OF LIGHT CONDITIONS DURING CULTIVATION OF TORMALIZED INITIAL MATERIAL OF POTATO PLANTS *IN VITRO* IN ORDER TO IMPROVE THE PRODUCTION PROCESS

Dorofeev, V., Medvedev Yu.V., Karnachuk R.A.

Tomsk State University,
634050, Tomsk, Lenina av., 36

The main way of improvement of potato plants - a method of apical meristems and getting microclones *in vitro*. We have previously shown that light of different spectral composition regulates growth, photosynthesis and plant productivity *in vivo* and *in vitro*. The results obtained provide a basis for research to develop optimal illumination using selective light for microclones under cultivation of potato plants *in vitro* for further shortening the growing season, the acceleration stolonis and tubers in a hydroponics. Used zoned early-maturing varieties of potatoes stable of nematodes Red Scarlett and Krepysch. Improvement of the method of apical meristems *in vitro* plants were cloned and grown for 28 days under illumination with fluorescent lamps (36 watts) of white light and red (RL) and blue (BL) light with equal intensity. It is shown that BL reduced the length of internodes and as a consequence, the length of the potato variety Red

Scarlett, while the RL significantly increased these indices. A similar pattern was found for plant varieties Krepysh. At the same dry weight of plants exposed to the mode BL was greater than the RL. The content of chlorophyll a and carotenoids were higher in the upper tier of leaves of plants of both cultivars grown at BL. Thus, these data allow us to consider the possibility of selective light of potato plants microclones *in vitro* to further accelerate the adaptation and shortening the growing season when cultured in hydroponic plant with the purpose of obtaining virus-free minituber redeveloped. This work was supported by the program “Start 10” Foundation for Assistance to Small Innovative Enterprises in science and technology (State contract № 7803r/11524 from 15.04.2010).

АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ И ПАСПОРТИЗАЦИЯ ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*PISUM SATIVUM* L.) С ПОМОЩЬЮ ДНК – ТЕХНОЛОГИЙ ОСНОВАННЫХ НА РЕТРОТРАНСПОЗОНАХ

Кокаева Л.Ю., Кокаева З.Г., Алешин А.В., Кокаев Ю. И.

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, биологический факультет, 119992, г. Москва, Воробьевы горы, МГУ, д.1, корп.12; e-mail: zaremak@inbox.ru

Оценка уровня генетического полиморфизма культурных растений, идентификация генотипов, поиск источников новых аллелей генов, контролирующих хозяйственно – ценные признаки, помогают определять стратегии селекции. В настоящее время проводится изучение структуры и полиморфизма мобильных элементов гороха, в первую очередь ретротранспозонов и получение на их основе генетических маркеров (SSAP -, IRAP -, REMAP -, RBIP -).

Для изучения межлинейного полиморфизма гороха посевного проведено исследование ДНК 50 сортов, линий и мутантов. С помощью IRAP-метода были выявлены 70 межретротранспозонных участков ДНК. Средний уровень полиморфизма составил 65,71%. Использование REMAP-анализа позволило исследовать 92 участка ДНК между ретротранспозонами и микросателлитами. Средний уровень полиморфизма составил 58,7%. Идентифицировано семь локусов RBIP-инсерций в исследованных формах гороха. Установлен высокий уровень полиморфизма вставок ретротранспозона PDR1, который составил 92%. Индекс полиморфизма PIC по IRAP – маркерам составил в среднем 0,69, по REMAP- 0,50, по RBIP - 0,67. Предложена система паспортизации гороха посевного на основе IRAP- и REMAP- технологий. Локализован молекулярный маркер RBIP4₇₀₀ в третьей группе сцепления гороха, который может быть использован в качестве якорного маркера. Показано, что все три использованные системы ДНК – технологий (IRAP -, REMAP -, RBIP-) выявляют высокий внутривидовой молекулярно – генетический полиморфизм и могут быть использованы в качестве эффективной системы паспортизации сортов гороха посевного, для филогенетических исследований и в работе по картированию хромосом.

THE ANALYSIS OF A GENETIC VARIETY AND CERTIFICATION OF GARDEN PEA (*PISUM SATIVUM* L.) USING DNA - TECHNOLOGIES BASED ON RETROTRANSPOSONS

Kokaeva L.Y., Kokaeva Z.G., Aleshin A.V., Kokaev Y.I.

Moscow State University, biological faculty,

119992, Moscow, Vorobiovy gory, MSU, h.1, k.12; e-mail: zaremak@inbox.ru

The estimation of a level of genetic polymorphism of cultivated plants, identification of genotypes, search of sources of new alleles the genes controlled economic - valuable characteristics help to define selection strategy. It is searching the mobile elements structure and polymorphism, first of all retrotransposons and reception of genetic markers (SSAP-, IRAP-, REMAP-, RBIP-) on their basis.

For studying interlinear polymorphism of garden pea it is carried out research of DNA of 50 cultivars, lines and mutants. 70 interretrotransposons sites of DNA have been revealed using an IRAP-method. The average level of polymorphism was 65,71 %. Using REMAP analysis allowed study 92 sites of DNA between retrotransposons and microsatellites. The average level of polymorphism was 58,7 %. Seven RBIP- inserts loci in the investigated forms of pea are identified. High level of polymorphism of PDR1retrotransposon inserts was found (92 %). The PIC index of polymorphism on IRAP - markers has averaged 0,69, on REMAP-0,50, on RBIP - 0,67. The system of certification of garden pea using IRAP-and REMAP-technologies is offered. RBIP4₇₀₀ molecular marker in the third linkage group of pea which can be used as an anchor marker is localized.

It is shown that all used systems of DNA - technologies (IRAP-, REMAP-, RBIP-) reveal high intraspecific molecular - genetic polymorphism and can be used as effective system of grades certification of garden pea, for phylogenetic researches and in work on mapping chromosomes.

ВЛИЯНИЕ МЕТАБОЛИТОВ ГРИБОВ РОДА *TRICHODERMA*, СЕКРЕТИРУЕМЫХ ПРИ ТВЁРДОФАЗНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ, НА РОСТ И РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ.

Корнилова Н.А., Филиппов И.Г., Марквичёв Н.С.

Российский Химико-Технологический Университет им. Д.И.Менделеева.

г.Москва, Миусская пл, д.9.

Грибы рода *Trichoderma* давно и успешно используются в сельском хозяйстве для борьбы с фитопатогенами. Помимо антагонистического действия на широкий спектр фитопатогенов, грибы рода *Trichoderma* оказывают фитостимулирующие действие на рост и развитие растения в целом. При дальнейшем изучении было установлено, что различные виды и штаммы грибов рода *Trichoderma* оказывают различное воздействие на разные растения, причём это может быть как стимулирующее, так и угнетающее воздействие. Влияние на рост и развитие растений оказывают метаболиты клеток. На разных стадиях развития клеток их морфология и физиология различна, следовательно, различны выделяемые ими метаболиты. Морфология и физиология клеток грибов рода *Trichoderma*, выращенных в глубинной культуре, будет отличаться от морфологии и физиологии клеток, выращенных поверхностным способом. Целью нашей работы было исследовать влияние фазы развития клеток гриба рода *Trichoderma* при поверхностном культивировании на торфе на фитостимулирующее действие клеток. Для этого исследовали рост гриба *Trichoderma viride* *persoon* *S.F.Grey* на торфе, экстрагировали биологически активные вещества, выделяемые клетками в различных физиологических состояниях (при росте по поверхности субстрата, при образовании воздушного мицелия и при спорообразовании) и обработали экстрактом семена

огурцов. Фитостимулирующее действие оценивали через 6 суток по следующим показателям: вес ростка, длина корня, длина стебля, количество боковых корней. Было показано, что наибольшим фитостимулирующим эффектом обладают продукты метаболизма, выделяемые клетками при спорообразовании, а наименьшим – метаболиты молодого мицелия, стелящегося по субстрату.

THE INFLUENCE OF THE METABOLITES OF *TRICHODERMA* PRODUCED AT THE SOLID-STATE FERMENTATION ON THE GROWTH AND DEVELOPMENT OF THE PLANTS

Kornilova N.A., Filippov I.G., Markvichev N.S.

*D. Mendeleyev University of Chemical Technology of Russia,
Moscow, Miusskaya sq., 9*

Fungi of the genus *Trichoderma* has been successfully used in agriculture to fight against pathogens. In addition to the antagonistic action on a wide range of pathogens, fungi of the genus *Trichoderma* have stimulate effect on plant growth and development in general. With further study it was found that different species and strains of fungi of the genus *Trichoderma* have different effects on different plants, and this can be both stimulatory and inhibitory effects. Influence on plant growth and development have metabolites of the cells. At different stages of their cell morphology and physiology is different, hence, they emit different metabolites. Morphology and physiology of the cells of fungi *Trichoderma*, grown in submerged culture is different from the morphology and physiology of cells, grown superficial way. The aim of our study was to investigate the effect of the phase development of the cells of the fungus *Trichoderma* genus in surface cultivation on peat growth stimulate action cells. To do this, studied the growth of the fungus *Trichoderma viride* Persoon S.F. Grey on peat, extracted biologically active substances secreted by cells in different physiological states (during the growth on the surface of the substrate, during the formation of aerial mycelium and sporulation) and treated with an extract of the seeds of cucumbers. Growth stimulate effect was evaluated after 6 days on the following parameters: the weight of the germ, the length of the root, stem length, number of lateral roots. It was shown that the greatest stimulate effect have metabolic products allocated to cells during sporulation, and the smallest - metabolites of young mycelium creeping over the substrate.

РАЗРАБОТКА ПРИЕМОВ СОЗДАНИЯ «ИСКУССТВЕННЫХ СЕМЯН» ЗЕМЛЯНИКИ САДОВОЙ (*FRAGARIA X ANANASSA* DUCH.)

Куликов И.М.¹, Алексеенко Л.В.¹, Белякова Л.В.¹, Высоцкая О.Н.², Высоцкий В.А.¹

¹ГНУ Всероссийский селекционно-технологический институт садоводства и питомниководства
Россельхозакадемии, Россия, г. Москва, vstisp@vstisp.org

²Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Россия, г. Москва, cryoclon@ippras.ru

Исследовали возможность инкапсулирования микропобегов и почек земляники садовой (*Fragaria x ananassa* Duch.) сортов Роксана, Покахонтас и Дивная в альгинатную оболочку. Получены «искусственные семена» земляники, способные прорасти на питательной среде, храниться при пониженной температуре в течение месяца, нормально расти и развиваться в почве. Изучено влияние

концентрации сахарозы на прорастание инкапсулированных апексов побегов земляники. Процент прорастания «искусственных семян» сорта Роксана, содержащих в своей оболочке 3% сахарозы, составил 65, при повышении концентрации сахарозы до 6% проросло 69% «искусственных семян».

Способность к прорастанию зависела от состава питательной среды для подготовки эксплантов перед инкапсуляцией и сортовых особенностей. Инкапсулированные апексы побегов земляники сорта Покахонтас, культивировавшиеся на питательной среде с концентрацией сахарозы 6% при пониженном содержании цитокинина, хранившиеся при температуре +2...+4°C в течение 30 дней, проросли в почве на 56,8%. Процент проросших «искусственных семян» этого же сорта, со среды с паклобутразолом, составил лишь 43,2. Экспланты сорта Дивная с аналогичной среды обеспечивали прорастание «искусственных семян» в почве на 76,7%.

Продление срока хранения капсул могут обеспечить препараты, ингибирующие рост эксплантов (абсцизовая кислота, паклобутразол и другие), подготовка эксплантов перед инкапсуляцией на среде с концентрацией сахарозы 6% и пониженным содержанием 6-бензиламинопурина (0,2 мг/л). Перспективно также использование методики двойного инкапсулирования для увеличения прочности альгинатной оболочки и предотвращения потери влаги.

ELABORATION OF THE TECHNIQUE FOR STRAWBERRY (*FRAGARIA X ANANASSA* DUCH.) “ARTIFICIAL SEEDS” CREATION.

Kulikov I.M.¹, Alekseenko L.V.¹, Belyakova L.V.¹, Vysotskaya O.N.², Vysotsky V.A.¹

¹All-Russian Horticultural Institute for Breeding, Agrotechnology, and Nursery of Russian Academy of Agrarian Science, Moscow, 115598, Zagorievskaya str., 4, e-mail: vstisp@vstisp.org

²Institute of Plant Physiology of Russian Academy of Science, Moscow, 127276, Botanicheskaya str., 3, e-mail: cryoclon@ippras.ru

The possibility of the encapsulation of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) microshoots and buds into alginate coat for varieties ‘Roxana’, ‘Pokahontas’, ‘Divnaya’ has been studied. The “artificial seeds” of strawberry which were able to germination on nutrient media, had the ability to store at low temperature during one month, normally grow and develop in the soil were obtained. The influence of sucrose concentration on germination of encapsulated shoot apices of strawberry has been studied. The percentage of “artificial seeds” germination for ‘Roxana’ variety contained in the coat 3% of sucrose was 65, and increased up to 69 when the sucrose content was 6%.

The ability to germinate depended on nutrient media composition for explants preparing before encapsulation and variety’s peculiarities. Encapsulated shoot apices of strawberry variety ‘Pokahontas’ cultivated on nutrient media with sucrose concentration 6% and relatively low cytokinin content stored at the temperature +2...+4° C during 30 days germinated in the soil on 56,8%. The percentage of germinated “artificial seeds” of the same variety from the nutrient media with paclobutrazol was only 43, 2. Explants of variety ‘Divnaya’ from the similar nutrient media gave 76,75 of germinated “artificial seeds” in the soil.

The prolongation of the storage term of capsules could be ensured by means of the substances inhibiting explants growth (abscisic acid, paclobutrazol etc.), explants preparing before encapsulation on the nutrient media with sucrose concentration 6% and low 6-benzylaminopurine content (0,2 mg/l). Promising technique could be double encapsulation for increasing of alginate coat durability and reducing of water lost.

ОСОБЕННОСТЬ ДЕЙСТВИЯ ЭНДОФИТНОГО ШТАММА *BACILLUS SUBTILIS*, КАК ОСНОВЫ БИОФУНГИЦИДА, НА РАСТЕНИЯ ПШЕНИЦЫ

Курамшина З.М.¹, Смирнова Ю.В.¹, Андреева И.Г.¹, Гареева Л.Ф.¹, Хайруллин Р.М.²

¹Стерлитамакская государственная педагогическая академия, Стерлитамак, Россия,

E-mail: kuramshina_zilya@mail.ru;

²Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа, Россия, E-mail: khram@ufanet.ru

Одними из эффективных биоагентов для создания препаратов, повышающих продуктивность и устойчивость сельскохозяйственных культур, могут быть эндофитные штаммы бактерий *Bacillus subtilis*, обитающие во внутренних тканях растения и способные стимулировать рост растений. Кроме того, эндофиты могут выполнять важную роль в обеспечении устойчивости растений к болезням и различным стрессовым факторам. В ряде работ было показано, что эндофитные штаммы бактерий *B. subtilis* способствуют улучшению азотного и фосфорного питания растения, участвуют в регуляции роста и развития за счет продукции фитогормон-подобных веществ, синтезируют токсины, убивающие насекомых или антибиотики, подавляющие развитие грибов. Однако, несмотря на многочисленность исследований в этом направлении, недостаточно изучены механизмы взаимоотношения эндофита с макросимбионтом.

В связи с этим исследовали влияние эндофитного штамма *B. subtilis* 26Д, как основы биопрепарата для защиты растений, на физиолого-биохимические процессы растительных клеток пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Показано, что инокуляция растений спорами бактерий повышает активность ферментов системы антиоксидантной защиты (пероксидазы и каталазы) и уменьшение концентрации продуктов перекисного окисления липидов в побегах пшеницы. Возможно, растения, обработанные клетками бактерий, в результате быстрой мобилизации ферментов проявляют большую устойчивость к окислительному стрессу, вызванному различными факторами. Бактерии *B. subtilis* 26Д оказывали влияние не только на рост и ферментативную активность растений, но и приводили к изменению численности прикорневой микрофлоры. Выявлено, что в корневой системе пшеницы под действием бактерий уменьшается содержание арбускулярных микоризных грибов. Не исключено, что, вырабатывая широкий спектр антибиотиков и/или фунгистатичных ферментов, эндофит подавляет рост не только фитопатогенных грибов, но также и полезную микрофлору.

THE PECULIARITY OF THE EFFECT OF THE ENDOPHYTIC STRAIN *BACILLUS SUBTILIS* AS THE BASIS OF BIOFUNGICIDE ON *TRITICUM AESTIVUM* L

Kuramshina Z.M.¹, Smirnova J.V.¹, Andreyeva I. G.¹, Gareyeva L.F.¹, Khairullin R. M.²

¹Sterlitamak State Teacher Training Academy, Russia,

E-mail: khram@ufanet.ru

²The Institute of Biochemistry and Genetics of Ufa Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia,

E-mail: khram@ufanet.ru

One of the most effective bioagents for creation of the preparations raising productivity and resistance of agricultural crops, can be endophytic strains of the bacteria *Bacillus subtilis*.

These bacteria, living in internal plants tissue, are capable to stimulate growth of plants.

Besides, endophytes can play an important role to provide plant persistence to disease and to different

stress factors. A number of studies have shown that endophytic bacterial strains *B. subtilis* contribute to the improvement of nitrogen and phosphorus nutrition of plants, are involved in the regulation of growth and development through the production of phytohormone-like substances, synthesize toxins that kill insects or antibiotics that inhibit the development of fungi. However, despite numerous researches in this field, the mechanisms of the endophyte and macrosymbiont interrelations have not been thoroughly researched.

We have investigated the influence of endophytic strain *B. subtilis* 26D, as the basis of biological preparation for plant protection on physiological and biochemical processes in wheat (*Triticum aestivum* L.) cells. It has been shown that inoculation of plant with bacterial spores increases the activity of the antioxidant protective system enzymes (peroxidase and catalase) and reduced the concentration of lipid peroxidation products in the wheat shoots.

Perhaps the plants treated with bacterial cells, resulting in rapid mobilization of enzymes are more resistant to oxidative stress caused by various factors. The bacteria *B. subtilis* 26D influenced not only by growth and enzymatic activity of plants, but also led to a changes in the number of basal microflora. It has been found that arbuscular mycorrhizal fungi content in the root system of wheat reduced under the action of bacteria. Perhaps, endophyte producing a wide range of antibiotics and/or fungistal enzymes inhibits the growth of not only pathogenic fungi, but also beneficial microflora.

СТРАТЕГИЯ БИОКОНТРОЛЯ ЧИСЛЕННОСТИ ТУТОВОЙ ОГНЕВКИ *GLYPHODES PYLOALIS* WLK

Мадьяров Ш.Р.

Институт зоологии Академии наук Республики Узбекистан

1, ул. Ниязова, Ташкент, 100095, Узбекистан. E-mail: shuhm@yandex.ru

Тутовая огневка *Glyphodes pyloalis* Walker – опасный вредитель шелковицы, прогрессирующий во всем мире, поражая листья шелковицы, снижает процессы фотосинтеза, ослабляет растение и, в конечном счете, ведет к его гибели. Это, в первую очередь, негативно сказывается на кормовой базе шелководства.

Вторичными факторами вредоносности инвазии вредителя являются гусеницы тутовой огневки, пораженные энтомофагами и патогенами, попадающими вместе с кормом в червоводни. Они могут вызывать дополнительные потери в шелководческой отрасли. Например, бракон (*Bracon hebetor* Say) является хозяином, как тутовой огневки, так и тутового шелкопряда. Точно также эндогенный вирус тутовой огневки идентичен вирусу денсонуклеоза и вирусу инфекционной фляшерии тутового шелкопряда. С другой стороны, массированная борьба с вредителем химическими инсектицидами в большей степени поражает энтомофагов, чем целевое насекомое, вызывая еще большее размножение тутовой огневки, а в целом, наносит вред не только тутоводству, но и хлопководству.

В связи с вышеизложенными проблемами целенаправленный и безопасный контроль тутовой огневки представляет собой непростую задачу, важную не только теоретически, но и сугубо практически.

Решением проблем в создавшейся ситуации является восстановление былого уровня полезных насекомых на обочине хлопковых полей с зараженными линейными насаждениями шелковицы. Практическими мерами в борьбе с тутовой огневкой должны стать: снижение использования химических инсектицидов, поражающих полезную энтомофауну, применение биологических агентов борьбы, производимых на биофабриках - бракона и златоглазки, а также создание условий для привлечения и размножения других активных энтомофагов тутовой огневки: коровок, пауков, муравьев, шмелей, ос и др. перепончатокрылых и некоторых двукрылых.

Весомой альтернативой химическим инсектицидам могут стать бакуловирусные препараты -

дикие и рекомбинантные с групповой специфичностью, например, *Autographa californica* и *Mamestra brassicae*, а также некоторые бактериальные, грибные и нематодные препараты, используемые после сезонного кормления в шелководстве с тем условием, что вирулентность используемых штаммов под действием биотической и абиотической среды полностью исчезнет до следующего сезона червокормления. Возможно их применение совместно с препаратами «ботаническими» инсектицидами, а также «щадящей химии», механизм действия которых безопасен для теплокровных животных. При этом немаловажны вопросы экономного, тонкодисперсного и всепроникающего внесения препаратов в зараженные зоны растений.

Для искоренения вредителя необходимо использовать тотальные истребительные мероприятия, особенно после холодных зим.

STRATEGY OF MULBERRY PYRALID *GLYPHODES PYLOALIS* WLK BIOCONTROL

Madyarov Sh.R.

Institute of Zoology, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan

1, Niyazob Str., Tashkent. 100095, Uzbekistan, E-mail: shuhm@yandex.ru

Mulberry pyralid *Glyphodes pyloalis* Wlk. is serious mulberry pest progressing all over the world, affecting mulberry plantings. It reduces photosynthesis processes, weakens a plant and finally leads to its death. It, first of all, negatively affects nutritive base of sericulture.

Mulberry pyralid larvae affected by entomophages and pathogens getting together with feed in silkworm larvae rearing rooms are secondary factors of pest invasion damage. They can cause the additional losses in sericulture branch. For example bracon (*Bracon hebetor* Say) is a host both for mulberry pyralid and mulberry silkworm. Precisely also endogenic virus of mulberry pyralid is identical to a virus of denonucleosis and to mulberry silkworm infectious flasheria virus. On the other hand massed pest control by chemical insecticides in the bigger degree affects entomophages rather than target insect, causing stronger propagation of mulberry pyralid and as a whole does harm both mulberry plantings and cotton growing.

So, goal-directed and safe control of mulberry pyralid is complicated problem, important both theoretically and also especially practically.

In connection with the problems set forth above the purposeful and safe control of mulberry pyralid represents an uneasy problem important not only theoretically but also especially practically.

The solution of problems in the created situation is restoration of former level of useful insects at a roadside of cotton fields with the infected linear mulberry plantings. Practical measures in mulberry pyralid control should become: decrease in use of chemical insecticides affecting useful entomofauna, use of biological agents of the control produced at biofactories - bracon and golden-eyed lacewings and also creation of conditions for attraction and propagation of other active mulberry pyralid entomophages: ladybirds, spiders, ants, bumblebees, wasps and other hymenopterans and some dipterans.

Powerful alternative to chemical insecticides could be baculoviral preparations – wild and recombinant with group specificity, for example *Autographa californica* and also some bacterial, fungal and nematode preparations used after feeding season in sericulture on condition that virulence of used strain affected by biotic and abiotic factors will completely disappear till a following season of silkworm feeding. Their use together with preparations of “botanical” insecticides and also «sparing chemistry» which mechanism of action is safe for warm-blooded animals is possible. Thus questions of economical, fine dispersed and pervasive applying of preparations into the infected zones of plants are very important.

For full liquidation of the pest it is necessary to use total destructive actions especially after cold winters.

ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА БЕЛКОВЫХ ГИДРОЛИЗАТОВ ИЗ МЕСТНОГО СЫРЬЯ

¹Мадьяров Ш.Р., ²Усманов П.Б., ²Ташмухамедов Б.А.

¹Институт зоологии АН РУз, Ташкент. E-mail: shuhm@yandex.ru

²Институт физиологии и биофизики АН РУз, Ташкент, Узбекистан

Белковые гидролизаты широко используются для парентерального питания, в коррекции неполноценного белкового питания, в медицинском безаллергенном питании, в микробиологии, в качестве полифункциональных лечебных и профилактических средств, иммуномодулирующих компонентов в БАДах, антиоксидантов, вкусовых добавок, в косметике и для др. целей.

В настоящем исследовании апробирован ряд потенциальных белковых продуктов, отходов сельского хозяйства и пищевой промышленности. Среди них не утилизируемая у нас в настоящее время кровь сельхоз. животных и её компоненты, желатин, молочная сыворотка, хлебопекарные дрожжи, белки хлопкового и соевого шротов, фиброин и серицин шелка и другие белковые материалы и отходы, решая в то же время проблемы безотходности.

В работе использовали химические и ферментативные методы, а также автолиз белковых продуктов. Для повышения эффективности кислотного или щелочного гидролиза использовали избыточное давление в среде, предупреждающей окисление и деструкцию продуктов гидролиза. После гидролиза среду охлаждали, не допуская разбавления, нейтрализовали и упаривали. Фракционирование, анализ и характеристику продуктов гидролиза осуществляли ультрафильтрацией, диализом, гелепроникающей хроматографией, бумажной и тонкослойной хроматографией, а также спектрофотометрически.

В результате исследования, используя ранее усовершенствованный метод гидролиза белков натурального шелка, были найдены оптимальные условия для эффективного гидролиза изученных белковых материалов растительного и животного происхождения до получения смеси продуктов (пептидов и аминокислот), обладающих биологическим действием. Показано также, что гидролиз в условиях, близких к физиологическим, с использованием автолиза и (или) ферментов дает более высокий выход нативных продуктов.

Полученные продукты гидролиза были сравнены по физико-химическим свойствам с аналогичными препаратами российского (автолизат пекарских дрожжей «Александрина») и препаратами гидролизатов фиброина шелка китайского и южно-корейского производства, а также с другими коммерческими препаратами белковых гидролизатов. Полученные по предлагаемому методу гидролизаты белков не уступали по свойствам зарубежным аналогам. Например, гидролизаты фиброина, полученные в настоящей работе, не требовали дополнительной очистки. Эти и другие охарактеризованные гидролизаты в настоящее время апробируются в составах искусственных питательных сред в качестве биостимуляторов развития и продуктивности в биотехнологии насекомых и биоинсектицидов последнего поколения.

OBTAINING AND CHARACTERIZATION OF PROTEIN HYDROLYSATES FROM LOCAL RAW MATERIALS

¹Madyarov Sh.R., ²Usmanov P.B., ²Tashmukhamedov B.A.

¹Institute of Zoology. Uzbek Academy of Sciences. 1, Niyazov Str., Tashkent, 700095, Uzbekistan, E-mail: shuhm@yandex.ru

²Institute to Physiology and Biophysicists. Uzbek Academy of Sciences. Tashkent, Uzbekistan.

Protein hydrolysates are broadly used for parenteral feeding, for correction of incomplete protein and allergen-free feeding, as well as in microbiology, as polyfunctional medical and preventive remedies, as immunomodulatory components in biologically-active additives, antioxidants, flavor additives, in cosmetics and for others purposes.

The some of potential protein products, wastes of agriculture and food industry are tested in present study. Among them are: nonutilizable at present blood of agricultural animals and its components, gelatin, lacto serum, baker's yeast, proteins of cotton's and soya cake, silk fibroin and sericin and other protein materials and waste. Simultaneously we solved a problem of wastelessness.

In the work we used chemical and enzymatic methods, as well as autolysis of protein products. For increasing of efficiency of acidic or alkaline hydrolysis we used the surplus pressure in the media, preventing oxidation and destruction of hydrolysis products. Then the hydrolysates was cooled down, neutralized and evaporated.

Fractionation, analysis and specification of hydrolysis products were realized by ultra-filtration, dialysis, gel-permeation chromatography, paper and thin-layer chromatography, as well as by spectrophotometry.

As a result of the study, using earlier improved method of natural silk proteins hydrolysis we have found optimal conditions for efficient hydrolysis of studied protein materials of vegetable and animal origin to obtain products mixture (peptides and amino acids) with biological effect. It is shown also that hydrolysis in close to physiological conditions, with use of autolysis and (or) enzymes gives higher output of native products.

The obtained products of hydrolysis were compared by physico-chemical characteristics with similar Russian preparations (baker's yeast autolysate "Alexandrina") and with Chinese and South Korean preparations of silk fibroin hydrolysates, as well as with other commercial preparations of protein hydrolysates. Protein hydrolysates obtained by proposed method did not yield to foreign analogues by its characteristics. For example, fibroin hydrolysates obtained in the present work did not require the additional purification. At present these and other characterized hydrolysates are tested in composition of artificial diets as biostimulator of development and productivity in biotechnology of insects and biopesticides of last generation.

ИЗУЧЕНИЕ СВЯЗЫВАНИЯ ЛИПИД-ТРАНСПОРТИРУЮЩЕГО БЕЛКА ЧЕЧЕВИЦЫ С ЛИПИДАМИ

**Мельникова Д.Н., Финкина Е.И., Болдырев И.А.,
Стукачева Е.А., Водовозова Е.Л., Овчинникова Т.В.**

*Учреждение Российской академии наук Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10*

Разнообразные функции, которые липид-транспортующие белки выполняют в растениях, во многом обусловлены их способностью связывать и переносить липиды. Изучение связывания липид-транспортующего белка чечевицы *Lens culinaris* Lc-LTP2 с липидами было проведено с использованием его рекомбинантного аналога.

Наличие в структуре белка двух остатков тирозина позволило провести исследование связывания с лауриновой (C12), пальмитиновой (C16) и стеариновой (C18) кислотами по изменению интенсивности его флуоресценции. Было установлено, что эффективность связывания зависит от длины цепи насыщенной жирной кислоты. В частности, Lc-LTP2 с наибольшей аффинностью связывает стеариновую кислоту, а с лауриновой практически не взаимодействует. Рассчитанное число сайтов связывания для стеариновой и пальмитиновой кислот (1,9 и 1,7, соответственно) позволяет предположить, что две молекулы липида могут размещаться в гидрофобной впадине белка.

Исследование взаимодействия Lc-LTP2 с мембранными липидами было проведено с использованием нитроцеллюлозной мембраны Membrane Lipid Strips™ (Echelon), на которую были нанесены фосфолипиды, в том числе фосфоинозитиды, холестерин, ди- и триацилглицерины, 3-сульфогалактозилцерамид. Детекцию связавшегося с липидами белка осуществляли иммунохимической реакцией с использованием поликлональных антител к Lc-LTP2 с последующим проявлением комплекса методом хемилюминесценции. Было показано, что Lc-LTP2 специфически связывается с фосфатидилинозит-4,5-бисфосфатом, который является компонентом плазматической мембраны и фосфатидилинозитольной сигнальной системы растений.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы (проект НК-602П/19, госконтракт П1159).

STUDY OF THE BINDING OF LENTIL LIPID TRANSFER PROTEIN WITH LIPIDS

**Melnikova D.N., Finkina E.I., Boldyrev I.A.,
Stukacheva E.A., Vodovozova E.L., Ovchinnikova T.V.**

Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Miklukho-Maklaya str., 16/10, 117997 Moscow, Russia

A variety of functions of plant lipid transfer proteins is due to their ability to bind and transfer lipids. Study of the binding of the lentil *Lens culinaris* Lc-LTP2 with lipids was carried out using its recombinant analogue.

The presence of two tyrosine residues in the protein structure allowed to study the Lc-LTP2 binding with lauric (C12), palmitic (C16) and stearic (C18) acids by fluorescence measurement. It was found that the efficiency of the binding depends on the chain length of saturated fatty acids. Lc-LTP2 binds stearic

acid with the highest affinity, but practically does not interact with lauric acid. The calculated number of binding sites for stearic or palmitic acids (1,9 and 1,7, respectively) suggests that two lipid molecules can take place within the hydrophobic cavity of the protein.

Study of the Lc-LTP2 binding with different membrane lipids was carried out using nitrocellulose membrane Membrane Lipid Strips™ (Echelon), spotted with phospholipids, including phosphoinositides, cholesterol, di- and triacylglycerols, 3-sulfogalactosylceramide. Identification of a lipid-bound protein was performed by using immunochemical reaction with polyclonal anti-Lc-LTP2 antibodies. It was shown that Lc-LTP2 specifically binds to phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate, which is a component of the plasma membrane and phosphatidylinositol signaling system in plants.

This work was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation within the FTP “Scientific and Scientific-Pedagogical Personnel of the Innovative Russia in 2009-2013” (project NK-602P/19, government contract P1159).

НОВЫЙ ЛИПИД-ТРАНСПОРТИРУЮЩИЙ БЕЛОК ИЗ ПЛОДОВ *CITRUS NATSUDAIDAI*

Павлова Л.Е.^{1,2}, Мельникова Д.Н.¹, Финкина Е.И.¹,
Баландин С.В.¹, Рыбалко А.Е.², Овчинникова Т.В.¹

¹Учреждение Российской академии наук Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10.

²Сочинский институт ГОУ ВПО Российский университет дружбы народов, 354348, г. Сочи, ул. Куйбышева, 32.

Липид-транспортирующие белки (ЛТР) высших растений – семейство мультифункциональных белков, которые, в частности, могут принимать участие в формировании кутина, эмбриогенезе, защитных реакциях против фитопатогенов и адаптации организма к различным условиям окружающей среды. К настоящему времени ЛТР выделены из различных видов растений. В соответствии с молекулярной массой белки данной группы подразделяются на два подкласса: LTP1 (около 9 кДа) и LTP2 (около 7 кДа). Целью данной работы является поиск и выделение ЛТР из плодов *Citrus natsudaiddai*.

Для определения нуклеотидных последовательностей, кодирующих ЛТР из *Citrus natsudaiddai*, суммарную РНК получали из альbedo (мезокарпия) плодов. Поиск последовательностей, кодирующих ЛТР, осуществляли с помощью быстрой амплификации концов кДНК (RACE). Структура вырожденных ген-специфических праймеров была выбрана на основании данных по гомологии нуклеотидных последовательностей, кодирующих ЛТР из других видов цитрусовых плодовых культур. Продукты RACE клонировали в Т-векторе, используя для наработки плазмиды клетки штамма *E. coli* DH-10B, и секвенировали. Поиск в базах данных по нуклеотидным последовательностям с помощью программы BLAST выявил гомологию установленных последовательностей со структурами ряда представителей подкласса LTP1.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы (проект НК-602П/19, госконтракт П1159).

A NOVEL LIPID-TRANSFER PROTEIN FROM FRUITS OF *CITRUS NATSUDAIDAI*

Pavlova L.E.^{1,2}, Melnikova D.N.¹, Finkina E.I.¹, Balandin S.V.¹, Rybalko A.E.², Ovchinnikova T.V.¹

¹Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Miklukho-Maklaya str., 16/10, 117997 Moscow, Russia.

²Sochi Institute of Peoples' Friendship University of Russia, Kuibysheva str., 32, 354348 Sochi, Russia.

Plant lipid transfer proteins (LTPs) are a family of multifunctional proteins which may be involved in the cutin formation, somatic embryogenesis, defense reactions against phytopathogens and the plant adaptation to various environmental conditions. LTPs have been isolated from different plant species. LTPs are divided into two subclasses according to their molecular masses: LTP1s (9 kDa) and LTP2s (7 kDa). The purpose of this study is to search and isolate LTP from fruits of *Citrus natsudaikai*.

To determine the nucleotide sequences encoding *Citrus natsudaikai* LTPs total RNA was purified from the albedo (mesocarp) of the fruit. Rapid amplification of cDNA ends (RACE) was used to discover the sequences of interest. Degenerate gene-specific primers were designed on the basis of nucleotide sequence homology between LTPs from other citrus species. RACE products were cloned into T-vector, using *E. coli* strain DH-10B cells for plasmid production, and sequenced. BLAST search in the nucleic acid databases revealed homology of the sequences of several representatives of the LTP1s subclass.

This work was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation within the FTP "Scientific and Scientific-Pedagogical Personnel of the Innovative Russia in 2009-2013" (project NK-602P/19, government contract P1159).

СОЗДАНИЕ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ОСИНЫ *POPULUS TREMULA* С ГЕНОМ КСИЛОГЛЮКОНАЗЫ XEG1 И ИНВЕРТИРОВАННЫМИ ПОВТОРАМИ ГЕНА 4-КУМАРАТ СОА ЛИГАЗЫ

А.С.Подрезов,^{1,2} К.А.Шестибратов¹

¹ Филиал Учреждения Российской академии наук Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пущино;

² Пушчинский Государственный Университет, Пущино.

В настоящее время метод генетической модификации свойств растений путем агробактериальной трансформации, в силу ряда преимуществ, является перспективной альтернативой традиционным способам селекции лесных пород. Метод позволяет за короткие сроки получить новые формы растений с заданными признаками.

В результате агробактериальная трансформация штаммом *Agrobacterium tumefaciens* CBE21, с бинарным вектором pBI-4CL получено 12 канамицин-устойчивых линий (Pt XIII 4CL 1a - Pt XIII 4CL 4c). ПЦР-анализ данных линий показал наличие гена канамицин-фосфотрансферазы nptII и фрагмент гена 4CL. Анализ продуктов показал, что все линии содержат целевые фрагменты.

Встраиваемая экспрессионная кассета содержит инвертированные повторы гена 4CL длиной 199 пар оснований. Экспрессия данной конструкции приводит к ингибированию экспрессии гена 4-кумарат СоА лигазы, участвующего в биосинтезе лигнинов. В настоящее время проводится анализ свойств лигнин-целлюлозы и ростовых показателей данных линий.

Также были получены 18 регенерировавших линий осины после агробактериальной трансформации конструкцией, содержащей ген ксилоглюконазы под управлением вирусного 35S промотора, а также селективный ген nptII. ПЦР-анализ с праймерами к гену nptII показал наличие

вставки в 11 линиях. В дальнейшем планируется проверка наличия целевого гена ксилотрансферазы, а также тепличные испытания и исследования состава целлюлозы.

Полученные растения с улучшенными свойствами будут рассматриваться как предпочтительное сырье для целлюлозно-бумажной промышленности и лесной биоэнергетики.

THE CREATION OF ASPEN (*POPULUS TREMULA*) TRANSGENIC PLANTS CONTAINING XYLOGLUCONASE GENE XEG1 AND INVERTED REPEATS OF 4-COUMARATE:COENZYME A LIGASE GENE

A.S.Podrezov,^{1,2} K.A.Schestibratov¹

¹ Branch of Shemyakin and Ovchinnikov institute of bioorganic chemistry

Russian Academy of Sciences, Pushchino;

² Pushchino State University, Pushchino.

At present the genetic modification of plant properties method by agrobacterial transformation seems to be promising alternative to traditional breeding means. This method gives the possibility to obtain new plants with specified properties very fast.

Agrobacterial transformation was carried out with *Agrobacterium tumefaciens* CBE21 strain, containing recombinant plasmid pBI-4CL. 12 lines of kanamycin-resistant regenerated plants Pt XIII 4CL 1a - Pt XIII 4CL 4c were obtained. To confirm the presence of transgene in obtained lines we have carried out PCR with primers for amplification of transferred construction containing neomycin phosphotransferase gene and 4CL gene inverted fragments. The analysis of products revealed that all lines contained target fragments.

Integrated expression cassette contains inverted repeats of 4CL gene, 199bp in length. Expression of this construction leads to inhibition of expression of 4-coumarate:coenzyme A ligase gene, which participates in lignin biosynthesis. At present the analyses of lignin-cellulose property and grow rate of these lines are carried out.

It were also obtained 18 regenerated lines of aspen after agrobacterial transformation with construct, which contained both xylogluconase gene under control of virus 35S promoter and selective gene nptII. PCR-test with primers for amplification nptII gene showed presence of transgene in 11 lines. In future we will have check of Xeg gene presence, study in greenhouse and analyse of cellulose content.

The obtained plants with improved properties can be considered as preferable feed stock to pulp-and-paper and forest bioenergy.

ТРАНСГЕННЫЕ РАСТЕНИЯ КАРТОФЕЛЯ, НЕСУЩИЕ ГЕН ДЕСАТУРАЗЫ ЖИРНЫХ КИСЛОТ, И ИХ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Прядехина Е.В.¹, Юрьева Н.О., Лапшин П.В., Нечаева Т.Л., Загоскина Н.В.

¹Российский государственный аграрный университет – МСХА,

127550 Москва, Тимирязевская ул., 49;

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН,

127276 Москва, Ботаническая ул., 35

Картофель является важнейшей сельскохозяйственной культурой России. Для получения его новых сортов используются не только традиционные методы селекции, но и генно-инженерные подходы, вклад которых в последние годы значительное возрос. Повышения устойчивости фотосинтезирующих организмов к воздействию неблагоприятных факторов, в том числе и низким температурам, можно достичь введением генов десатураз жирных кислот.

Целью работы являлось сравнение морфо-физиологических и биохимических характеристик культивируемых в условиях *in vitro* растений картофеля (*Solanum tuberosum* L.) раннеспелого сорта Скороплодный, а также полученной из него трансгенной линии, несущей ген десатуразы (*desA*) из термофильной цианобактерии *Synechocystis* sp.

Растения культивировали при 23°C и 16-часовом фотопериоде на агаризованной питательной среде MS, содержащей 2% сахарозы и витамины. Последовательность введенного в них гена десатуразы была трансляционно слита с последовательностью репортерного гена *lucBM3*, кодирующего термостабильную лихеназу. Трансгенный статус линий был подтвержден с помощью метода ПЦР и определения активности лихеназы. У 35-дневных растений измеряли высоту, число междоузлий, а также определяли содержание фотосинтетических пигментов (хлорофилла *a* и *b*), фенольных соединений (ФС) и флавоноидов (ФЛ) в листьях.

Установили, что трансгенные растения картофеля имели лучшие фенотипические характеристики (рост, число междоузлий, площадь листьев), а также более высокое содержание фотосинтетических пигментов, ФС и ФЛ в листьях, по сравнению с контрольными растениями.

TRANSGENIC POTATO PLANTS, COMPRISING THE GENE OF FATTY ACID DESATURASE, AND THEIR PHYSICALLY-BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS

Pryadehina E.V.¹, Yuorieva N.O., Lapshin P.V., Nechaeva T.L., Zagoskina N.V.

¹Russian State Agrarian University – Moscow Agricultural Academy,

Timiryazevskaya st. 49, Moscow, 127550 Russia

Plant Physiology Institute by K.A. Timiryazev RScA,

Botanicheskaya str. 35, Moscow, 127276 Russia

Potato is the most important crop in Russia. To obtain new potato cultivars, besides conventional breeding methods some gene-engineering approaches are used. The contribution of the last ones has increased recently. Improved tolerance of photosynthesizing organisms to the influence of some unfavourable factors, including low temperatures, can be achieved by means of introduction of the genes encoding fatty acid desaturases.

The subject of our investigation was to compare the morpho-physiological characteristics of the intact cv. Skoroplodny plants with its transgenic lines comprising *desA* gene when they were growing *in vitro*.

Several transgenic potato lines were obtained for early maturing cv. Skoroplodny using agrobacterial

vector harbouring the target *desA* gene from *Synechocystis* sp., reporter *LicB* gene from *Clostridium thermocellum* and *NPT* one. All the plants grew at +23°C and 16-hour photoperiod on the solid MS medium supplemented with 2% sucrose and vitamins. The transgenic status of these lines was confirmed by both PCR analysis and *Lichenase* activity test. The plant length, internode number, leaf area, the content of photosynthetic pigments (chlorophyll *a* and *b*), phenolic compounds (PhC) and leaf flavonoids (FL) were determined in 35-day old aseptic plants.

It was found out that the transgenic plants had better phenotypic characteristics (such as growth, internode number, leaf area). Also, they were characterized by the higher photosynthetic pigment content, PhC and FL comparing with the control plants.

CLONING AND IDENTIFICATION OF PHYSICOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF 1-AMINOCYCLOPROPANE-1-CARBOXYLATE OXIDASE1 GENE FROM TOMATO (*LYCOPERSICON ESCULENTUM* L. CV, MEMORY I)

Raheem Haddad, Zohreh jafari

Department of Agricultural Biotechnology, Faculty of Engineering & Technology, Imam Khomeini International University, Qazvin, IR of Iran;

E-mail: raheemhaddad@yahoo.co.uk; Tel: (+98) 281 837 1165, Fax: (+98) 281 378 0073

Total RNA was extracted from fruit tissue of tomato (*Lycopersicon esculentum* L. cv, Memory I) to clone 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) oxidase (*ACO*) cDNA. *LeACO1* gene was amplified by polymerase chain reaction technique. The PCR product was cloned into a pUC19 vector plasmid and also was transferred into competent *E. coli*, strain DH5α. Next, recombinant plasmids were confirmed via 3 different molecular analysis including of digestion, PCR amplification and DNA sequencing. The nucleotide sequence analysis indicated that *LeACO1* gene has 99% similarity with one of the nucleotides recorded on the NCBI GenBank. Analyses of amino acid sequence using Blast and ClustalW software, meanwhile determination of active site of enzyme, exhibited a high level of identity with more than 10 species recorded on the NCBI GenBank. *ACO1* amino acid sequence studies in tomato and other plant indicated that Arg-X-Ser and His-X-Asp-X-His motifs play a role in binding Fe²⁺ cofactor and ascorbate co-substrate. Secondary structure studies indicated that the main chain of the *LeACO1* contains eleven α helices, thirteen β strands and two disulfide bonds. Enzyme subcellular localization analysis illustrated that *ACO* proteins are localized within the cytoplasm.

Keyword: Cloning, Ethylene, Tomato, ACC oxidase.

ANALYSIS OF EXON-INTRON ORGANIZATION IN *H*-TYPE THIOREDOXIN GENES OF GRAPE (*VITIS VINIFERA* L. CV. ASKARI)

Raheem Haddad, Reza Heidari Japelaghi and Ghasem-Ali Garoosi

Department of Agricultural Biotechnology, Faculty of Engineering & Technology, Imam Khomeini International University, Qazvin, IR of Iran;

E-mail: raheemhaddad@yahoo.co.uk; Tel: (+98) 281 837 1165, Fax: (+98) 281 378 0073

The position of introns in a grape *h*-type Trx gene, called VvCxxS2, was cloned and then analyzed and compared with other grape Trx *h* genes and also Trx genes from other organism. Nucleotide sequence analysis of DNA genomic fragment of VvCxxS2 revealed that it possesses two introns at positions identical to the previously sequenced Trx *h* genes. The exon-intron junctions obey the rule GT-AG and, as in higher plant genes, the introns were relatively AT rich compared with the coding regions. VvTrx *h*1 and *h*2 genes were illustrated far larger introns than VvCxxS2 and other grape Trxs *h*. Also, in comparison to VvCxxS1, VvTrx *h*1, *h*2 and VvCxxS2 intron 1 was larger than intron 2. Moreover, VvTrx *h*3 and *h*4 contain two introns with the similar size. The intron position analysis in the *Saccharomyces cerevisiae*, *Chlamydomonas reinhardtii* and human Trx genes revealed that *S. cerevisiae* Trx gene was not contain any introns, whereas the Trx genes of the *C. reinhardtii* and human harbor three and four introns, respectively. In *Chlamydomonas* Trx *h*1 gene, the first and third introns coincide with the two introns of grape *h*-type Trx genes and higher plant Trxs *h*. Interestingly, the third intron of human Trx gene is located at the same position as the second intron of grape *h*-type Trx genes and plant Trxs *h*.

Keywords: Grape, Thioredoxin *h*, Intron position, Exon.

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НАНОКОМПОЗИТОВ, ИЗГОТОВЛЕННЫХ ИЗ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОТХОДОВ, В КУЛЬТУРЕ ИЗОЛИРОВАННЫХ ЗАРОДЫШЕЙ ЯЧМЕНЯ

Шестопалова Н.С.¹, Зобова Н.В.²

¹Сибирский федеральный университет, Россия, г. Красноярск, 660041, пр. Свободный, 79;

²ГНУ Красноярский НИИСХ Россельхозакадемии, Россия, г. Красноярск, 660041, пр. Свободный, 66, e-mail: scentr@pisem.net

В работе определяли биологическую активность наноконпозитов, полученных из растительного сырья в Институте химии твердого тела и механохимии СО РАН методом механохимической обработки, с целью поиска эффективных способов их применения в биотехнологии. Изучали четыре наноконпозита из коры лиственницы (КЛ), лапок пихты (МПН) и шелухи риса (ШРС, ШР-08).

В экспериментах использовали два сорта ярового ячменя: Красноярский 80 (селекции Красноярского НИИСХ) и Ача (созданный в СибНИИРС), среду с основой Мурасиге–Скуга с добавлением синтетического ауксина (2,4-Д - 1,5 мг/л) для индукции каллусогенеза, зрелые и не зрелые зародыши. Контрольная среда не имела добавок, а селективная содержала наноконпозиты. Культивирование зародышей проводили в один этап, учитывали уровень каллусогенеза, стеблегенеза, ризогенеза.

Наноконпозит МПН в культуре зрелых зародышей активировал морфогенез, но по сравнению с КЛ менее выражено. Присутствие наноконпозита из КЛ в культуре незрелых зародышей практически не сказывалось на процессе каллусогенеза, но достоверно стимулировало побегообразование у обоих сортов, а у сорта Красноярский 80 - ризогенез и более высокий уровень морфогенеза по

сравнению с сортом Ача. Наноккомпозиты из шелухи риса в культуре незрелых зародышей в 2 раза активнее индуцировали каллусогенез у сорта Красноярский 80 и стеблегенез у обоих сортов, а на индукцию каллусов у сорта Ача не влияли. Стеблегенез в присутствии ШР-08 был более высоким по сравнению с ШРС.

Таким образом, наноккомпозиты, полученные из отходов переработки древесных растений и риса, оказывали сходное, но сортоспецифичное влияние на процессы морфогенеза в культуре изолированных зародышей, подобное действию цитокининов, что предполагает направление их дальнейшего использования.

BIOLOGICAL ACTIVITY INVESTIGATION OF PRODUCED FROM PLANT WASTES NANOCOMPOSITES IN SEPARATED BARLEY EMBRYOS CULTURE

Shestopalova N.S.¹, Zobova N.V.²

¹*Siberian federal university, Russia, Krasnoyarsk, 660041, Svobodniy prospect, 79*

²*Krasnoyarsk research institute of an agriculture of Russian Academy of Agriculture, Russia, Krasnoyarsk, 660041, Svobodniy prospect, 66, e-mail: scentr@pisem.net*

Biological activity of nanocomposites produced from plant wastes in Institute of Solid State Chemistry and Mechanochemistry SB RAS by mechanochemical degradation have been investigated in the present work to find out effective ways for their application in biotechnology. Four kinds of nanocomposites produced from larch bark (LB), noble fir bough (NFB) and rice husk (RH, RH-08) have been researched.

Two varieties of spring barley, Krasnoyarskiy 80 (selected in Krasnoyarsk research institute of an agriculture) and Acha (created in Siberian research institute of plant growing and selection), Murashige-Skoog medium with addition of synthetic auxin (2,4-D – 1.5 mg/l) for callus induction, mature and immature embryos were used in experiments. Selective medium contained nanocomposites. Medium without any addition was used as a control conditions. Embryo cultivation was conducted in one step. Levels of callus induction, stalk genesis and root genesis were recorded.

NFB nanocomposites activated morphogenesis in the mature embryo culture. But it was not so marked as in experiment with LB. LB didn't influence on callus induction practically, but it significant stimulated stalk genesis of both barley varieties and root genesis of Krasnoyarskiy 80. Higher level of morphogenesis in Krasnoyarskiy 80 culture in comparison with Acha one was detected in the presence of LB. Rice husk nanocomposites increased level of callus induction of Krasnoyarskiy 80 culture twice as many as under control condition in immature embryos culture. Also stalk genesis was higher in both varieties cultures and higher in the presence of RH-08 in medium in comparison with RH containing one. Both rice husk nanocomposites had no significant influence on callus induction of Acha.

So nanocomposites produced from wood and rice wastes exerted similar influence upon morphogenesis in separated embryo culture. The genotype had also much impact on culture response. Influence of nanocomposites upon the embryo culture was like cytokine's one. This fact results the ways of their further application.

ТЕХНОЛОГИЯ СЕЛЕКЦИИ СТРЕССОУСТОЙЧИВЫХ ФОРМ МЯГКОЙ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ В КАЛЛУСНОЙ КУЛЬТУРЕ

Ступко В.Ю.

ГНУ Красноярский научно-исследовательский институт сельского хозяйства

Россельхозакадемии,

Россия, 660041, г. Красноярск, пр. Свободный, 66, e-mail: scentr@pisem.net

Увеличивающееся народонаселение земного шара требует увеличения запасов продовольствия, и всё новые территории, чьё освоение невозможно без создания новых высокоадаптивных сортов вовлекаются в севооборот. Классические методы селекции зачастую не могут выполнить эту задачу в требуемые короткие сроки. Выращивание генномодифицированных растений запрещено в большинстве развитых стран. Альтернативой им пока могут стать методы клеточной селекции *in vitro*, активно разрабатываемые в Красноярском НИИСХ.

Разработана технология создания *in vitro* засухо-, соле- и кислотоустойчивых форм мягкой яровой пшеницы для условий Сибири. В качестве эксплантов используются незрелые зародыши в возрасте 27-28 суток с начала колошения. Для индукции каллусогенеза применяется 2,4-Д в концентрации 1 мг/л, обеспечивающей в условиях среды Мурасиге-Скуга близкую к 100% частоту каллусогенеза. Сформировавшиеся каллусы пассируются на свежую среду того же состава, что позволяет достичь частоты пролиферации около 95%. Подросшие каллусы пересаживаются на среду регенерации, содержащую ИУК и кинетин в соотношении 1:2. Здесь доля каллусов, формирующих органы, составляет 15-25%, а сформировавших полноценные регенеранты – 6-12%. На двух последних этапах для отбора устойчивых клеточных линий в состав сред вводятся селективные агенты: NaCl (0,84%) для имитации засоления, низкая кислотность среды (рН 4,0) или полиэтиленгликоль (18%) для имитации почвенной засухи.

Эффективность технологии подтверждена результатами физиологических лабораторных тестов, проведенных на 3 поколениях линий регенерантов, в которых они показывают значительное превосходство над своими родительскими формами. По результатам двух лет полевых испытаний выделились линии, превосходящие родительский генотип и в условиях оптимального почвенного фона.

CALLUS CULTURE TECHNOLOGY OF SPRING SOFT WHEAT STRESS TOLERANT VARIETIES SELECTION

Stupko V.Ju.

Krasnoyarsk research institute of an agriculture of Russian Academy of Agriculture,

Russia, 660041, Krasnoyarsk, Svobodniy prospect, 66 e-mail: scentr@pisem.net

Earth population is growing and increase of food supply is demanded. New territories which developing is impossible without new high-adaptive crop varieties creation are involved in crop rotation. Classic methods of selection often can't solve this problem in a required short space of time. Genetically modified plants are forbidden to be grown in most part of developed countries in addition. So far the cell selection methods can became an alternative instead them for the moment. This line of investigation is actively developed in Krasnoyarsk research institute of an agriculture.

In vitro creation technology of *Triticum aestivum* drought, salinity and acidity tolerant varieties for Siberian growing conditions have been developed. Immature embryos at the age of 27-28 days since earing beginning are used as explants. The 1 mg/l 2,4-D is used for callus induction and provides it's frequency

up to 100% under Murashige-Skoog medium conditions. Calluses are moved on fresh medium of the same composition which leads in the frequency of callus proliferation up to 95%. Grown calluses are moved to regeneration medium containing IAA and kinetin in ratio 1:2. The quantity of calluses which can generate organs is 15-25% here, and the same which regenerate plants is 6-12%. Selective agents, NaCl (0.84%) for salinity simulation, low medium acidity (pH 4.0) and polyethylene glycol (18%) for drought simulation, are added to medium for tolerant cell lines selection at the two last steps.

Technology efficiency was confirmed by results of physiological laboratory tests conducted on third generation of regenerants. They demonstrated significant superiority over their parental varieties while that tests. Regenerant varieties stood out against their parental genotypes under optimal soil conditions according to results of two year field tests.

СОЗДАНИЕ УСТОЙЧИВЫХ К ПАРШЕ СОРТОВ ЯБЛОНИ ИНТЕНСИВНОГО ТИПА С ПРИМЕНЕНИЕМ МОЛЕКУЛЯРНОЙ СЕЛЕКЦИИ

Супрун И.И., Ушакова Я.В., Ульяновская Е.В.

Северокавказский зональный НИИ садоводства и виноградарства,
г. Краснодар, ул. 40-летия Победы, 39

Одним из главных направлений современной селекции яблони является создание сортов, устойчивых к парше - заболеванию, вызываемому несовершенным грибом, *Venturia inaequalis*. Для идентификации генов устойчивости может быть эффективно использована молекулярная (маркерная) селекция, позволяющая избежать фитопатологического тестирования. Ее использование в сочетании с комплексной фенотипической оценкой селекционных форм позволяет создавать устойчивые к указанному патогену сорта яблони, соответствующие современным требованиям садоводства.

В ходе выполненных исследований проводили ДНК - маркерную идентификацию генов устойчивости яблони к парше *Vf* и *Vm* в сортах и элитных селекционных формах яблони отечественной селекции. Селекционные формы яблони были отобраны по результатам многолетней оценки по комплексу агробиологических признаков. В ходе работы использовали разработанную нами модификацию ЦТАБ-метода экстракции ДНК. ПЦР проводили по общепринятым методикам. Для идентификации гена *Vf* использовали SCAR ДНК-маркер, созданный на участок доминантной аллели гена. Для гена *Vm* использовали косегрегирующий с ним SSR-маркер.

ДНК - маркерный анализ позволил эффективно определить наличие искомым генов у ряда сортов и селекционных форм яблони. Из наиболее перспективных селекционных форм, у которых был выявлен ген *Vf* следует отметить формы, произошедшие из гибридных комбинаций: Редфри х Папировка тетраплоидная Прима х Уэлси тетраплоидный, Прима х Казачка, Прима х Алкмене, Айдаред х Балсгард 0247 Е. Помимо этого выделен ряд элитных селекционных форм с генами *Vf* и *Vm*, у которых наличие данных генов также подтверждено ДНК - маркерным анализом. Для большинства образцов яблони данные о наличии генов устойчивости, полученные по результатам молекулярно - генетического анализа подтверждаются их происхождением - одной из родительских форм является донор гена устойчивости.

Исследования выполнены при поддержке РФФИ и региональных инвесторов (проект №09-04-99139-р_офи).

DEVELOPMENT OF SCAB RESISTANT APPLE CULTIVARS OF INTENSIVE TYPE USING MOLECULAR BREEDING APPROACHES

Suprun I.I., Ushakova Y.V., Ulianovskaya E.V.

North Caucasian Research Institute of Horticulture and Viticulture, Krasnodar, 40 let Pobedy Street, 39

One of the most important directions in the modern apple breeding is the development cultivars, resistant to scab, disease, which caused by *Venturia inaequalis*. Molecular breeding (marker assisted breeding) could be effectively used for identification of scab resistance genes. Using such technology in combination with complex phenotypic estimation can provide creation of scab resistant apple cultivars, suitable for modern gardening.

DNA-analysis of apple cultivars as well as elite breeding forms for scab resistance genes *Vf* and *Vm* identification was conducted during the study. Elite breeding forms were selected according to results of estimation for the complex of agro biological traits during several years. Modified CTAB protocol was used for DNA extraction. PCR was carried out according to standards of the method. For *Vf* gene identification we used intragenic SCAR DNA-marker and for *Vm* gene – SSR marker which co segregates with this gene.

DNA-analysis allowed effectively identify abovementioned genes in the apple cultivars and elite breeding forms. Most perspective breeding forms with *Vf* gene are belong to the following cross combinations: Redfri/Papirovka (4n); Prima/Uelsi (4n), Prima/Kazachka; Prima/Alkmene; Idared/Balsgard. Moreover, presence of both genes was confirmed for the some elite breeding forms during the investigation.

Data of molecular analysis were confirmed by origination of cultivars and forms: one of the parental forms of these accessions is the donor of scab resistance gene.

Investigation was supported by Russian Foundation of Basic Research and regional investors (project № 09-04-99139).

АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ЯБЛОЧНОЙ МЕЗГИ - ПОКАЗАТЕЛЬ КАЧЕСТВА БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО СЫРЬЯ НА ПРИМЕРЕ ЭСТОНИИ И КАЛИНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

Чупахина Н.Ю.¹, Тынутаре Т.², Моор У.², Полтавская Р.Л.³, Мансурова Е.В.¹

¹ФГОУ ВПО «КГТУ» Советский проспект, 1. Калининград 236000, Россия.

²Эстонский Университет Естественных Наук ул. Креутзвальди1; Тарту 51014, Эстония

³БФУ «РГУ им. И. Канта» Университетская ул., 2. Калининград 236040, Россия.

Различные сорта яблок содержат разное количество соединений, обладающих высокой антиоксидантной активностью (АА), поэтому нами была проведена сравнительная оценка суммарной АА пяти сортов яблок, выращиваемых в Эстонии и Калининградской области с целью определения реализации фитоантиоксидантного потенциала сорта, а также с целью сравнения данных, получаемых с использованием двух разных методов исследования

Анализировались яблоки сортов Ветеран, Спартан, Антоновка, Куликовское и Малиновое. Для оценки АА образцов в Эстонии использовали спектрофотометрический DPPH метод, результаты вычисляли как значение EC_{50} /1/. В Калининграде АА определяли на анализаторе «ЦветЯуза-01-АА» по ТУ МЕКВ. 414538.001 на основе стандарта – кверцетина /2/.

В ходе исследований было установлено, что максимальной АА обладала яблочная мезга сортов Малиновое и Куликовское вне зависимости от места сбора. Яблоки тех же сортов демонстрировали высшие свойства при определении спектрофотометрическим (EC_{50} 2,57 и 1,88 мг/мл) и

амперометрическим (1,10 и 1,04 мг/г) методами. Минимальным содержанием антиоксидантов характеризовались яблоки сорта Антоновка: 0,44мг/г и EC_{50} 6,25 мг/мл. Таким образом, можно сказать, что значения показателей АА, полученные с использованием спектрофотометрического и амперометрического методов определения сравнимы между собой.

1. Tõnutare T., Moor U., Mölder K., Põldma P. Fruit composition of organically and conventionally cultivated strawberry 'Polka' Agronomy Research. 2009, 7, 755-760

2. Яшин А.Я., Яшин Я.И. Новый прибор для определения антиоксидантной активности пищевых продуктов, биологически активных добавок, растительных лекарственных экстрактов и напитков // Приборы и автоматизация. – 2004. – № 11. – С. 45–48.

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF APPLE PULP AS AN INDICATOR OF QUALITY OF BIOTECHNOLOGICAL RAW MATERIAL BY THE EXAMPLE OF ESTONIA AND THE KALININGRAD REGION

Tchupakhina N. U.¹, Tõnutare T.², Moor U.², Poltavskaya R.L.³, Mansurova E.V.¹

1 Kaliningrad State Technical University Sovetsky prospect, 1. Kaliningrad 236000, Russia. Natalie-tch@yandex.ru

2Estonian University of Life Sciences Kreutzwaldi str., 1, Eerika C-214, Tartu 51014, Estonia. tonu.tõnutare@gmail.com, ulvi.moor@emu.ee

3Baltic State University "Immanuel Kant State University of Russia" Universitetskaya str., 2. Kaliningrad 236040, Russia. poltavskaya.raya@gmail.com

Different varieties of apples contain different number of compounds with high antioxidant activity (AA). That is why we carried out a comparative assessment of the overall AA of five apple varieties, grown in Estonia and the Kaliningrad region, to identify realization of phyto-antioxidant potential of different varieties, as well as to compare the data obtained while applying two different methods of research.

Apples of Veteran, Spartan, Antonovka, Kulikovsky and Crimson (Malinovoje) varieties were analyzed. In Estonia a spectrophotometric DPPH method was applied to evaluate AA of the samples; the results were calculated as the value of EC_{50} / 1 /. In Kaliningrad AA was estimated using the analyzer "TsvetYauza-01-AA" in accordance with technical specifications MEKV. 414538.001 based on the quercetin standard / 2 /.

The research showed that the apple pulps with the highest AA were Crimson and Kulikovsky varieties, regardless of the place of gathering. Apples of these varieties also showed the highest characteristics while using spectrophotometric (EC_{50} 2,57 and 1.88 mg / ml) and amperometric (1.10 and 1.04 mg / g) methods of determination. Antonovka apples were characterized by the minimum content of antioxidants: 0,44 mg / g and EC_{50} 6,25 mg / ml. Thus, we can say that the AA values obtained using spectrophotometric and amperometric methods of determination are comparable.

1. Tõnutare T., Moor U., Mölder K., Põldma P. Fruit composition of organically and conventionally cultivated strawberry 'Polka' Agronomy Research. 2009, 7, 755-760

2. Yashin A.Y., Yashin Y.I. New device for determination of antioxidant activity of food products, dietary supplements, herbal extracts and beverages // Devices and automation. - 2004. - # 11. - P. 45-48.

МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ ЭНДЕМИКА СЕВЕРНОГО КАВКАЗА *DIANTHUS IMERTICUS* (RUPR.) SCHISCHK

Тохчуков З.З.¹, Рыбалко А.А.²

¹ Сочинский государственный университет туризма и курортного дела, 354350, г. Сочи, ул. Советская, 26-а.

² Сочинский институт Российского университета дружбы народов, 354348, Сочи, ул. Куйбышева, 32

На Северном Кавказе распространено несколько видов семейства *Cariophyllaceae*. Среди них привлекает внимание гвоздика имеретинская (*Dianthus imerticus* (Rupr.) Schischk.). Она произрастает на сухих скальных осыпях. В конце мая наблюдается начало бутонизации, а с июня по октябрь продолжается цветение. Растения образуют семена, которые хорошо прорастают. Этот вид, учитывая его устойчивость в летний период, привлекает наше внимание для использования в озеленении города Сочи, как возможный компонент скальных гор и других ландшафтных конструкций открытых пространств. Вид сокращает численность в результате разрушения местообитаний при освоении территорий, сбора цветущих особей. Исследования по микроразмножению указанного вида не проводились. Известны исследования по микроразмножению некоторых дикорастущих видов гвоздики: *D. arenarius* (J. Kovács, 1995), *D. henteria* (V. Cristea, 2010), *D. superbus* (J. Miculic, 1999), *D. fruticosus* (M. Parafotion, 2009).

В наших исследованиях растения указанного вида размножали на питательной среде Мурасиге-Скуга (1962), содержащей 0.1 мг/л НУК и 1 мг/л БА. В качестве эксплантов использовали части стебля с почкой. При повторных пассажах на этой среде вырастали многочисленные побеги с укороченными междоузлиями. При пересадке на аналогичную среду с пониженным содержанием цитокининов получены растения с выраженными междоузлиями, пригодные для получения миничеренков, содержащих 2 – 3 междоузлия. Миничеренки укореняли в контейнерах из прозрачного пластика в вермикулите. Перед посадкой на укоренение их выдерживали в 0,003% спиртовом растворе НУК в течение 20 сек. При комнатной температуре (20±2°C) достигнуто укоренение в течение 15-18 дней. Разработана технологическая карта производства миничеренков *Dianthus imerticus* (Rupr.) Schischk. в культуре *in vitro*.

ПРИМЕНЕНИЕ ГАПЛОИДНОЙ ТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ЗАСУХОУСТОЙЧИВЫХ ФОРМ И СОРТОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

Турашева С.К.

Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы, пр. Аль-Фараби, 71

Для юго-востока Казахстана с его резко континентальным климатом актуальной проблемой является разработка путей повышения устойчивости растений к засухе. Используя физиолого-генетические методы можно получить гибридные линии яровой пшеницы, несущие признаки устойчивости к засухе, полеганию, устойчивости к ржавчинным заболеваниям, с помощью же биотехнологических методов, в частности, гаплоидной технологии получают гомозиготные константные линии из гибридных расщепляющихся популяций за сравнительно короткое время. Эффективность использования дигаплоидов проявляется также и в возможности быстрой оценки перспективности гибридных популяций или мутантных форм, поскольку у дигаплоидов, в фенотипе тождественно отражается генотип, что облегчает создание новых, устойчивых к стрессам

высокоурожайных линий и сортов зерновых культур.

Объектами исследований являлись гибридные линии (F_2) яровой мягкой пшеницы (*Tr. aestivum*), родительские формы которых относятся к разновидности Лютеценс: Лютеценс 6501х(Карабалыкская 190хОтан); Актюбинская 130хОтан; Актюбинская 91хКазахстанская раннеспелая. Сорта Актюбинской и Карабалыкской СХОС имеют слабо выраженную засухоустойчивость и устойчивость к полеганию, поэтому с целью повышения устойчивости к данным факторам, а также для увеличения продуктивности эти сорта скрещивались с сортом местной селекции Отан, который является донором генов R1 1 и R1 2, контролирующего адаптивный признак свертывания листьев при воздействии засухи и высокой температуры воздуха. Для получения гомозиготных форм, устойчивых к засухе была использована культура пыльников гибридных линий. Низкой частотой андрогенеза (21,5%) отличался гибрид Актюбинская 91хКазахстанская раннеспелая. Наибольшим морфогенетическим и регенерационным потенциалом (78,6%) обладал гибрид Актюбинская 130хОтан, из которого было получено 18 дигамплоидных линий. Данные линии оценивались по таким параметрам засухоустойчивости как: водоудерживающая способность (ВУС) вегетативной части растений, ростовые параметры, содержание свободного пролина, накопление сырой биомассы в условиях стресса и в контроле. Водоудерживающая способность дигамплоидов в полевых условиях колебалась от 10,42% до 30,79 %. Наибольшая ВУС в условиях искусственной засухи оказалась у сорта Отан (98%) и у дигамплоидной линии ДГ07/5-17-6 (85,5%). При выращивании на стрессовом фоне уровень накопления пролина у дигамплоидов возрастал по сравнению с контролем в 3-9 раз (1,42 - 7,0 мМ/г сырой массы). В целом, по результатам содержания свободного пролина и ВУС можно сделать заключение, что исследуемые дигамплоидные линии хорошо адаптируются к условиям засухи. По таким параметрам как, всхожесть и прорастание зерен, интенсивность ростовых процессов, накопление сырой биомассы при повышенном осмотическом давлении данные линии не уступают такому засухоустойчивому сорту как Отан, а по некоторым значениям даже превышают его.

APPLY HAPLOID TECHNOLOGY FOR CREATION OF DROUGHT RESISTANT SOFT WHEAT CULTIVARS

Turasheva S.K.

Al-Farabi Kazakh National university, Kazakhstan, Almaty, Al-Farabi 71

For the south-east Kazakhstan which has continental climate an actual problem is creation of ways increasing of plants resistant to a drought. It is possible, if use physiological and genetical methods of receive wheat hybrid lines, having traits of resistance to drought, drowning, to rust diseases, integrated with biotechnological methods. In particular, haploid technology gives the possibility to receive homozygous constant lines from hybrid split populations during short time. Efficiency of using doubled haploids are shown as well in possibility of a fast estimation of perspective hybrid populations or mutant forms because for doubled haploids a phenotype is identically to a genotype that facilitates creation of new, high-yielding lines of grain crops resistant to stress conditions.

Objects of researches were hybrid lines (F_2) soft wheat (*Tr. aestivum*) which parent forms concern to Ljutesens: Ljutesens 6501x (Karabalikskaya190xOtan); Aktyubinskaya 130xOtan; Aktyubinskaya 91x Kazakhstanskaya rannespelaya. Cultivars of Aktyubinskaya and Karabalikskaya agrocultivars breeding stations have weakly expressed to drowning and drought resistance, therefore for the purpose of increasing resistance to these factors, and also for efficiency production the cultivars were crossed with a cultivar Otan of local selection which has the genes R1 1 and R1 2, controlled an adaptive trait of rolling

leaves during the drought and high temperature. The anther culture of hybrid lines has been used for obtaining of the homozygous forms resistance to drought. The hybrid Aktyubinskaya 91x Kazakhstanskaya rannespelaya differed and had low frequency of androgenesis (21,5 %). The greatest morphogenetic and regeneration potential (78,6 %) had hybrid Aktyubinskaya 130xOtan from which it has been received 18 doubled haploid lines possessed. These lines were estimated by such parameters of drought resistance as: water-retaining ability (WRA) of plant vegetative part, growth parameters, the maintenance of a free proline, accumulation of a crude biomass in the conditions of stress and in control. Water-retaining ability of doubled haploid in field conditions varied from 10,42 % to 30,79 %. The most WRA in the conditions of an artificial drought has appeared cultivar Otan (98 %) and doubled haploid line DH07/5-17-6 (85,5 %). By cultivation on a stressful condition level of proline accumulation of doubled haploids increased in comparison with control in 3-9 times (1,42 - 7,0 mm/g of crude mass). As a whole, by results of the maintenance of a free proline and WRA it is possible to make the conclusion that investigated doubled haploid lines good adapted to drought conditions. On such parameters as, germination of seeds, intensivity growth processes, accumulation of a crude biomass at the raised osmotic pressure doubled haploid lines don't concede to such drought-resistant cultivar as Otan, and on some value even exceed it.

SSR-ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ПОДВОЕВ ЯБЛОНИ РОССИЙСКОЙ СЕЛЕКЦИИ

Ушакова Я.В., Супрун И.И.

*Северокавказский зональный НИИ садоводства и виноградарства,
г. Краснодар, ул. 40-летия Победы, 39*

Для повышения эффективности возделывания яблони необходимо вести постоянное наблюдение за многообразием подвоев данной культуры. В связи с массовым использованием новых клонов подвоев яблони их генетическая идентификация приобретает все большую актуальность. Наиболее перспективными являются методы молекулярного ДНК-маркирования, среди которых в последнее время широкое распространение получили SSR маркеры, аллельная изменчивость которых обеспечивают их высокую информативность.

Целью исследований является апробация ряда микросателлитных ДНК-маркеров и идентификация подвоев яблони отечественной селекции.

В ходе генетической паспортизации восьми подвоев яблони: СК1, СК2, СК3, СК4, СК5, СК7, Ч-179, М9 изучали полиморфизм десяти SSR-маркеров яблони: Hi16d02, Hi04g11, Ch01F03b, Ch01g12, Ch03a02, Cn581493, Hi03C04, CH02A04, Hi07h02, Ch04e03. Для экстракции ДНК использовали ЦТАБ-метод. ПЦР проводили по стандартным методикам, но с выполнением предварительной оптимизации ряда экспериментальных параметров. Для электрофоретического разделения продуктов ПЦР использовали 8 % полиакриламидный гель на основе буфера ТБЕ. Визуализацию проводили в ультрафиолете после окрашивания бромистым этидием.

В результате исследований был выявлен уровень полиморфизма от двух до четырех аллелей на локус в представленной выборке генотипов. При этом каждый из изученных образцов обладал индивидуальным набором аллелей. Максимальный уровень полиморфизма (4 аллели) проявили локусы Ch04e03, Ch02A04, Ch01g12 и Ch03a02, по локусам Hi04g11, Cn581493, Hi07h02, Ch01F03b было выявлено 3 аллели. Минимальный уровень полиморфизма (2 аллели) был выявлен по локусам Hi16d02 и Hi03C04. На основе полученных данных определены три микросателлитных локуса с наибольшим уровнем полиморфизма и наилучшими паттернами амплификаций продуктов реакции: Ch01g12, Ch03a02 и Ch04e03, что позволяет определить их как высокоперспективные для ДНК-идентификации, как изученных подвоев, так и других образцов яблони.

SSR-GENOTYPING OF RUSSIAN APPLE ROOTSTOCK CULTIVARS

Ushakova Y.V., Suprun I.I.

*North Caucasian Research Institute of Horticulture and Viticulture,
Krasnodar, 40 let Pobedy Street, 39*

Continual observation of rootstock diversity is highly required for improvement of apple farming. Genetic diversity valuation as well as DNA - fingerprinting could be useful for integral

estimation of rootstock accessions. Genetic identification is valuable experimental tool in connection with using of new rootstock clones in the wide range. One of the most effective and perspective method of molecular DNA-genotyping is microsatellite repeats based approaches. High level of SSR allele's variability provides their informativity.

The main goal of investigation was approbation of set of microsatellite DNA-markers for genetic identification of rootstock genotype of Russian breeding.

Genetic identification via SSR-analysis was applied for the following eight apple rootstock cultivars: CK1, CK2, CK3, CK4, CK5, CK7, Ч-179, M9. Polymorphism of 10 apple SSR markers has been estimated: Hi16d02, Hi04g11, Ch01F03b, Ch01g12, Ch03a02, Cn581493, Hi03C04, CH02A04, Hi07h02, and Ch04e03.

DNA was extracted by the CTAB-method. PCR was carried out according to standards of the method with preliminary adaptation of experimental parameters. Electrophoretical separation was performed in 8% polyacrilamide gel with TBE-buffer. Gels were stained in ethidium bromide and visualized in UV light.

The level of polymorphism from two to four alleles per locus was determined during the genotyping of presented rootstock cultivar. All of the investigated rootstocks have individual allelic combination. Maximal level of polymorphism (4 alleles) was determined for markers Ch04e03, Ch02A04, Ch01g12 and Ch03a02. Markers Hi04g11, Cn581493, Hi07h02 and Ch01F03b showed three alleles per locus. Two alleles per locus showed SSR-markers Hi16d02 and Hi03C04. Based on the obtained experimental results we recommend three SSR markers with highest level of polymorphism and better patterns of amplification: Ch01g12, Ch03a02 and Ch04e03. These markers could be highly valuable and perspective for investigation of apple genetic diversity and genotyping of rootstock as well as other apple varieties.

ГЕЛИОЦИДЫ КАК МАРКЁРЫ В СЕЛЕКЦИИ ИНСЕКТОУСТОЙЧИВЫХ СОРТОВ ХЛОПЧАТНИКА

**Узбеков В.В. ¹, Вешкурова О.Н. ¹, Абдурахимов Р.Ш. ¹,
Намазов Ш.Э. ², Стипановик Р.Д. ³, Салихов Ш.И. ¹**

¹Институт биоорганической химии им. акад. А.С. Садыкова АН РУз
100125 Ташкент ул. М. Улугбека, 83 e-mail ibchem@uzsci.net

²Узбекский НИИ селекции и семеноводства хлопчатника МСХВ РУз

³USDA/ARS Cotton Pathology Research Center, College-Station, TX, USA

Получение энтомоцидных или инсектоустойчивых сортов является одним из важнейших направлений генетико-селекционных исследований хлопчатника. До настоящего времени эта задача решалась генетической инженерией - внедрением гена Bt-токсина почвенной бактерии *Bacillus thurengensis*.

Параллельно с генно-инженерными, все большее развитие получают также альтернативные селекционные методы повышения устойчивости культур к насекомым-вредителям. Они заключаются

в отборе исходных линий с высоким содержанием эндогенных инсектотоксичных соединений.

Для хлопчатника первым изученным веществом подобного действия явился сесквитерпеноид госсипол, содержащийся в железках различных органов хлопчатника. Однако исследования американских ученых выявили в листьях и молодых коробочках отдельный класс веществ, являющихся родственными госсиполу и обладающих антифидантным действием по отношению к гусеницам семейства *Heliothis* – т.н. “гелиоциды”. Их уровень лучше по сравнению с госсиполом коррелировал с инсектоустойчивостью сортов хлопчатника.

При помощи разработанного нами количественного ВЭЖХ-метода одновременного определения гелиоцидов Н1-Н4, В1, В4 и их предшественников - гемигоссиполона и его 7-метилового эфира в экстрактах тканей хлопчатника, проведено измерение уровней данных соединений в 10 коммерческих сортах. Анализ полученной базы данных по содержанию гелиоцидов в ряде узбекских сортов хлопчатника позволил выявить корреляцию между их уровнем и инсектоустойчивостью сортов, информация о которой получена при помощи биологических методов.

Работа проведена при финансовой поддержке гранта *UZB2-31001-TA-08 (CRDF)*

HELIOCIDES AS MARKERS IN SELECTION OF INSECT RESISTANT COTTON VARIETIES

**V.V. Uzbekov¹, O.N. Veshkurova¹, R.S. Abdurakhimov¹,
S.E. Namazov², R.D. Stipanovic³, S.I. Salikhov¹**

¹ *A.S. Sadykov Institute of Bioorganic Chemistry AS RUz*

83, M. Ulugbek str, Tashkent 100125, Uzbekistan, e-mail: ibchem@uzsci.net

² *Uzbek Institute of Cotton Breeding and Seed Production Ministry of Agriculture RUz*

³ *USDA/ARS Southern Plains Agricultural Research Center, College-Station, TX, USA*

Development of insect resistance cotton varieties is an important goal in cotton genetics and in making selections in breeding programs. Presently, the use of genetically modified cottons containing Bt genes derived from the soil bacterium *Bacillus thuringiensis*, are extensively utilized. An alternative to genetic-engineering techniques is to focus on selecting plants that exhibit natural resistance to insects. In the case of cotton, a series of insect-toxic substances have been identified. We are investigating if the concentration of these endogenous compounds can be used to select cotton lines with high levels of insect resistance.

The first identified insect-toxin in cotton was the sesquiterpenoid gossypol. However, more recent investigations by American scientists revealed a new class of gossypol-related compounds in cotton leaves and buds. These compounds demonstrate anti-feedant activity to caterpillars of the *Heliothis* family; these compounds, which show a better correlation with insect resistance than gossypol, are referred to as “heliocides”.

Using HPLC methods, it is possible to simultaneously determine the concentrations of heliocides H1-H4, their precursors – hemigossypolone, and their 7-methyl ether derivatives (i.e., heliocides B1 – B4 and 7-methoxyhemigossypolone) in cotton tissues. Using this technique, the concentration of these substances in 10 commercial Uzbek cotton lines were investigated. Analysis of this database has allowed us to make correlations between concentrations of heliocides and plant resistance to insects. We found that the concentration of heliocides is a good criterion to evaluate the potential insect resistance of cotton varieties in a breeding program.

Acknowledgement: This work was supported by CRDF Project *UZB2-31001-TA-08*

КОМПЛЕКСНЫЙ БИОПРЕПАРАТ ДЛЯ СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ И УСКОРЕННОГО ИХ РОСТА

Винаров А.Ю., Смирнов В.Н., Румянцева Т.А., Ковальский Ю.В., Дирина Е.Н.

*ОАО «ГосНИИсинтезбелок», лаборатория «Технологии промышленного биосинтеза». 109004,
Москва, Александра Солженицына, 27. Vinarov@hotmail.com*

Для ускоренного прорастания семян и развития ростка в вегетационный период предложен высокоэффективный биоконкомплекс, содержащий в оптимальном соотношении биологически активные компоненты и необходимые для интенсивного роста биогенные микроэлементы питания растения. Был разработан и исследован компонентный состав и свойства биопрепарата, содержащего в оптимально установленных концентрациях комплекс стимулирующих рост растений веществ: янтарную и лимонную кислоты, природные гиббереллины, аммонийную соль оксиуксусной кислоты и набор микроэлементов: бор, молибден, цинк, марганец, медь. В лабораторных и полевых экспериментах отмечена высокая эффективность новой биодобавки, обеспечивающей ускоренный рост растений (салат, помидоры, кукуруза, соя, цветы и др.) и повышение их урожайности на 16-20%, улучшение качества за счет снижения содержания нитратов в растениях на 35-40%. В опытах на лекарственных растениях установлено, что разработанная биодобавка способствует увеличению всхожести семян и энергии прорастания на 8-14%, увеличению площади ассимилирующей поверхности растений на 62-95%.

Биоконкомплекс прошел многолетние испытания при непосредственном внесении в почву в виде раствора с концентрацией 0,001-0,005% и виде добавок к органоминеральным удобрениям из расчета внесения 0,5 кг на 1 га посевов. Был установлен эффект устойчивого роста обработанных растений-кустарников и газонной травы в стрессовых условиях, в т.ч. придорожных зонах, у железнодорожных путей, около бензозаправочных станций. Преимущества предложенного препарата по сравнению с аналогами оценивали также по разработанной в лаборатории экспертной системе сравнительной оценки эффективности биодобавок для роста растений, реализованной в виде программы на ЭВМ и основанной на предложенных критериях качественного, количественного и стоимостного эффекта от применения биодобавок.

THE COMPLEX BIOPREPARETE FOR INCREASING GROWTH AND STRESS STABILITY OF AGRICULTURAL PLANTS

Vinarov A., Smirnov V., Romyanceva T., Kovalskiy Yu., Dirina E.

*Scientific-Institute of protein biosynthesis, The laboratory "Technology of industrial biosynthesis".
109004, Moscow, Alexandr Soljenitsin str., 27. Vinarov@hotmail.com*

We had been developed and investigated componential structure and properties of the stimulating bioadditive containing in optimum concentration a complex of plants stimulating growth of substances - amber, citric acids, natural gibberellins, oxacetic acid of ammonium salt and a set of microelements (including boron, molybdenum, zinc, manganese, copper).

In laboratory and scale experiments high efficiency of the new bioadditive providing accelerated growth of plants (salad, tomatoes, corn, soy, flowers, etc.) and increase of their productivity on 16-20 %, improvement of quality due to decrease in the maintenance of nitrates in plants on 35-40 % is noted.

In experiences on herbs it is established, that the developed bioadditive promotes increase reduce of nitrates contents in plants (on 35-40%). Increase of medical plants germination seeds and energy of germination on 8-14 % at their processing by a solution of a preparation (0,001 %), to increase in the area of an assimilating surface of plants at 62-85 %.

For carrying out of the comparative analysis and a choice of the rational bioadditive for its directed application we have developed a new expert system of a choice of bioadditives on the basis of comparison of base criteria of efficiency.

The qualitative criterion considers influence of bioadditives on qualitative characteristics of production and ground, ecological safety. The offered algorithm is put in a basis of development of the computer program allowing in a dialogue mode to spend an expert estimation and a choice of the rational bioadditive for growth of plants.

The developed bioprepate is protected by the patent of the Russian Federation, international application PCT.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ СОЗДАНИЯ НОВЫХ ГЕНОТИПОВ ЗЕРНОБОБОВЫХ И КРУПЯНЫХ КУЛЬТУР

Зотиков В.И., Наумкина Т.С., Суворова Г.Н., Бобков С.В., Соболева Г.В., Сидоренко В.С., Иконников А.В.

Всероссийский научно-исследовательский институт зернобобовых и крупяных культур, 302502, г. Орел, п/о Стрелецкое

Разработан метод отбора осмоустойчивых вариантов гороха в селективных системах *in vitro* с полиэтиленгликолем и оксипропином. Выделены регенерантные линии превосходящие оригинальные сорта по водоудерживающей способности, элементам семенной продуктивности, содержанию белка в семенах. Лучшие регенеранты гороха проходят оценку в конкурсном сортоиспытании.

Разработаны методы индукции спорофитного развития микроспор гороха и проса в культуре изолированных пыльников. Получены высокоурожайные дигаметоидные линии проса на основе которых создан новый сорт Регент, переданный в Государственное сортоиспытание в 2010 году. Получены растения-регенеранты в культуре пыльников гороха.

На основе отбора высокопродуктивных соматоклональных вариантов созданы 2 сорта пайзы: Красава, районированный в Российской Федерации с 2006 года; Удаляя 2, районированный в Республике Беларусь.

Разработаны методы культуры изолированных семян гречихи и чечевицы. В результате межвидовой гибридизации культурной чечевицы с дикорастущими видами и использования биотехнологических методов получены высокопродуктивные межвидовые гибриды *Lens culinaris* с *L. orientalis*, *L. odemensis* и *L. tomentosus* в качестве доноров и источников признаков не растрескиваемости бобов, фиолетовой окраски цветка, красной окраски семядолей, окрашенной кожуры семян, высокого содержания белка.

Исследования поддержаны грантом РФФИ (09-04-97516)

USE OF BIOTECHNOLOGICAL TECHNIQUES FOR CREATION OF NEW GENOTYPES OF LEGUMES AND GROAT CROPS

Zotikov V.I., Naumkina T.S., Suvorova G.N., Bobkov S.V., Soboleva G.V., Sidorenko V.S., Ikonnikov A.V.

The All-Russia Research Institute of Legumes and Groat Crops, p/b Streletskoye, Orel, 302502, Russia

Selection of pea variants resistant to osmotic stress on the selective media with oxypoline and polyethylene glycol was developed. Pea regenerant lines with high water resistant ability, increased number of productive elements, high protein content were selected. The best pea regenerants are evaluated in the field tests.

Sporophytic development of microspores of pea and millet was induced in anther culture. High yielding millet dihaploids were selected and new cultivar Regent was created. Plant regenerants were obtained in pea anther culture.

On the base of somaclonal variant selection there were raised two cultivars of barnyard millet: Krasava, zoned in the Russian Federation; Udalaya 2 zoned in Belarus.

Ovule rescue techniques were developed for buckwheat and lentil. As a result of interspecific hybridization of cultivated lentil and wild species there were obtained interspecific hybrids between *Lens culinaris* and *L. orientalis*, *L. odemensis*, *L. tomentosus*. Lentil hybrids can be used as donors of pod indehiscence, violet flowers, red cotyledons, colored seed coat, high protein content.

The researchers were supported by the Russian Foundation for Basic Research (09-04-97516)



МЕЖДУНАРОДНЫЙ ГОД ЛЕСОВ – 2011

Генеральная Ассамблея ООН 20 декабря 2006 г. постановила провозгласить 2011 год Международным годом лесов (резолюция 61/193), «признавая, что леса и устойчивое ведение лесного хозяйства могут внести существенный вклад в устойчивое развитие, искоренение нищеты и достижение согласованных на международном уровне целей в области развития».

Международный год леса, 2011 год, предоставляет уникальную возможность для привлечения внимания общественности к проблемам, характерным для лесов многих стран. Международный год дает возможность объединить имеющийся опыт и создать стимул для более активного участия общественности по всему миру в деятельности, связанной с лесами.

Признавая необходимость поощрения практики рационального использования всех видов лесов на всех уровнях, Генеральная Ассамблея ООН дала следующие основные рекомендации:

- призвать государства-члены ООН содействовать повышению осведомленности о проблемах и успешных примерах деятельности, связанных с рациональным использованием лесов на национальном уровне;
- призвать правительства, соответствующие региональные и международные организации и основные группы оказывать поддержку деятельности, связанной с проведением Года;
- содействовать тому, чтобы проведение Года рассматривалось не как изолированное событие, а как часть непрерывного процесса информационно-пропагандистской деятельности и партнерства для повышения уровня осведомленности общественности и обеспечения перехода на систему рационального использования лесов на всех уровнях.

2 февраля 2011 г. в Нью-Йорке состоялась церемония открытия Международного года лесов. На открытии выступил заместитель руководителя Рослесхоза А.В. Панфилов, который отметил, что Правительством Российской Федерации было принято специальное распоряжение и утвержден План проведения в России Международного года лесов. В докладе также отмечалось, что для России, обладающей пятой частью всех мировых лесных запасов, «год лесов» должен стать особенным.

Последние достижения науки и технологии открывают широкие возможности для исследования и изучения сфер применения новых знаний в лесном хозяйстве РФ. Успехи лесного комплекса в развитии лесовосстановительных, лесозаготовительных и перерабатывающих технологий демонстрируют восприимчивость этой отрасли к инновациям и наукоемким технологиям.

Организационный комитет
круглого стола «Лесная биотехнология:
от исследований к инновациям»



THE INTERNATIONAL YEAR OF FORESTS

At 20 December 2006 the UN General Assembly decided to declare 2011 the International Year of Forests (resolution 61/193), recognizing that forests and sustainable development, poverty eradication and the achievement of internationally agreed development goals. International Year of Forests provides the unique opportunity to draw public attention to problems specific to forests in many countries.

International Year of Forests provides the opportunity to combine the experience and create the incentive for more the world in activities related to forests.

The UN General Assembly gave the recommendations, recognizing, the need to encourage the practice of management of all types of forests at all levels:

Calls on UN member states to promote awareness about the problems and successful examples of activities related to sustainable forest management at national level;

Calls upon Governments, relevant regional and international organizations, and major groups to support activities related to the Year;

Assist to ensure the Year was seen not as the isolated event but as a part of the continuous process of advocacy and partnerships to raise awareness and ensure the transition to the system of the sustainable forest management at all levels.

The Opening Ceremony of The Year was held in New York 2 February 2011. The Deputy Head of Federal forest agency A.V. Panfilov reported that the Russian Government made the special direction and validated the Plan of Events of the International Year of Forests. It has been noted that the Year must be special for Russia which has the fifth of all the world's forests.

Recent advances in science and technology provide numerous opportunities for research and study of applications of new knowledge in forestry of the Russian Federation. Advances of forest industry in the reforestation, timber harvesting and processing technologies demonstrate the susceptibility of the industry for innovation and high technology.

Organizing committee of
the Round table « Forest biotechnology:
from research to innovation»

**КРУГЛЫЙ СТОЛ: «ЛЕСНАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ:
ОТ ИССЛЕДОВАНИЙ К ИННОВАЦИЯМ»
SEMINAR “FOREST BIOTECHNOLOGY:
FROM RESEARCH TO INNOVATION”**

**УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS**

**ПРИОРИТЕТНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ЛЕСНОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ: ОТ ИССЛЕДОВАНИЙ
К ПРАКТИКЕ**

Маринов А.Н.

*Федеральное агентство лесного хозяйства,
115184, Москва, ул. Пятницкая, д.59/19*

Состояние лесов России вызывает все большую тревогу и требует активного участия специалистов в их восстановлении. Сокращение лесных ресурсов, непостоянство семеношения, снижение устойчивости к биотическим и абиотическим факторам, обеднение генофонда лесов, отсутствие достаточного объема посадочного материала из-за трудности вегетативного размножения ценных генотипов большинства видов лиственных и хвойных пород приводит к ухудшению качества лесных насаждений.

Лесная биотехнология – современный и эффективный подход для решения этих вопросов. К числу приоритетных направлений лесной биотехнологии (как в нашей стране, так и за рубежом) относится клональное микроразмножение уникальных генотипов для ускоренного получения в промышленных масштабах качественного посадочного материала с целью создания лесных культур различного целевого назначения. Актуальными также являются исследования, направленные на сохранение ценного генофонда (консервации *ex situ*) и ДНК-маркирование. В настоящее время в России усилиями ряда организаций (ФГУП «НИИЛГиС», ФГУ «СПБНИИЛХ», ИБХ РАН, ФГУ «Рослесозащита» и др.) разработан и внедряется в практику целый ряд эффективных технологий, которые могут обеспечить надежное воспроизводство, сохранение и генотипирование представителей ценного генофонда.

Зарубежный опыт свидетельствует о перспективности практического использования еще одного новаторского направления - генно-инженерного улучшения древесных растений и создания новых форм с устойчивостью к гербицидам, вредителям и болезням, ускоренным ростом, модифицированными свойствами древесины и др. Трансгенные технологии могут быть симметричным ответом лесной науки вызовам времени.

Исследования и разработки в этой области должны быть направлены на решение конкретных производственных задач лесохозяйственного процесса. Критериями внедрения в практику инновационных разработок лесной биотехнологии будут служить: 1) востребованность и массовость применения, 2) значимость и признанность в отрасли, 3) общественное признание.

PRIORITY DIRECTIONS OF FOREST BIOTECHNOLOGY: FROM RESEARCH TO PRACTICE

Mariev A.N.

*Federal Forestry Agency,
115184, Moscow, Pyatnitskaya Ulitsa, 59/19*

Status of Russian forests is of growing concern that requires the active participation of experts in reforestation. Reduction of forest resources, instability of seed yield, reduced resistance to biotic and abiotic factors, depletion of forest genetic diversity, and lack of sufficient planting material because of the difficulty of vegetative propagation of valuable forest genotypes leads to deterioration in the quality of forest plantations.

Forest biotechnology is a modern and effective approach to solve these problems of forestry. One of the most priority directions of forest biotechnology is clonal micropropagation of unique genotypes for the accelerated production of high-quality planting material for establishment of plantations for various purposes. Ex situ conservation of forest genetic resources and molecular marker technology are also very important directions. Now in Russia the several organizations (FGUP "NIILGiS", FGU "SPBNILH", Institute of Bioorganic Chemistry RAS, FGU "Roslesozashchita" etc.) developed a number of effective technologies for reproduction, conservation and genotyping of valuable forest genotypes. Very promising direction is the genetic engineering of forest trees for obtaining plants with resistance to herbicides, pests and diseases, accelerated growth, modified wood properties, etc.

Research and development in area of forest biotechnology should be aimed at solving specific problems of forestry. The criteria for introduction of innovative development of forest biotechnology into practice will be: 1) demand and mass character of application, 2) the importance and recognition in the forestry, and 3) public recognition.

СИСТЕМА ПРОДВИЖЕНИЯ ИННОВАЦИОННЫХ ПРОЕКТОВ ПРИМЕРЕ ЙОЭНСУУ (JOENSUU), ФИНЛЯНДИЯ. ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ МЕЖРЕГИОНАЛЬНЫХ ПРОЕКТОВ МЕЖДУ РОССИЕЙ И ФИНЛЯНДИЕЙ В ЛЕСНОЙ БИОЭНЕРГЕТИКЕ

Черемисин Георг (Cheremisin Georg),

*Управляющий директор Technoreactor Oy
geo@technoreactor.com, тел. +358 440998022,
адрес: Länsikatu 15 Joensuu 80110, Finland*

Для успешного внедрения инноваций и новых технологических продуктов необходимо наличие развитой инфраструктуры поддержки инновационных проектов. Такая инфраструктура позволяет инновационным проектам пройти апробацию, предварительную экспертизу, получить стартовое финансирование и в итоге выжить, получить место под солнцем. Для ученых это означает что цикл жизни их идей и технологий не заканчивается за стенами лаборатории, а продолжает свое развитие в настроенной для их развития среде. Россия известна тем, что существует огромная диспропорция между тем весом, которым она обладает в области научных исследований в мире и чрезвычайно низким процентом внедрения новых технологий в индустрии. В Финляндии все устроено в точности наоборот.

В докладе дается краткий обзор научных программ, по которым ведется работа Финского

Исследовательского Института Леса (METLA), офис которого расположен в городе Йоэнсуу, Финляндия и обзор инфраструктуры продвижения инновационных проектов Технопарка Йоэнсуу, расположенного там же.

Особое внимание уделено перспективам развития межрегиональных проектов в области лесной энергетики между Россией и Финляндией. Эту область деятельности ждет большое и многообещающее будущее.

SYSTEM OF ADVANCEMENT OF INNOVATION PROJECTS IN JOENSUU, FINLAND. PERSPECTIVES OF THE INTER REGIONAL PROJECTS BETWEEN RUSSIA AND FINLAND IN THE ENERGY WOOD AREA

Cheremisin Georg,

Technoreactor Oy¹, Joensuun Tiedepuisto², Finland

geo@technoreactor.com,

тел. +358 440998022

адрес: Länsikatu 15 Joensuu 80110, Finland

For successful application of innovations and new technology products existing of developed infrastructure is essential. Such infrastructure allows to pass probation, preliminary expertise, get starting financing and, finally, survive. For scientists it means that life

cycle of their ideas and technologies will not be ended beyond of the lab's walls but will continue to grow up in the tuned environment. Russia is famous for its huge disproportion between R&D

world capacity and input in the application of the new technologies in world industry. In Finland things are working in an absolutely different way.

In the representing speech we give brief survey of the programs of Finnish Forest Research Institute (METLA) located in Joensuu, Finland and survey of infrastructure for advancement of technology projects in Joensuun Tiedepuisto, located in the same city. Special attention is devoted to perspectives of the development of inter regional projects in energy wood between Russia and Finland.

ПРОИЗВОДСТВО ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА ЛЕСНЫХ И ДЕКОРАТИВНЫХ КУЛЬТУР ИЗ МИКРОРАСТЕНИЙ IN VITRO В УСЛОВИЯХ ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ТЕПЛИЦ СЕМЕНОВСКОГО СПЕЦСЕМЛЕСХОЗА

Горелова З.В., Горелов Н.И.

ГУ НО «Семеновский спецсемлесхоз»,

606651, Россия, Нижегородская обл., г. Семёнов, ул. Садовая, д. 2

С 2007 года на базе Семеновского спецсемлесхоза совместно с Институтом биоорганической химии РАН ведутся работы по апробации и внедрению технологии производства посадочного материала с закрытой корневой системой (ЗКС) лесных и декоративных культур из микрорастений in vitro. Использовался клонированный материал таких растений, как береза повислая, береза пушистая, осина (триплоидные и диплоидные формы), ясень обыкновенный, рододендрон, алыча сортовая, сирень, гейхера и другие.

Работы по адаптации и доращиванию посадочного материала из растений *in vitro* проводили как в условиях производственных пленочных теплиц площадью 450 м² с туманообразной системой орошения, так и в отдельной теплице из поликарбоната площадью 100 м², сконструированной специально для работы с посадочным материалом *in vitro*. В обоих случаях повышенную влажность создавали путем укрытия кассет материалом типа Спанбонд сразу после высадки.

Основное внимание в данной работе уделяется оптимизации основных условий культивирования и созданию соответствующей материально-технической базы. Показано, что главным этапом, определяющим успешность всех работ, является адаптация микрорастений *in vitro* к условиям защищенного грунта. Эффективность этапа адаптации зависит от соблюдения ряда условий: а) соблюдать рекомендованный температурный режим хранения микрорастений до их посадки в грунт; б) не допускать увядания микрорастений в процессе посадки; в) поддерживать в первый месяц роста режим повышенной влажности (более 70%) и защищать от прямых солнечных лучей. После успешного проведения процесса адаптации, условия выращивания посадочного материала не требуют каких-либо отклонений от стандартных технологий, применяемых в хозяйстве.

С использованием посадочного материала с ЗКС осины и березы, выращенного из микрорастений *in vitro*, заложены опытные культуры общей площадью 4,2 га.

PRODUCTION OF FOREST AND ORNAMENTAL SEEDLINGS FROM PLANTS IN VITRO IN GREENHOUSES OF “SEMENOVSKI SPECSEMLESCHOZ”

Gorelova Z.V., Gorelov N.I.

*GU NO “Semenovski specsemleshoz”,
606651 Sadovaya 2 Semenov, Nizhi Novgorod Region, Russia*

Since 2007 “Semenovski specsemleshoz” in conjunction with the Institute of Bioorganic Chemistry RAS are working on testing and introduction of production technology of forest and ornamental seedlings from plants *in vitro*. In experiments we used *Betula* spp., triploid and diploid forms of aspen, European ash, *Rhododendron* spp., cherry-plum, *Syringa vulgaris*, *Heuchera* spp. and others. Acclimatization and cultivation of plants was carried out both in the film greenhouse with fog irrigation system (450 m²) and in the polycarbonate greenhouse (100 m²). It is shown that the main condition of progress is the acclimatization plants *in vitro* to greenhouse conditions. Effectiveness of acclimatization stage depended of a number of conditions: a) proper storage temperature of plants *in vitro* before planting in the soil, b) prevention of microplant fading during planting, and c) high humidity (more than 70%) and protection from direct sunlight during the first month after planting. Acclimatized plants did not require changes to the standard technology of growing seedlings.

We have established plantations of aspen and birch trees on an area of 4,2 hectares using plants derived via plant tissue culture.

ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ ДРЕВЕСНЫХ ПОРОД ДЛЯ БИОЭНЕРГЕТИКИ

Лебедев В.Г., Шестибратов К.А.

Филиал учреждения Российской академии наук Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова,
142290, Россия, Московская обл., г.Пушино, пр-т Науки, 6

В настоящее время лигноцеллюлозная биомасса растений представляет собой наиболее перспективное сырье для производства этанола. Оно является возобновляемым и не используется в качестве пищи или корма для животных. Быстрорастущие древесные растения, такие как тополь, осина, ива и эвкалипт, являются привлекательным источником лигноцеллюлозной биомассы. Плантации таких деревьев с коротким циклом выращивания обладают рядом преимуществ по сравнению с однолетними травянистыми видами.

Процесс переработки лигноцеллюлозы в этанол включает несколько этапов, из которых наиболее дорогостоящими являются делигнификация и деполимеризация целлюлозы. Эти затраты можно уменьшить с помощью генной инженерии. Во-первых, путем генетической трансформации можно снизить содержание лигнина и/или изменить его состав. Кроме того, в культурах для получения биомассы можно получать ферменты, расщепляющие лигнин. Во-вторых, в трансгенных растениях можно экспрессировать ферменты для переработки целлюлозы в глюкозу. Другой стратегией является управление ферментами биосинтеза целлюлозы для увеличения производства полисахаридов. В-третьих, урожай биомассы можно увеличить путем манипуляций с ассимиляцией азота, метаболизмом углеводов, регуляторами роста растений или фотосинтезом.

В нашей лаборатории разработана технология размножения *in vitro* ряда видов и гибридов ивы для последующей генетической трансформации. Мы также получили трансгенные растения осины и березы, экспрессирующие гены глутаминсинтазы для ускорения роста растений, ксилотрансферазы для расщепления ксилотрансферанов и РНК-интерференционную конструкцию для ингибирования экспрессии гена 4-кумарат-КоА-лигазы с целью снижения содержания лигнина. Кроме того, мы разработали систему ко-трансформации осины и березы для одновременного переноса в растения нескольких генов.

GENETIC ENGINEERING OF FOREST TREES FOR BIOENERGY

Lebedev V.G., Schestibratov K.A.

Branch of Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences,
142290 Science avenue 6 Pushchino, Moscow Region, Russia

Lignocellulosic biomass from woody or herbaceous plants now represents the most interesting and promising feedstock for the production of bioethanol. It is renewable annually as a result of photosynthesis and cannot be used as food or feed. Fast-growing woody crops such as species *Populus*, *Salix*, and *Eucalyptus* are an attractive source of lignocellulosic biomass. Short-rotation tree plantations have a variety of agronomic, environmental and economic advantages relative to annual herbaceous species.

The process for converting the lignocellulose requires several steps: 1) delignification, 2) depolymerization of the carbohydrate polymers, and 3) fermentation of mixed hexose and pentose sugar to produce ethanol. The major hurdle to producing biofuel is the high cost of conversion of cellulose and hemicellulose into

ethanol. This cost include the pretreatment of biomass for delignification and production of the microbial cellulases needed to convert the cellulose into fermentable sugars. Genetic engineering provides tools to decrease both of these costs. Firstly, genetic transformation can decrease the lignin content and/or change the composition of lignin. Transgenic approach can also be employed to produce enzymes responsible for digesting lignin within the biomass crops. Secondly, transgenic plants can be designed to overexpress enzymes for conversion of cellulose into glucose in plants. In addition polysaccharide production in plants may be increased through modification of cellulose biosynthesis pathway. Thirdly, biomass yield can be increased by manipulation of nitrogen assimilation, carbohydrate metabolism, plant growth regulators or photosynthesis.

In our laboratory the protocol of micropropagation for several species and hybrids of *Salix* for subsequent gene transfer was developed. We obtained transgenic plants of several genotypes of aspen and birch expressing glutamine synthetase gene for enhancing growth, xyloglucanase gene for digesting xyloglucans and RNAi construct for supression of 4-coumarate-CoA-ligase expression and decreasing lignin content. In addition, the system for co-transformation of aspen and birch plants was developed.

ВОСПРОИЗВОДСТВО И СОХРАНЕНИЕ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ЦЕННОГО ГЕНОФОНДА ЛЕСНЫХ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ МЕТОДАМИ БИОТЕХНОЛОГИИ

Машкина О.С.^{1,2}, Табацкая Т.М.¹, Землянухина О.А.¹

¹ФГУП Научно-исследовательский институт лесной генетики и селекции 394087 Россия, Воронеж, ул. Ломоносова, д.105; e-mail: ilgis@lesgen.vrn.ru

²Воронежский государственный университет 394006 Россия, Воронеж, Университетская пл., 1; e-mail: olga_mashkina@yahoo.com

В связи с обеднением генофонда лесов из-за массовых концентрированных и выборочных рубок, техногенного загрязнения среды, глобального изменения климата, пожаров и др. актуальной проблемой является воспроизводство и сохранение лесных генетических ресурсов. Лесная биотехнология – современный и эффективный подход для решения этих вопросов. Разработаны методы и технологии клонального микроразмножения высокопродуктивных, устойчивых к абиотическим и биотическим факторам, а также декоративных форм, гибридов и полиплоидов разных видов лиственных (березы (*Betula pendula* Roth, *Betula pendula* Roth var *carelica* Merkl, *B. pendula* “*dalekarlica*”(L.f.); *B. pubescens* Ehrh.); дуба (*Quercus robur* L.), осины (*Populus tremula* L.); тополя (*Populus alba* L., *P. canescens* Sm.); ивы (*Salix* L. spp.); ольхи (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn., *A. incana* (L.) Moench)) и хвойных (сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.)) древесных растений. Технологии используются для воспроизводства, а также сохранения ценных и уникальных генотипов путем создания коллекционных участков и поликлоновых плантаций (консервация *ex situ*), имеющих широкую генетическую основу. Многолетняя (в течение 10-18 лет) генетико-селекционная оценка созданных плантационных культур карельской березы с декоративной текстурой древесины, продуктивных и устойчивых гибридов осины, триплоидов тополя белого и сереющего доказывает эффективность разработанных технологий *in vitro*. Впервые в России показана возможность создания и предложен принципиально новый способ длительного (свыше 19 лет) культивирования *in vitro* коллекции ценных генотипов лиственных как одного из эффективных подходов сохранения ценного генофонда (консервации *ex situ*) и удобной модели для изучения прикладных и фундаментальных вопросов.

BIOTECHNOLOGY METHODS USAGE FOR REPRODUCTION AND PRESERVATION OF FORESTRY GENE POOL

Mashkina O.S.^{1,2}, Tabatskaya T.M.¹, Zemlyanukhina O.A.¹

¹Research Institute of Forest Genetics and Breeding,
105, Lomonosova str., 394087, Voronezh, Russia; e-mail: ilgis@lesgen.vrn.ru

²Department of Genetics, Cytology and Bioengineering,
Voronezh State University, 1, Universitetskaya square, 394006, Voronezh, Russia;
e-mail: olga_mashkina@yahoo.com

In the context of exhausted gene pool of forests because of mass concentrated and select cuttings, technogenic pollution, global climate change, fires etc., reproduction and preservation of wood genetic resources is considered as an urgent problem. *Forest biotechnology is a modern and effective approach* for decision of these problems. There were worked out methods and technologies of clonal micropropagation of highly productive, resistant to abiotic and biotic factors, and also decorative forms, hybrids and polyploids of various kinds of foliaceous (birch (*Betula pendula* Roth, *Betula pendula* Roth var *carelica* Merkl, *B. pendula* "dalekarlica" (L.f.); *B. pubescens* Ehrh.); oak (*Quercus robur* L.), aspen (*Populus tremula* L.); poplar (*Populus alba* L., *P. canescens* Sm.); willow (*Salix* L. spp.); alder (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn., *A. incana* (L.) Moench) and coniferous (Scotch pine (*Pinus sylvestris* L.)) woody plants. The technologies are used for reproduction, and also preservation of valuable and unique genotypes by creation of collection sites and polyclonal plantations (conservation *ex situ*) with broad genetic basis. Long-term (over 10-19 years) genetic and selection investigations of established experimental plantations of Karelian birch with patterned wood, productive and resistant hybrids of aspen, triploids of white and grey poplars show efficiency of the worked out *in vitro* technologies. For the first time in Russia there was created a collection of valuable foliaceous genotypes and developed a radically new method of its long term cultivation (over 19 years). The method of long-term *in vitro* cultivation is an effective way of *ex situ* preservation of the representatives of valuable gene pool. The obtained material is a useful model for analysis of applied and basic problems.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЗАЩИТЫ И ВОСПРОИЗВЕДЕНИЯ ЛЕСНЫХ НАСАЖДЕНИЙ

Нугманова Т.А.

ООО «БИОИН – НОВО», г. Москва, ул. Клары Цеткин, 4

Современная биотехнология дает возможность полностью защитить сельскохозяйственные растения и в том числе, лесные насаждения от вредных насекомых и болезней.

Болезни растений вызываются 10000 видов насекомых, вирусами, бактериями и микроскопическими грибами, что до 80% снижает урожайность сельскохозяйственных культур и приводит к нарушению экологического равновесия, засоряя землю спорами, клетками. Грибы - патогены могут выделять вредные для организма человека токсины.

В России с 70-х годов осуществляется промышленное производство биологических препаратов - средств защиты растений от вредных насекомых и болезней. В отличие от химических инсектицидов биопрепараты обладают более ярко выраженной избирательностью действия, они безвредны для человека, животных, пчел, птиц, рыб. Они быстро разлагаются в почве и воде под действием солнечных лучей, не вызывают эффект привыкания к ним насекомых.

Многие страны производят биопрепараты против листогрызущих гусениц, личинок колорадского жука, паутинного клеща, тлей, трипсов и других насекомых. Основа биопрепаратов это биологические токсины, полученные из микроорганизмов, выделенных из погибших в природе насекомых. Готовые биопрепараты способны действовать только на восприимчивых насекомых. В России разработаны и могут производиться крупнотоннажно биопрепараты: дендробациллин, битоксибациллин, Бикол, лепидоцид, триходермин, фитоспортин, бактофит, вермикулен, псевдобактерин, агат, планриз, фитолавин. Наиболее эффективен биоинсектицид Бикол. Норма расхода препарата не превышает 0,5-1,0 кг/га в зависимости от вида насекомых, их численности и погодных условий. При использовании более современных опрыскивателей норма расхода может быть снижена с 1,0 до 0,2 кг/га.

Бикол эффективен против комплекса листогрызущих гусениц: совок, белянок, лугового мотылька, против гусениц яблонной плодовой гусеницы, листовертки, моли, боярышницы, американской белой бабочки, шелкопрядов, пяденицы, против гусениц листовертки, огневки, пяденицы, листовой галлицы, паутинного клеща. Активная концентрация 4- 8 г на 1 л.

Перспективным направлением является разработка комплексных биопрепаратов, в результате чего биологическая эффективность увеличивается на 20-35 %.

Для защиты от фитопатогенных инфекций могут быть использованы биопрепараты на основе бактерий (*Bacillus*) и грибов рода *Trichoderma*.

Наряду с биоинсектицидами и биофугицидами эффективны и биоудобрения. Это биопрепараты, содержащие полезную микрофлору, стимулирующие рост и развитие, а также сохранение почвенной микрофлоры. Они содержат биологически активные компоненты, положительно влияющие на рост, корнеобразование и иммунитет растений.

Одним из самых эффективных биоудобрений является «Никфан, ж».

Биоудобрение «Никфан,ж» комплексного действия, имеет разнообразные эффекты: активизацию корнеобразования, листовой поверхности, толщины стеблей, фотосинтеза, усиление засухо- и морозостойчивости, повышение иммунитета растений, сопротивляемости болезням и вредителям, повышение всхожести семян и приживаемости растений.

Исследования, проведенные при посадке крупномеров, молодых деревьев в питомниках показали эффективность применения биопрепаратов.

USE OF BIOLOGICAL PRODUCTS FOR PROTECTION AND REPRODUCTION OF WOOD PLANTINGS

Nugmaniva T.A.

BIOIN-NOVO LTD, Moscow, Klara Tsetkin str,4

The modern biotechnology gives the chance to protect completely agricultural plants and including, wood plantings from harmful insects and illnesses. Illnesses of plants are caused by 10000 kinds of insects, viruses, bacteria and microscopic fungi that reduces productivity of agricultural crops to 80 % and leads to ecological balance disruption, littering the earth with disputes and cells. Fungi - pathogens can allocate toxins harmful to a human body.

Microbial fungicide from *Trichoderma harzianum* conidia growing on liquid media. Unlike of *Tr. roseum*, biofungicide have hyperparasitic non antibiotic activity for soil borne fungal diseases control: grey mildew, white mildew, ascohytosis, oidium, black root, rot, phytophthora, scab diseases of grapes, wheat, vegetables, crops.

In Russia since 70th years the industrial production of biological preparations - protection frames of

plants from harmful insects and illnesses is carried out. Unlike chemical preparations biological products possess more strongly pronounced selectivity of action, they are harmless to the people, animals, bees, birds and fishes. They quickly decay in soil and water under the influence of sun rays, don't cause effect of accustoming to them of insects.

Many countries make biological products against larva of potato beetles, caterpillar, cabbage moth, beet webworms, codling moth, black-veined, fall webworm, leaf-rolling moth, american tent, gypsy, abraxas, grossulariata, etc.

The basis of biological products are the biological toxins received from microorganisms, allocated from insects victims in the nature. In Russia was developed and can be produced in the big scale the following biological products: dendrobacillin, bitoxibacillin, lepidocid, bicol, trichodermin, fitosporin, bactofit, vermiculen, psevdobacterin, agat, planriz, fitolavin. Bikol is the most effective bioinsecticide. The norm of the expense doesn't exceed 0,5-1,0 kg/hectares depending on a kind of insects, their number and weather conditions. Use of modern sprayers reduces norm of the expense to 0,2 kg/hectares. Bicol is especially effective against larva of potato beetles, caterpillar, cabbage moth, beet webworms, codling moth, black-veined, fall webworm, leaf-rolling moth, American tent, gypsy, abraxas, grossulariata, etc. Bicol is applicable for the following plants: potato, tomato, pepper, cabbage, beet, carrot, apple-tree, pear-tree, plum-tree, sweet cherry, apricot-tree, mulberry-tree, gooseberry, pyrethrum, eglantine, valerian, calendula, hop cucumber. The active concentration is 4 - 8 г on 1 л.

Perspective direction is working out of complex biological products therefore biological efficiency increases by 20-35 %.

For protection against phytopathogenic infections biological products on the basis of bacteria (Bacillus) and fungi sort Trichoderma can be used.

Along with biofungicides and bioinsecticides biofertilizers are effective also. These are the biological products containing useful microflora, stimulating growth, development and preservation of soil microflora.

They contain biologically active components positively influencing growth, root - formation and immunity of plants. One of the most highly effective biofertilizers it «Nikfan». Thanks to such complex effects it provide: activize root-formation and photosynthesis, the increase of seed germination, enhance resistance of plants to unfavourable growth conditions, enhance frost- and drought-resistance, promote the grafting.

The researches spent at landing of large trees, young trees in nurseries have shown efficiency of application of biological products.

МЕТАБОЛОМИКА ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ: ОСНОВЫ ТЕХНОЛОГИИ И ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ

Осипов, В.И.^{1,3}, Осипова, С.Н.^{1,3} и Быков, В.А.^{2,3}

¹Лаборатория органической химии и химической биологии, Факультет химии, Университет г. Турку, 20014, Турку, Финляндия

²Всероссийский институт лекарственных и ароматических растений, РАСХН, Грина 7, 117216, Москва, Россия

³Объединенная Российско-Финская биотехнологическая лаборатория, Факультет химии, Университет г. Турку, 20014, Турку, Финляндия

Развитие новых биотехнологий для получения информации о функциональной активности генома является необходимым и очень важным условием для понимания молекулярных основ генетической модификации древесных растений и их устойчивости к действию факторов среды. Такие технологии как геномика, транскриптомика и протеомика дают возможность оценить внутренний потенциал

растения при взаимодействии с окружающей средой, но не объясняют каким образом изменения в мРНК или белках сопряжено с изменениями в биологических функциях растения. Метаболиты являются конечными продуктами экспрессии генома, а поэтому изменения в их составе и содержании можно рассматривать как непосредственный ответ организма на генетическую модификацию или действие окружающей среды. Изучение метаболитов растений имеет достаточно долгую историю, но только недавно с развитием аналитических методов сформировался новый раздел современной системной биологии – метаболомика. Главная цель метаболомики – это определение биохимических изменений в биологическом объекте как следствие изменений в геноме или под действием факторов окружающей среды. В представленном докладе будут обсуждаться три основных вопроса: 1. Современные аналитические и биоинформационные методы и подходы, используемые для количественной характеристики и идентификации компонентов метаболома растений; 2. Особенности метаболомики древесных растений; и 3. Применение метаболомики для определения биохимических особенностей различных генотипов и фенотипов деревьев березы (*Betula pendula* и *Betula pubescens* ssp. *czerepanovii*).

METABOLOMICS OF WOODY PLANTS: BASIS OF TECHNOLOGY AND ITS APPLICATIONS

Ossipov, V. I.^{1,3}, Ossipova, S. N.^{1,3} and Bykov, V. A.^{2,3}

¹Laboratory of Organic Chemistry and Chemical Biology, Department of Chemistry, University of Turku, 20014, Turku, Finland

²All Russian Institute of Medicinal and Aromatic Plants, RASA, Grina 7, 117216, Moscow, Russia

³Joint Russian-Finnish Biotechnological Laboratory, Department of Chemistry, University of Turku, 20014, Turku, Finland

Development of novel biotechnologies for deriving information on the functional activity of the genome is essential in order to advance our understanding of the molecular basis of genetic modification of woody plants and their tolerance to environmental challenges. Genomics, transcriptomics and proteomics can provide insights into the potential of a plant to interact with external perturbations. However, these technologies do not provide direct information on how changes in mRNA or proteins are coupled with changes in biological functions of plant. The metabolites are the end products of gene expression and the changes in their levels may thus be regarded as the ultimate response of plant system to genetic modifications and environmental stress. There is a long tradition of and extensive knowledge on metabolite analysis, but only recently this analysis has grown into a new field of system biology - metabolomics. The principle objective of metabolomics is to define the biochemical changes in the plant object due to genetic modification or environmental stress. In our presentation will discuss the next questions: 1. Modern analytical and bioinformatic methods and approaches used for comprehensive quantification and identification of the low molecular weight compounds of plant (metabolome); 2. Some peculiarities of woody plant metabolomics, and 2. Application of metabolomics tool for discrimination and biochemical pattern recognition of genotypes and phenotypes of birch trees (*Betula pendula* and *Betula pubescens* ssp. *czerepanovii*).

РАЗРАБОТКА УСЛОВИЙ АДАПТАЦИИ НА ЭТАПЕ EX VITRO МИКРОКЛОНАЛЬНО РАЗМНОЖЕННОГО ЛЕСНОГО ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА

Падутов В.Е.¹, Максимова П.П.², Баландина И.М.¹, Иванова М.А.¹, Богинская Л.А.¹, Кулагин Д.В.¹, Химченко Е.Н.¹, Константинов А.В.¹, Морочкова М.П.¹

¹ГНУ «Институт леса Национальной академии наук Беларуси», Беларусь, 246001 Гомель, ул. Пролетарская, 71

²УО «Белорусский государственный университет», Беларусь, 220030 Минск, пр. Независимости, 4

Показана возможность пересадки микроклональных растений-регенерантов в нестерильные почвенные условия с ноября по июнь, что уменьшает сезонный характер работы при массовом производстве посадочного материала. Разработаны четыре схемы технологического процесса адаптации: пересадка микроклональных растений в условия *ex vitro* происходит в ноябре-январе; пересадка в феврале-апреле; пересадка в апреле-мае; пересадка в мае-июне.

Установлено, что оптимальным периодом первого этапа адаптации при повышенной влажности является полтора месяца. Возможен вариант схемы технологического процесса, когда этот период может быть сокращен (вплоть до 1 недели). Однако, такое изменение требует обязательной пересадки микроклональных растений в искусственный ионообменный субстрат, который обеспечивает повышенную скорость корнеобразования. Для всех остальных схем адаптации лучшим субстратом является торфо-песчаная смесь на основе верхового торфа.

Показано, что для адаптации растений следует проводить внекорневую подкормку слабыми концентрациями удобрений. Установлено, что оптимальные морфометрические параметры микроклональных растений для адаптации в условиях *ex vitro*: высота стволика 3-5 см, количество корней 2 и более.

Изучена возможность использования штаммов микроорганизмов, обладающих ростостимулирующими и фитопротекторными свойствами, для улучшения адаптации растений-регенерантов.

THE ELABORATION OF PREREQUISITES FOR ACCLIMATIZATION OF MICROPROPAGATED FOREST PLANTS TO EX VITRO CONDITIONS

Padutov V.E.¹, Maximova P.P.², Balandina I.M.¹, Ivanova M.A.¹, Boginskaya L.A.¹, Kulagin D.V.¹, Khimchenko Ye.N.¹, Constantinov A.V.¹, Morochkova M.P.¹

¹State Research Institution «Forest Institute of the National Academy of Sciences of Belarus», 71 Proletarskaia St., 246001 Gomel, Belarus

²Educational Institution «Byelorussian State University», 4 Nezavisimost' Av., 220030 Minsk, Belarus

The possibility has been demonstrated for transfer of micropropagated plants into unsterile soil conditions from November through May, which enables one to reduce the scope of work on the quantity production of planting stock. Four schemes of the technological process for acclimatization have been developed, namely, transfer of micropropagated plants to the *ex vitro* conditions from November through January, transfer from February through April, transfer in April and May and transfer in May and June.

It has been found that the optimum length of the first stage of acclimatization at elevated moisture is one month and a half. A reduction of this period to one week is a distinct possibility. However, such a change in the scheme of the technological process involves obligatory transfer of microclonal plants to an artificial

ion-exchange substratum that favors a higher rate of root formation. The best substratum for the remaining acclimatization schemes is a mixture of high-moor peat and sand.

Spray fertilizing in low concentrations was demonstrated to be favorable for acclimatization of plants. It has been found that the best morphometric parameters that are contributory factors for the speeding up of acclimatization of microclonal plants to *ex vitro* conditions are as follows: the height of the plant stem varies from 3 to 5 cm and the number of roots is two and over.

The possibility has been treated of the use of strains of microorganisms possessing growth-promoting and phytoprotective properties and so capable of speeding up of acclimatization of plants.

ЭФФЕКТИВНЫЙ СПОСОБ ВЫРАЩИВАНИЯ «БЫСТРОГО», ВЫСОКОПРОДУКТИВНОГО ЛЕСА В РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН НА ПРИМЕРЕ ОСИНЫ (POPULUS TREMULA L.)

Газизуллин А.Х.¹, Пуряев А.С.², Гарипов Н.Р.¹

¹ ФГОУ ВПО «Казанский государственный аграрный университет»;

420015, г. Казань, ул. К.Маркса, 65

² ФГУ ВНИИЛМ «Восточно-европейская лесная опытная станция»;

420097, г. Казань, ул. Товарищеская, 40

Осинники Республики Татарстан (РТ), занимая площадь в 238,5 тыс. га, а это 20,9% от площади лесного фонда Татарстана, сильно поражены грибными заболеваниями вызывающими гниль ствола, низкотоварны, экологически неблагоприятны.

До настоящего времени в Татарстане работа по оздоровлению осины и осинников не проводилась, напротив, веками вырубались лучшие здоровые деревья, а гнилые оставлялись на корню и, естественно, размножались, т.е. шла отрицательная селекция. Начиная с 2007 года, проводимые нами работы направлены на замену низкотоварных фаутных осинников республики – гнилеустойчивыми, быстрорастущими, высокотоварными клонами с активным использованием современных биотехнологических разработок.

Осуществляемый ход работ направлен на отбор быстрорастущих, высокопродуктивных, устойчивых к болезням элитных форм с использованием традиционных методов селекции в сочетании с технологией молекулярных маркеров, микрклональное размножение элитных экземпляров, создание специализированных плантаций.

На текущий момент заложено более 40 постоянных пробных площадей в осиновых древостоях различных природных зон Республики Татарстан, выявлены и поставлены на учет здоровые, высокопродуктивные клоны. На территории Сабинского лесничества Министерства лесного хозяйства РТ в течение 4-х лет выращиваются первые в республике опытные генотипы элитной осины, размноженной в условиях *in vitro*.

Есть основания, что разведение элитных генотипов осины уже к 25-30 годам позволит получать здоровую, высокотоварную, спелую древесину. Выполнение программы по замене деградированных осинников Республики Татарстан позволит поднять продуктивность лесов РТ в 3-5 раз.

EFFECTIVE WAY OF GROWING «FAST», HIGHLY PRODUCTIVE FORESTS IN THE REPUBLIC OF TATARSTAN ON THE EXAMPLE OF ASPEN (POPULUS TREMULA L.)

A.H. Gazizullin¹, A.S. Puryaev², N.R. Garipov¹

¹ Kazan State Agrarian University; Kazan, Russia

² East-European forest trial station; Kazan, Russia

Aspen forests of the Republic of Tatarstan occupying an area of 238.5 thousand hectares (20,9% of all forest fund of Tatarstan). These forests are strongly affected by fungal diseases, low marketable, environmentally unfriendly.

A long time in Tatarstan the work on improving health of aspen stands was not carried out. For centuries it was a negative selection: the best healthy trees cut down and low quality trees are naturally propagated. Since 2007 our activities are aimed at replacing low marketable aspen stands of the Tatarstan by stem rot-resistant, fast growing, highly productive clones using modern biotechnological tools.

The carried out program directed at selecting fast-growing, highly productive, disease resistant elite genotypes using combination of traditional breeding methods and molecular marker technology, micropropagation of elite trees, creation of specialized plantations.

To date, we have more than 40 constant trial areas in the aspen stands in various nature zones of the Republic of Tatarstan. We also identified healthy highly productive clones. On the territory of Sabinsky forestry of Tatarstan are raised for the first time in the republic experimental plantations of aspen elite genotypes propagated by *in vitro* methods.

There is reason that the breeding of elite genotypes of aspen as early as 25-30 years will receive a healthy, high-value wood. Implementation of program for replacing degraded aspen forests of the Republic of Tatarstan, will raise the productivity of Tatarstan forests in 3-5 times.

ЛЕСНЫЕ ИННОВАЦИОННЫЕ БИОТЕХНОЛОГИИ: СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ

Шестибратов К.А.

Филиал учреждения Российской академии наук Института биоорганической химии

им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова,

142290, Россия, Московская обл., г. Пущино, пр-т Науки, 6

По экспертным оценкам лесной сектор, как и большая часть отраслей экономики России, находятся на *четвертом технологическом укладе*. В то же время в развитых странах уже происходит подготовка к переходу отдельных отраслей экономики на *седьмой технологический уклад* с основным акцентом на биологические технологии.

Основные мировые тренды развития лесного сектора: а) повышение значимости лесных ресурсов в энергетике; б) повышение продуктивности и устойчивости лесных насаждений; в) увеличение доли лесных плантаций; г) сокращение числа основных пород; д) повышение инновационной активности; е) концентрация наукоемких технологий в частном секторе. Биологические технологии в каждом из перечисленных трендов играют значимую роль.

В лесном хозяйстве биологические технологии находят применение при а) проведении селекционных работ; б) производстве посадочного материала; в) мониторинге фитосанитарного состояния питомников и лесонасаждений; г) паспортизации семян и лесосеменных плантаций; д)

защите растений от вредителей и фитопатогенов.

Основные проблемы биотехнологии в лесном секторе экономики РФ следующие: а) преобладает неглубокая переработка сырья; б) низкий спрос на инновации со стороны отрасли; в) несовершенство законодательной базы; г) преобладает импорт готовых продуктов и реже технологий; д) дефицит квалифицированных кадров; е) недофинансирование сектора генерации знаний; ж) устаревшая материально-техническая база. «Точечный подход» в решении данных проблем на государственном уровне не приведет к качественным изменениям. Необходимо выработать единую стратегию *системного подхода* с учетом специфики и национальных особенностей отрасли. Возможными вариантами реализации системного подхода являются федеральная целевая программа или национальный проект по модернизации лесного хозяйства.

INNOVATIVE FOREST BIOTECHNOLOGY: STATE OF THE ART AND PROSPECTS OF DEVELOPMENT

Schestibratov K.A.

Branch of Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, 142290 Science Avenue 6 Pushchino, Moscow Region, Russia

Based on the expert judgements technological setup of the forest sector of Russian economy like many other sectors corresponds to the fourth level. At the same time some developed countries are ready for transition into seventh level of technological setup with a main emphasis on biotechnology.

Main trends of forest sector development in the world are: a) greater significance in energy production; b) forest productivity and sustainability improvement; c) expansion of forest plantations; d) reduction of woody species number used in forestry; e) increment of innovation activity in forest sector; f) high technology concentration in a private sector. Biotechnology has an important function in all trends of development.

Biological technologies are used in forestry: a) in the breeding of woody plants; b) for planting stock production; c) in phytopathology monitoring of forest nurseries and plantations; d) for seed and seed orchards certification; e) for plant protection.

General problems of biotechnology in forest sector of Russian economy are: a) predominate not-too-deep processing of wood; b) low demand of forest sector for innovations; c) imperfection of legislation; d) import predomination of ready for use product and technology; e) deficit of skilled personals; f) low financing of knowledge generation sector; g) outdated material and technical basis. Application of “*point approach*” for problem solving at the government level is not effective way. It is necessary to develop general strategy of *systemic approach* taking into account biological and national specificity of forest sector in Russia. Possible way of *systemic approach* realization is a federal goal-oriented program or national project of forestry modernization.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ В ЛЕСНОМ СЕМЕНОВОДСТВЕ

Шишкина О.К., Завистяева М.А.,

ФГУ «Российский центр защиты леса»,

Пушкино, Московская обл., ул. Надсоновская, д. 13, Россия

В работе представлены результаты практического использования методов молекулярной генетики для идентификации клонов плюсовых деревьев основных лесообразующих пород на объектах единого генетико-селекционного комплекса (ЕГСК) России. Идентификация клонов имеет очень большое значение в лесном семеноводстве, поскольку необходимо произвести уточнение схем их размещения с целью разработки рекомендаций по их дальнейшему практическому использованию или реконструкции. Определить генетическую принадлежность клонов по фенотипу и биометрическим показателям не представляется возможным, поэтому в работе использовались методы анализа ДНК.

Объекты исследования – плюсовые деревья, лесосеменные плантации (ЛСП) и архивы клонов (АК) сосны обыкновенной, ели европейской, лиственницы и сосны кедровой сибирской. Для идентификации клонов применялся RAPD анализ ДНК (Random Amplified Polymorphic DNA), для составления генетических паспортов плюсовых деревьев – микросателлитный анализ ДНК (Simple Sequence Repeat – SSR анализ), для генетической идентификации семян апробируется метод определения митохондриальной ДНК, который позволяет определить по количеству материнских линий в принадлежности семян к ЛСП или естественному насаждению.

Сделан генетический анализ и уточнены схемы размещения рамок клонов сосны обыкновенной на ЛСП и АК Московской, ЛСП Тверской области и АК Нижегородской области более чем на 60 га.. В настоящее время проводится генетический анализ ЛСП и АК ели европейской в Московской области и ЛСП и АК сосны сибирской кедровой в Красноярском крае.

За 2009-2010 г.г. протестировано 11248 деревьев сосны обыкновенной, 2000 деревьев ели европейской и 600 деревьев сосны сибирской кедровой, для чего сделано более 70 000 анализов ДНК.

PRACTICAL USE OF MOLECULAR GENETIC TECHNIQUES IN FOREST SEEDS GROWING

Shishkina O.K., Zavistjaeva M.A.,

State Institution Russian Centre of Forest Health,

Pushkino, Moscow Region, Nadsonovskaya, 13, Russia

The results of the practical use of molecular genetics to identify clones of plus trees of the main tree species at sites of Russian united genetic-breeding complex (EGSK) are presented. Identification of clones is very important in forest seed farming, since it is necessary to make clarification of their distribution patterns in order to develop recommendations for further practical use or reconstruction. Because it is not possible to determine the genetic affiliation of clones by phenotype and biometric indicators, we used methods of DNA analysis.

Objects of research are plus trees, forest seed orchards (FSO) and the archives of the clones (AC) of Scots pine, Norway spruce, larch and Siberian cedar pine. To identify the clones RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) analysis of DNA was used; to produce genetic passports of plus trees we applied

Microsatellite DNA analysis (Simple Sequence Repeat - SSR analysis), for the genetic identification of seeds the method for determination of mitochondrial DNA which allows us to determine the seeds belonging to the FSO or to the natural forest stand by the number of maternal lines is being tested.

The genetic analysis of clones of Scots pine was made and their location in FSO and AC of Moscow region, FSO of Tver region, AC of Nizhny Novgorod region was refined. At present, genetic analysis of the spruce FSO and AC in the Moscow region and of the Siberian cedar pine FSO and AK in the Krasnoyarsk region on an area of more than 80 hectares are carried out.

During the years 2009-2010 11248 pine trees, 2000 trees of Norway spruce and 600 trees of Siberian cedar pine were analyzed, which made more than 70,000 DNA tests.

ОДНОРОДНОСТЬ КЛОНИРОВАННЫХ РАСТЕНИЙ В ЛЕСНЫХ КУЛЬТУРАХ

Жигунов А.В., Шабунин Д.А., Антонов О.И.

*Санкт-Петербургский НИИ лесного хозяйства,
СПб, Институтский пр., 21*

Однородность сырья – одно из возможных преимуществ плантационного лесовыращивания на основе клонированного посадочного материала.

Культуры березы из клонированного посадочного материала были созданы СПбНИИЛХ-ом в 35 кв. Онцевского участкового л-ва (Гатчинское лесничество Ленинградской области) в 1994 г. В настоящее время им 16 лет. Для сравнения были подобраны наиболее близкие по параметрам культуры березы из семенного посадочного материала в 105 кв. в Орлинском участковом лесничестве. В этих культурах были проведены учеты на двух участках: контроль и с разреживанием (23% по числу стволов) в 2007 г (17 лет на момент учетов).

Таблица – Биометрические показатели культур березы

Участок культур		Диаметр		Высота	
		средний, см	коэф. вариации	средняя, м	коэф. вариации
Онцевское участковое л-во кв. 35	клон 1	5,3±0,3	0,235	7,4±0,2	0,116
	клон 2	6,1±0,3	0,218	8,5±0,3	0,119
	клон 3	5,2±0,1	0,041	5,1±0,2	0,077
Орлинское участковое л-во кв. 105	разреживание	10,4±0,3	0,217	11,9±0,2	0,096
	контроль	9,3±0,4	0,314	12,1±0,3	0,171

Сравнение биометрических показателей культур, созданных семенным посадочным материалом, и культур, созданных из клонированного посадочного материала, показывает, что клонированный материал действительно обеспечивает более ровные биометрические показатели. Особенно ровными показателями отличается низкорослый клон №3 с узорчатой древесиной. Это объясняется тем, что за счет небольшой высоты особи этого клона меньше конкурируют между собой за световое довольствие. При том же диаметре, но с большей высотой (клон 1) уже наблюдается взаимное затенение крон, вследствие чего происходит дифференциация растений в посадках. Анализируя коэффициенты вариации биометрических показателей культур, можно заключить, что эффект от применения клонированного посадочного материала примерно равен вырубке 20% худших экземпляров.

HOMOGENY OF CLONED PLANTS IN FOREST PLANTATIONS

Zhigunov A.V., Shabunin D.A., Antonov O.I.

St. Petersburg Forestry Research Institute, 21, Institutsky prospect, St. Petersburg

Homogeneity of raw material is one of potential advantages of forest plantations created with cloned planting stock.

Birch plantations produced from cloned planting stock (three different clones) were established by St. Petersburg Forestry Research Institute in the Ontsevskeye local forestry, Compartment 35, (Gatchina forestry of Leningrad oblast) in 1994. They are 16 years old now. We compared the forest cultures produced from cloned planting stock with the forest cultures in the Orlinskoye local forestry, Compartment 105, similar in parameters but produced from planting stock grown from seeds. In Compartment 105 the inventory was made at two plots: a control area and a thinned area—23% of the worst trees were removed in 2007. The cultures were 17 years old by the time of the inventory.

Table. Biometric measures of the birch plantations.

Cultures		Diameter		Height	
		average, cm	variation coefficient	average, m	variation coefficient
Ontsevskeye local forestry, Compartment 35	Clone 1	5.3±0.3	0.235	7.4±0.2	0.116
	Clone 2	6.1±0.3	0.218	8.5±0.3	0.119
	Clone 3	5.2±0.1	0.041	5.1±0.2	0.077
Orlinskoye local forestry, Compartment 105	Thinning	10.4±0.3	0.217	11.9±0.2	0.096
	Control	9.3±0.4	0.314	12.1±0.3	0.171

The comparison of the biometric measures of the forest plantations produced from cloned planting stock with the forest plantations produced from planting stock grown from seeds shows that the cloned planting stock provides more steady biometric measures. The most stable results have been obtained for low-growing clone with figured wood N3, which is due to the fact that low-growing specimens of this clone do not compete much with each other for light. At the same time, taller clones (clone N1) of the same diameter shade each other with their crowns, which leads to differentiation between plants. Analyzing the variation coefficients of the biometrical measures, it may be concluded that the effect of using the cloned planting stock is approximately equal to cutting of 20 % of the worst trees.

КАРЕЛЬСКАЯ БЕРЕЗА В КАРЕЛИИ: РЕСУРСЫ И ВОСПРОИЗВОДСТВО

Ветчинникова Л.В.

Учреждение Российской академии наук Институт леса Карельского научного центра РАН, Россия, 185910, Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11

Карельская береза *Betula pendula* Roth var. *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti, благодаря высокодекоративной узорчатой текстуре древесины, а также ограниченности ресурсов, высоко ценится во всем мире. Целенаправленное изучение и поиск путей преумножения ее ресурсов

начались относительно недавно (менее 100 лет). Именно в Республике Карелия все эти годы карельская береза оставалась предметом особого внимания, с одной стороны, направленного на ее сохранение и размножение, а с другой, – использования.

К началу XXI века карельская береза, у которой практически отсутствует естественное возобновление, оказалась под угрозой исчезновения в пределах всего ареала. Так, в Республике Карелия к 1970 г. в природных условиях произрастало 4,8 тыс. деревьев, но к 2003 г. их численность снизилась практически наполовину. Изучение генетической структуры популяций карельской березы в Карелии вскрыло основные популяционно-генетические эффекты, которые свидетельствуют о деградации ее популяций. В связи с этим проблема сохранения и восстановления генофонда и ресурсного потенциала карельской березы приобрела явную остроту. Для ее воспроизводства нами используются как традиционные методы размножения (гибридизация, прививки), так и нетрадиционные с использованием современных биотехнологий (клональное микроразмножение), ведется создание коллекции клонов *in vitro* и *ex vitro*. Исходным материалом служат селекционно-генетические объекты (плюсовые деревья, архив клонов, плантации, заказники и пр.), созданные в Карелии преимущественно в 1970-е гг.

Работа частично выполнена в рамках Программы «Биологические ресурсы России: оценка состояния и фундаментальные основы мониторинга» по разделу «Биотехнология расширенного воспроизводства биологических ресурсов».

CURLY BIRCH IN KARELIA: RESOURCES AND REPRODUCTION

L.V. Vetchinnikova

*Forest Research Institute, Karelian Research Centre, Russian Academy of Science,
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Russia*

Curly (Karelian) birch *Betula pendula* Roth var. *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti is highly valued all around the world owing to its very decorative wood figure and scant resources. Targeted study and search for the ways to amplify its resources started fairly recently (less than 100 years ago). It is in Republic of Karelia that curly birch has through all these years remained in the focus of attention with view to its conservation and propagation on the one hand, and to its utilization on the other.

By the early 21st century, curly birch, which natural regeneration is practically nil, became endangered throughout its local range. E.g., there had been some 4,800 trees growing naturally in Republic of Karelia around year 1970, whereas by 2003 the number dropped nearly twice. Research into the genetic structure of curly birch populations in Karelia revealed major population genetics effects indicating the populations are degrading. Therefore, the problem of conserving and restoring the gene pool and resource potential of curly birch has become especially acute. Propagation efforts that we implement include both traditional methods (hybridization, grafting) and alternative ones based on modern biotechnologies (such as clonal micropropagation). A collection of *in vitro* and *ex vitro* clones is being gathered. Selection facilities such as plus trees, clone archive, plantations and reserves established in Karelia primarily in the 1970s and others serve as a resource material.

The study was partially carried out within the programme “Biological Resources of Russia: state-of-the-art assessment and monitoring basics”, section “Biotechnology of extended reproduction of biological resources”.

БИОТЕХНОЛОГИЯ МИКРОКЛОНАЛЬНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ ЧЕРЕЗ СОМАТИЧЕСКИЙ ЭМБРИОГЕНЕЗ В КУЛЬТУРЕ IN VITRO У ХВОЙНЫХ В СИБИРИ

Третьякова И.Н., Барсукова А.В., Носкова Н.Е., Бажина Е.В. Ворошилова Е.С.,
Шуваев Д.Н.

Учреждение Российской академии наук Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН, г.Красноярск, Россия

Эксперименты по культивированию незрелых зиготических зародышей видов хвойных, произрастающих в Сибири: *Larix sibirica*, *L. gmelinii*, *L. sukaczewii*, *Pinus sibirica*, *P. pumila*, *Picea ajaensis*, *Abies sibirica* Ledeb., были проведены на средах MS, MSG, LV, DCR и MA с разной концентрацией гормонов и в разном соотношении их друг с другом. Для индукции эмбриогенного каллуса каждый вид нуждался в оптимизации среды, дополненной глутамином, гидролизатом казеина и аскорбиновой кислотой. Активная пролиферация эмбиональной массы (ЭМ) шла на тех же средах с уменьшенной концентрацией цитокининов. Соматические зародыши вызревали на базальной среде с АБК и ПЕГ. Несмотря на видовую специфику, морфогенез эмбриогенных структур шел по одной схеме: растяжение соматических клеток, и их ассинхронное деление, образование глобулярных и торпедообразных зародышей и формирование их биполярной структуры. Экспланты только единичных донорских растений формировали эмбриогенный каллус. Были получены четыре эмбриогенные клеточные линии у *L. sukaczewii*, одна клеточная линия у гибрида *L. sukaczewii* x *L. sibirica*, одна клеточная линия у *Picea ajaensis* и две клеточные линии у *Pinus pumila*. Клеточные линии отличались по пролиферационной активности. Число соматических зародышей в 100мг пролиферирующей эмбриональной массы у разных видов варьировало от 210 до 390 шт. Спада пролиферационной активности за 24 месяцев культивирования у не наблюдалось. Успех соматического эмбриогенеза зависел от стадии развития экспланта, компонентов среды, гормональной регуляции и генотипа дерева.

Работа поддержана РФФИ (гранты № 08-04-00107, № 09-04-98008) и интеграционным проектом № 53.

BIOTECHNOLOGY OF MICROCLONAL PROPAGATION BY SOMATIC EMBRYOGENESIS IN SIBERIA CONIFERS IN CULTURE IN VITRO

Tretyakova I.I., Barsukova A.V., Noskova N.Ye., Bazhina E.V., Voroshilova E.S. Shuvaev D.N.

V.N. Sukachev Institute of Forest, Siberian Branch, Russian Academy of Science, Krasnoyarsk, Russia

Experiments of culturing the immature isolated embryos of Siberian coniferous species were carried out on modified media MS, MSG, LV, DCR and MA with different hormone concentrations and their different proportions.. For induction of embryogenic callus every species needs the optimized medium supplemented with L-glutamine, casein hydrolysate, ascorbate acid and hormones. The active proliferation of embryonal mass (EM) is observed on the same medium with reduced concentration of cytokinins. The somatic embryos from embryonal mass mature on basal medium with ABA (16-32 mg/l) and 10 % PEG. In spite of species specificity the morphogenesis of embryogenic structures had the same scheme: elongation of somatic cells, formation of initial cells and embryonal tubes, development of globular, torpedo and bipolar somatic embryos. However, not all donor-plants of coniferous species can form morphogenic callus and somatic embryos. We have found 4 selective cell lines in *Larix sukaczewii* x *L.sibirica*, 1 lines in *Picea ajaensis* and 2 in *Pinus pumila* which differ in proliferation activity. The number of somatic embryo

in 100mg proliferation embryonal mass in different species is varied from 210 to 390. The proliferation activity is not decreased during 24 month of cultivation. The success of the somatic embryogenesis is due to the stage of explant development, medium components, hormonal regulation and tree genotypes.

ПОСТЕРЫ POSTERS

ОБСЛЕДОВАНИЕ БЕРЕЗНЯКОВ В ЦЕЛЯХ ПОВЫШЕНИЯ ИХ ПРОДУКТИВНОСТИ МЕТОДОМ МИКРОКЛОНАЛЬНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ (IN VITRO) В ЛЕСАХ РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН

Газизуллин А.Х., Ахмадуллин И.Ш.

ФГОУ ВПО «Казанский государственный аграрный университет»;
420015, г. Казань, ул. К.Маркса, 65

В современном развитии общества выделяют четыре основных направления: нанотехнологии (атомы), интернет (нейтроны), компьютеры (биты) и биотехнология (гены). Генетическая инженерия, геномная расшифровка открыла новые горизонты в практической деятельности человека.

Повышение эффективности лесного хозяйства, быстроты роста и качества древесины культивируемых пород – одна из важнейших задач в лесном секторе страны. Плантационный способ выращивания быстрорастущих высокопродуктивных пород, созданных путем микроклонального размножения (метод in vitro) является одним из способов решения этой проблемы.

В условиях Республики Татарстан - наиболее распространенной быстрорастущей породой является береза повислая (*Betula pendula* Roth.). Березовые леса в Республике Татарстан занимают более 200 тыс.га, около 17% от всей лесной площади. Древесина березы – твердая, является лучшим сырьем для производства фанеры, широко применяемой в мебельной, строительной индустрии. Но подверженные из-за нерациональных рубок в 40-60гг. деградации, березняки, нуждаются в обследовании и в современных методах размножения.

Комплексное обследование березняков, в целях отбора элитных форм березы проведено нами в Нурлатском и Билярском лесничествах в 2010г. В ходе закладки постоянных пробных площадей в высокопродуктивных древостоях, наряду с таксационной характеристикой, были отобраны листовые пластинки и отправлены в ФИБХ РАН, г. Пущино, для определения плоидности. Результаты исследования показали, что обследованные модельные деревья характеризуются разным набором хромосом (диплоидные, триплоидные). Отобранные элитные деревья будут использованы в качестве донора при создании высокопродуктивных плантаций.

SURVEY OF BIRCH IN ORDER TO INCREASE THEIR PRODUCTIVITY BY MICROPROPAGATION (IN VITRO) IN THE FORESTS OF THE REPUBLIC OF TATARSTAN

A.H.Gazizullin, I.Sh.Akhmadullin

Kazan State Agrarian University; Kazan, Russia

In modern development of a society divided into four basic directions: nanotechnologies (atoms), the internet (neutrons), computers (bits) and biotechnology (genes). The genetic engineering, gene transcript has opened new horizons in the practical activities of the man.

Improving of efficiency of a forestry, speed of growth and quality of wood of cultivated breeds – one of the major problems in forest sector of the country. The plantation way of cultivation of the fast-growing highly productive breeds created by micropropagation (a method in vitro) is one way of solving this problem.

In the conditions of Republic of Tatarstan - the most widespread fast-growing breed is the birch (*Betula pendula* Roth.). Birch forests in Republic Tatarstan took more than 200 thousand hectares, about 17 % of the total forest area. Birch wood – hard, is the best raw materials for manufacture of the plywood widely applied in the furniture, construction industry. But the subject because of unsustainable logging in 40-60 the degradations, birch forests, need to survey and in modern methods of reproduction.

Comprehensive survey of birch forests, with a view of selection of elite forms of a birch held by us in Nurlatsky and Biljarsky forest areas in 2010. During the bookmark permanent plots in the high-forest stands, along with taxation characteristics were selected leaf blades and transported to city Pushchino the Russian Academy of Sciences, for definition ploidy. The results of research showed that the surveyed model trees are characterized by different sets of chromosomes (diploidic, triploidic). The selected elite trees will be used as the donor at creation of highly productive plantations.

ОТБОР ЭЛИТНЫХ ФОРМ ОСИНЫ (*POPULUS TREMULA L.*) В ЛЕСАХ РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН В СОЧЕТАНИИ С ТЕХНОЛОГИЕЙ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ

Газизуллин А.Х.¹, Гарипов Н.Р.¹, Пуряев А.С.²

¹ФГОУ ВПО «Казанский государственный аграрный университет»;
420015, г. Казань, ул. К.Маркса, 65

²ФГУ ВНИИЛМ «Восточно-европейская лесная опытная станция»;
420097, г. Казань, ул. Товарищеская, 40

В целях выявления высокопродуктивных, устойчивых к грибным болезням клонов осины, их приуроченности к определенным почвенно-грунтовым условиям, анализа формового разнообразия осины, произрастающей в лесах Республики Татарстан (РТ) начиная с 2007 года нами ежегодно проводились экспедиции для исследования осинников РТ. За четыре года проведено обследование осиновых древостоев на площади более 100 тыс. га.

В процессе исследований наиболее высокопродуктивные и здоровые осинники выявлены на территории Нурлатского лесничества Министерства лесного хозяйства Республики Татарстан. Параметры таксационных показателей модельных деревьев лесничества характеризуются очень высокой продуктивностью.

Летом 2010 года в Нурлатское лесничество вновь была организована экспедиция, в ходе которой были заложены новые постоянные пробные площади с отбором проб листьев для последующего проведения молекулярно-биологического анализа статуса пloidности в Группе лесной

биотехнологии Филиала учреждения Российской академии наук Института биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова, г. Пущино, Московская область. Предварительные результаты анализа показали наличие явления миксоплоидии. Практическим аспектом, связанным с фактором плоидности породы, является выявление и анализ плюсовых триплоидных форм (в том числе гибридов) осины, а также диагностика геномных мутаций в ходе размножения ценных генотипов в условиях *in vitro*.

SELECTION OF ELITE FORMS OF ASPEN (*POPULUS TREMULA L.*) IN FORESTS OF THE REPUBLIC OF TATARSTAN IN A COMBINATION TO TECHNOLOGY OF MOLECULAR MARKERS

A.H. Gazizullin¹, N.R. Garipov¹, A.S. Puryaev²

¹Kazan State Agrarian University; Kazan, Russia;

²East-European forest trial station; Kazan, Russia

Since 2007 in order to identify highly resistant to fungal diseases aspen clones, their interconnection to specific soil conditions, the analysis diversity of aspen forms growing in the forests of the Republic of Tatarstan (RT) we have conducted an annual researches of the aspen stands of RT. For four years we explored aspen stands on more than 100 thousand hectares.

During investigations we identified the most highly productive and healthy aspen stands in Nurlatskoe forestry of Tatarstan. Taxation parameters of model trees in this forestry characterized by very high productivity.

In the summer of 2010 we organized the expedition in Nurlatskoe forestry, during which the leaves were sampled for subsequent molecular biological analysis of ploidy in Forest Biotechnology Group of the Branch of the M.M. Shemyakin–Yu.A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Pushchino, Moscow Region. Preliminary analysis showed the presence of the mixoploidy. Results of ploidy assessment will be used for the identification and analysis triploid forms (including hybrids) of aspen and for diagnosis of genomic mutations during *in vitro* propagation of valuable genotypes.

ИССЛЕДОВАНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ ПЛЮСОВЫХ ДЕРЕВЬЕВ PINUS SYLVESTRIS ISSR-МАРКЕРАМИ

Шейкина О.В., Новиков П.С., Милутина Т.Н.

Марийский государственный технический университет
424000, Россия, г. Йошкар-Ола, пл. Ленина, 3

Сосна обыкновенная одна из наиболее распространенных лесных видов в России. Для разработки научных основ формирования генетико-селекционного комплекса необходимы молекулярно-генетическое изучение плюсовых деревьев.

Для изучения генетической изменчивости плюсовых деревьев сосны обыкновенной были использованы пять ISSR маркеров ((CA)₆AGG, (CA)₆AC, (GA)₈T, (AG)₈C и (AG)₈GCA). Образцы были собраны на архиве клонов в Республике Марий Эл. Общая ДНК была выделена стандартным методом Rogers и Benedich. Амплификация ДНК проводилась в термоциклере MJ Mini™ Gradient Thermal Cycler (Bio-Rad), с использованием следующей программы: 5 минут при 94°C for 5 min, 45 циклов 30 сек при 94°C, 45 сек при 60°C и 120 сек при 72°C, и финальный шаг 7 минут при 72°C. Реакционная система включала 1 мкл ПЦР буфера, 0,2 мкл 10mM dNTPs, 0,1 мкл 100 мкМ праймер, 0,1 мкл Tag DNA polymerase (2ед/мкл) и 1 мкл ДНК, итоговый объем 10 мкл. Для проведения ПЦР реакций были использованы наборы «Encyclo PCR kit» (Evrogen, Russia). ПЦР продукты определялись с помощью электрофореза в 2,0% агарозном геле и фотографирования в геледокументирующей системе GelDoc 2000 (Bio-Rad). Молекулярная масса устанавливалась с использованием ДНК-маркера 100 bp + 1.5 Kb (СибЭнзим). Математический анализ был выполнен в программе POPGENE32.

Пять используемых праймеров амплифицировали 37 полос. Для 45 плюсовых деревьев из Республики Марий Эл, Чувашской Республики, Кировской и Нижегородской областей были рассчитаны среднее число аллелей (A), число эффективных аллелей (Ne), генетическое разнообразие по Нею (H) и индекс разнообразия по Шаннону (I).

GENETIC VARIATION RESEARCH OF PINUS SYLVESTRIS PLUS TREES BY ISSR MARKERS

Sheykina O.V., Novikov P.S., Milutina T.N.

Mari state technical university
424000, Russia, Yoshkar-Ola, Lenin Square 3

Pinus sylvestris is one of the more widespread forest species in Russia. Molecular-genetic studying of pine plus trees is necessary to development of the scientific basis of genetic-selection complex forming.

Five ISSR markers ((CA)₆AGG, (CA)₆AC, (GA)₈T, (AG)₈C и (AG)₈GCA) were used to detect genetic variation among Pinus sylvestris plus trees. Samples were collected from 45 individuals in clone archive in Republic Mari El. Total DNA was extracted from needle by standards method of Rogers and Benedich. DNA amplifications were performed using the MJ Mini™ Gradient Thermal Cycler (Bio-Rad), programmed 94°C for 5 min, 45 cycles of 94°C for 30 sec, 60°C for 45 sec and 72°C for 120 sec, a final step of 7 min at 72°C. Reaction system includes 1 µl PCR buffer, 0,2 µl 10mM dNTPs, 0,1 µl 100 µM primer, 0,1 µl Tag DNA polymerase (2u/µl). Shannon's index of diversity (I) were calculated for 45 plus trees from Republic Mari El, Chuvash Republic, Kirovskiy area and Nizhegorogskiy area.

СОЗДАНИЕ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ОСИНЫ *POPULUS TREMULA* С ГЕНОМ КСИЛОГЛЮКОНАЗЫ XEG1 И ИНВЕРТИРОВАННЫМИ ПОВТОРАМИ ГЕНА 4-КУМАРАТ СОА ЛИГАЗЫ

А.С.Подрезов,^{1,2} К.А.Шестибратов¹

¹ Филиал Учреждения Российской академии наук Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пущино;

² Пущинский Государственный Университет, Пущино.

В настоящее время метод генетической модификации свойств растений путем агробактериальной трансформации, в силу ряда преимуществ, является перспективной альтернативой традиционным способам селекции лесных пород. Метод позволяет за короткие сроки получить новые формы растений с заданными признаками.

В результате агробактериальной трансформации штаммом *Agrobacterium tumefaciens* CBE21, с бинарным вектором pBI-4CL получено 12 канамицин-устойчивых линий (Pt XIII 4CL 1a - Pt XIII 4CL 4c). ПЦР-анализ данных линий показал наличие гена канамицин-фосфотрансферазы nptII и фрагмент гена 4CL. Анализ продуктов показал, что все линии содержат целевые фрагменты.

Встраиваемая экспрессионная кассета содержит инвертированные повторы гена 4CL длиной 199 пар оснований. Экспрессия данной конструкции приводит к ингибированию экспрессии гена 4-кумарат СоА лигазы, участвующего в биосинтезе лигнинов. В настоящее время проводится анализ свойств лигнин-целлюлозы и ростовых показателей данных линий.

Также были получены 18 регенерировавших линий осины после агробактериальной трансформации конструкцией, содержащей ген ксилоглюконазы под управлением вирусного 35S промотора, а также селективный ген nptII. ПЦР-анализ с праймерами к гену nptII показал наличие вставки в 11 линиях. В дальнейшем планируется проверка наличия целевого гена ксилоглюконазы, а также тепличные испытания и исследования состава целлюлозы.

Полученные растения с улучшенными свойствами будут рассматриваться как предпочтительное сырье для целлюлозно-бумажной промышленности и лесной биоэнергетики.

THE CREATION OF ASPEN (*POPULUS TREMULA*) TRANSGENIC PLANTS CONTAINING XYLOGLUCONASE GENE XEG1 AND INVERTED REPEATS OF 4-COUMARATE:COENZYME A LIGASE GENE

A.S.Podrezov,^{1,2} K.A.Shestibratov¹

¹ Branch of Shemyakin and Ovchinnikov institute of bioorganic chemistry Russian Academy of Sciences, Pushchino;

² Pushchino State University, Pushchino.

At present the genetic modification of plant properties method by agrobacterial transformation seems to be promising alternative to traditional breeding means. This method gives the possibility to obtain new plants with specified properties very fast.

Agrobacterial transformation was carried out with *Agrobacterium tumefaciens* CBE21 strain, containing recombinant plasmid pBI-4CL. 12 lines of kanamycin-resistant regenerated plants Pt XIII 4CL 1a - Pt XIII 4CL 4c were obtained. To confirm the presence of transgene in obtained lines we have carried out PCR with primers for amplification of transferred construction containing neomycin phosphotransferase gene and 4CL gene inverted fragments. The analysis of products revealed that all lines contained target fragments.

Integrated expression cassette contains inverted repeats of 4CL gene, 199bp in length. Expression of this construction leads to inhibition of expression of 4- coumarate:coenzyme A ligase gene, which participates in lignin biosynthesis. At present the analyses of lignin-cellulose property and grow rate of these lines are carried out.

It were also obtained 18 regenerated lines of aspen after agrobacterial transformation with construct, which contained both xylogluconase gene under control of virus 35S promoter and selective gene nptII. PCR-test with primers for amplification nptII gene showed presence of transgene in 11 lines. In future we will have check of Xeg gene presence, study in greenhouse and analyse of cellulose content.

The obtained plants with improved properties can be considered as preferable feed stock to pulp-and-paper and forest bioenergy.

СОЗДАНИЕ И АНАЛИЗ ТРАНСГЕННЫХ ЛИНИЙ БЕРЕЗЫ С ГЕНОМ ГЛУТАМИНСИНТЕТАЗЫ СОСНЫ *GS1*

Салмова М.А.^{1,2}, Шадрин Т.А.¹, Шестибратов К.А.¹

¹ Филиал Учреждения Российской академии наук Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, 142290, Московская обл., г. Пущино, пр-т Науки, д. 6;

² Пущинский государственный университет, 142290, Московская обл., г. Пущино, пр-т Науки, д. 3.

Один из способов получения форм лесных пород с новыми характеристиками – это генетическая трансформация. Продуктивность древесных растений может быть увеличена путем модификации метаболизма азота.

Проведена серия агробактериальных трансформаций с целью создания форм с модифицированным метаболизмом азота – суперэкспрессией гена глутаминсинтеказы сосны *gs1*. В экспериментах по генетической трансформации использован генотип *Betula pubescens* бп3f1. Для проведения агробактериального переноса использован супервирулентный штамм СВЕ21, несущий бинарный вектор pGS с геном *gs1* под контролем 35S промотора. Присутствие гена было подтверждено методом ПЦР у 35 линий.

Все линии с геном *gs1* использовали для проведения испытаний в защищенном грунте с целью оценки фенотипических проявлений рекомбинантного гена. Проведено два независимых эксперимента. В первом эксперименте после одного сезона выращивания оценивали рост и развитие растений следующими параметрами: высота стебля, общая биомасса, масса стебля, масса корневой системы, длина корневой системы. По результатам выделено 4 перспективные линии – F14GS11a, F14GS11b, F14GS11c, F14GS13a. Во втором эксперименте после двух сезонов роста растений биометрические анализы проводили по таким параметрам, как высота стебля, суммарный годовой прирост и диаметр корневой шейки. У линий F14GS2b, F14GS13b, F14GS23a и F14GS23b ростовые показатели были выше контрольных значений на 15 – 60 %.

В дальнейшем запланированы испытания всех перспективных клонов трансгенных форм березы с повышенной продуктивностью в полевых условиях. По результатам полевых испытаний данные клоны могут быть рекомендованы для создания быстрорастущих лесных плантаций.

CREATION AND ANALYSIS OF BIRCH TRANSGENIC LINES WITH PINE GLUTAMINE SYNTHETASE GENE GS1

Salmova M.A.^{1,2}, Schadrina T.A.¹, Schestibratov K.A.¹

¹ Branch of Shemyakin & Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry Russian Academy of Sciences, 142290, Pushchino Moscow Region, Science ave., 6;

² Pushchino State University, 142290, Pushchino Moscow Region, Science ave., 3.

Genetic transformation is an alternative method to create forms of woody plants with new characteristic. Plants productivity may be enhanced by means of nitrogen metabolism modification.

The number of agrobacterial transformations was carried out for creation of forms with modified nitrogen metabolism via overexpression pine glutamine synthetase gene *gs1*. The genotype of *Betula pubescens* 6п3f1 was used in genetic transformation experiments. A supervirulent strain CBE21 which contained binary vector pGS with *gs1* gene under the 35S promoter was used for agrobacterial transfer. The presence of this gene was confirmed with PCR method in 35 lines.

All lines with *gs1* were used for carrying out tests in greenhouse in order to estimate appearance of recombinant gene action in phenotype. Two independent experiments were carried out. At first experiment after one season of plant grows next parameters were estimated: length of stem, total biomass, stem mass, root system mass, root system length. Four perspective lines (F14GS11a, F14GS11b, F14GS11c, F14GS13a) were selected after biometric analysis. At second experiment after two seasons of plant grows biometrical analysis were carried out using such parameters as: length of stem, total annual gain and root collar diameter. Growth rate enhancement of F14GS2b, F14GS13b, F14GS23a, F14GS23b lines was 15 – 60 %.

Field trial of all promising transgenic birch lines with enhanced productivity will plan in future. These lines may be recommended for creation of rapid-growing forest plantation after successful field testing.

СЕКЦИЯ 4. «БИОТЕХНОЛОГИЯ И ПРОМЫШЛЕННОСТЬ» SECTION 4. "BIOTECHNOLOGY AND INDUSTRY"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ ORAL REPORTS

КОМПЛЕКТНОЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОРУДОВАНИЕ СЕРИИ «ОКА-02» НА ОСНОВЕ БИОРЕАКТОРОВ СО СТЕКАЮЩИМИ ПЛЕНКАМИ ДЛЯ ЖИДКОФАЗНЫХ И СОВМЕЩЕННЫХ ПРОЦЕССОВ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

**Кудряшов В.К., Редикульцев Ю.В., Голиченков В.С., Зиновьев М.А.,
Безручко В.В., Сизов А.Н., Тараскевич М.Р., Уграицкий А.А.,
Шевелев Д.А., Ширшиков Н.В., Шкидченко А.Н.**

*Институт биологического приборостроения с опытным производством РАН,
Россия, 142290, г. Пущино Московской области, ул. Институтская, 7.
Тел. (495)624-57-49, E-mail: ibp.ran@yandex.ru.*

Для создания новых эффективных биотехнологических производств пищевых, фармацевтических, химических продуктов требуется современное биотехнологическое оборудование. Осознание необходимости разработки отечественных аппаратных и программных средств для реализации новых биотехнологических процессов, в первую очередь, лабораторного и пилотного уровней, ключ к созданию в России новой конкурентоспособной биотехнологии. В ПНЦ РАН накоплен уникальный опыт создания автоматизированной аппаратуры для культивирования микроорганизмов, начиная с 60-х годов прошлого века. Первые поколения биореакторов создавались для жидкофазного культивирования бактериальных и дрожжевых культур. В дальнейшем параметры аппаратуры совершенствовались, однако, ограничения на применяемые продуценты и культуральные среды, не устранены.

Новое поколение биотехнологического оборудования серии «Ока-02» - комплектное и включает парогенератор, средства стерилизации оборудования, жидких питательных сред и газов, а также современную систему управления и ориентировано на выполнение длительных отъемно-доливных процессов. Биореакторный модуль использует новый принцип организации массообмена, - метод стекающих пленок, который реализуется в системе гидравлически связанных биореакторных емкостей. Отказ от механических устройств перемешивания позволяет свести к минимуму уровень механических ингибирующих воздействий и культивировать, не только бактерии и дрожжи, но и опорозависимые мицелиальные грибы и клетки. Оборудование серии «Ока-02» позволяет осуществлять как жидкофазные процессы культивирования, так и применять новый режим культивирования, получивший название совмещенного, сочетающего черты жидкофазного и твердофазного процессов. При этом обеспечиваются условия масштабирования массообменных параметров при культивировании микроорганизмов на пилотном уровне при объеме биореакторных емкостей 100 литров и на промышленном уровне с емкостями 1000 литров. Мультибиореакторные комплекты оборудования серии «Ока-02», включающих до четырех биореакторов, рассчитаны для реализации многостадийных процессов и имеют перспективу при исследованиях и технологических разработках, основанных на применении ассоциаций микроорганизмов.

UNITIZED BIOTECHNOLOGICAL EQUIPMENT OF THE “OKA-02” SERIES BASED ON BIOREACTORS WITH RUNNING DOWN FILMS FOR LIQUID-PHASE AND COMBINED CULTIVATION OF MICROORGANISMS

V.K.Kudryashov, Yu.V.Redikultsev, V.S.Golichenkov, M.A.Zinoviev, V.V.Bezruchko, A.N.Sizov, M.R.Taraskevich, A.A.Ugraitskiy, D.A.Shevelev, N.V.Shirshikov, A.N.Shkidchenko

Institute for Biological Instrumentation with Manufacturing Facilities

of the Russian Academy of Sciences,

7, Institutskaya str., Pushchino, Moscow region, 142290, Russia

Phone (495)624-57-49, E-mail: ibp.ran@yandex.ru.

Building new efficient biotechnological plants for producing food, pharmaceutical, chemical products needs modern biotechnological equipment. Realization of the need to design national hardware and software for performing new biotechnological processes, primarily of laboratory and pilot levels, is the key to the creation of new competitive biotechnology in Russia. The Pushchino Research Center of the Russian Academy of Sciences has accumulated unique experience in building automated equipment for microorganism cultivation, starting from the 60s of the last century. The first generations of bioreactors were created for liquid-phase cultivation of bacterial and yeast cultures. Subsequently, the parameters of the equipment were improved but the restrictions for the producers and culture media used were not eliminated.

The new generation of the biotechnological equipment of the “Oka-02” series is unitized and comprises a steam generator, devices for sterilizing equipment, liquid nutrient media and gases, as well as a modern control system, the whole set providing prolonged culture taking-off and fed processes. A bioreactor module employs a new principle of mass exchange performing such a method of running down films which is carried out in a system of bioreactor vessels linked by hydraulic lines between them. Renouncing mechanical stirrers enables us to reduce the level of mechanical inhibiting effects and to cultivate not only bacteria or yeasts but mycelium fungi and cells. The “Oka-02” series equipment enables both carrying out liquid-phase cultivation processes and applying a new cultivation mode named an integrated mode combining the elements of a liquid-phase process and those of a solid-phase one. For all this, it provides for the conditions of scaling mass-exchange parameters in pilot level cultivation with the bioreactor vessels of 100 liters and in industrial level cultivation with capacities of 1000 liters. The multibioreactor sets of equipment of the “Oka-02” series comprising up to four bioreactors are foreseen to carry out multistage processes and are promising in research and in engineering work based on the application of microbial associations.

ПРЕИМУЩЕСТВА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КАПСУЛЬНЫХ И ПАТРОННЫХ ФИЛЬТРУЮЩИХ ЭЛЕМЕНТОВ ПРОИЗВОДСТВА ООО НПП «ТЕХНОФИЛЬТР» В БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ

Муравьев В.Л.

ООО НПП «Технофильтр»

600016, г. Владимир, ул. Б.Нижегородская, 77, Технофильтр

Самый современный уровень производства (чистые зоны, новейшее сервисное и технологическое оборудование) позволяет обеспечивать постоянное высокое качество выпускаемых изделий.

Широкий выбор материалов и конструктивных форм фильтрующих элементов (патронных элементов с общепринятыми типами адаптеров, а также капсул и миникапсул в готовом корпусе) способствует решению большинства поставленных задач фильтрации.

Активное освоение новых направлений (получение стерильной апиrogenной воды, выпуск установок для концентрирования вирусных частиц и наноразмерных объектов, организация дыхания емкостного оборудования) и стабильный рост в традиционных областях применения микрофильтрационного оборудования (осветление, удаление механических примесей и взвешенных частиц, стерилизующая фильтрация, подготовка стерильных газов) свидетельствует об успешном развитии предприятия.

Возможности дальнейшего совершенствования и предложение новых разработок (усовершенствованный прибор контроля целостности мембранных элементов, поставка стерильных апиrogenных изделий в индивидуальной упаковке, создание бактериостатических и бактерицидных мембран) обеспечивают задел для еще большего охвата рынка и уверенного продвижения бренда «Технофильтр» не только на российском рынке, но и далеко за пределами нашей страны.

ADVANTAGES OF USING CAPSULE AND CARTRIDGE FILTER ELEMENTS OF TECHNOFILTER PRODUCTION IN BIOPHARMACEUTICAL TECHNOLOGICAL PROCESSES

Muravyev V.L.

Technofilter Ltd.

B.Nizhegorodskaya 77 Technofilter, Vladimir 600016, Russia

The most advanced level of production (clean rooms, the latest service and technology equipment) allow providing consistent high quality of our products.

A wide range of materials and forms of filter elements (cartridge elements with common types of adapters, as well as capsules and mini capsules in ready sealed container) makes for the success decision of the majority of filtration tasks.

Active opening up of new fields (sterile pyrogen-free water producing, devices for concentration of viral particles and nano-sized objects, sterile equipment ventilation) and steady growth in traditional application areas of microfiltration equipment (purification, removal of mechanical and suspended particles, sterilizing filtration, preparation of sterile gases) indicate the successful development of the works.

Opportunities to further improve and new development offers (improved device for membrane integrity test, sterile pyrogen-free products in individual packaging, bacteriostatic and bactericidal membranes research) provide groundwork for even greater market reach and success for Technofilter brand promotion not only in Russia, but and far beyond.

СОЗДАНИЕ НОВЫХ БИОРАЗЛАГАЕМЫХ ПОЛИМЕРНЫХ КОМПОЗИЦИЙ НА ОСНОВЕ РАЗЛИЧНЫХ КЛАССОВ ПРИРОДНЫХ ПОЛИМЕРОВ

**Прут Э.В.¹, Иорданский А.Л.¹, Роговина С.З.¹, Бонарцев А.П.²,
Бонарцева Г.А.², Ксуджун С.³, Берлин А.А.¹**

¹*Учреждение Российской Академии наук Институт химической физики им.*

Н.Н. Семенова, РАН,

ул. Косыгина 4, Москва, 119991

²*Учреждение Российской Академии наук Институт биохимии им. А.Н. Баха, РАН, Ленинский пр. 33, Москва, 119071 Россия.*

³*Tianan Biopolymer Company, Ningbo, China.*

Среди биоразлагаемых полимеров наиболее перспективными в настоящее время являются поли- α -оксикислоты, особенно полилактиды (ПЛА), поли- β -оксиалканоаты, в частности поли-3-гидроксибутират (ПГБ), а также его сополимер с 3-гидроксиивалериатом (ПГБВ) и природные полисахариды (хитозан). Эти полимеры нетоксичны, источники их получения возобновляемы, не зависят от добычи углеводородов, а продукты распада не вызывают отрицательного воздействия на организм или окружающую среду. Благодаря сочетанию биосовместимости и биodeградации, они являются основой для получения широкого спектра материалов: от имплантатов в кардиохирургии до терапевтических систем адресной доставки лекарственных веществ (ЛВ). В докладе изложены перспективы производства полимерных композиций на основе ПЛА, ПГБ и ПГБВ, показаны преимущества перехода от композиций синтетических полимеров к полностью биоразлагаемым системам на основе природных полимеров и продемонстрирован комплекс проведенных исследований их иерархического строения на различных уровнях. Инновационный аспект доклада включает в себя оригинальную разработку твердофазной технологии смешения жесткоцепных биополимеров, например, ПГБ и хитозана с целью получения нового класса биоактивных композиционных материалов, а также эксперимент и компьютерное моделирование деструкции и транспортных процессов, обеспечивающих пролонгированную доставку ЛВ в локальную область.

Работа выполнена в рамках программы Президиума РАН Фундаментальные науки - медицине.

PRODUCTION OF NEW BIODEGRADABLE POLYMER COMPOSITIONS BASED ON VARIOUS CLASSES OF NATURAL POLYMERS

**Prut E.V.¹, Iordanskii A.L.¹, Rogovina S.Z.¹, Bonartsev A.P.²,
Bonartseva G.A.², Ksudzhun S.³, and Berlin A.A.¹**

¹*Semenov Institute of Chemical Physics of Russian Academy of Sciences, Moscow,*

ul. Kosygina 4, 119991 Russia

²*Bach Institute of Biochemistry of Russian Academy of Sciences,*

Leninskii pr. 33, Moscow, 119071 Russia ³*Tianan Biopolymer Company, Ningbo, China.*

Nowadays among biodegradable polymers the most promising are poly(α -oxyacids), especially polylactides (PLA), poly(β -oxyalkanoates), in particular poly(3-hydroxybutyrate), and also its copolymer with 3-hydroxyvalerate (PHBV) and natural polysaccharides (chitosan). These polymers are nontoxic, their sources are renewable, they do not depend on the hydrocarbon production, and the degradation products do not cause the negative influence on organism or environment. Thanks to the combination of the biocompatibility and biodegradation, abovementioned polymers are base for production of the wide

range of materials: from implants in cardiosurgery to therapeutic systems of the precise drug delivery. The production perspectives of the polymer compositions based on PLA, PHB, and PHBV are presented in this report. The advantages of the transition from the compositions of synthetic polymers to fully degradable systems based on the natural polymers were shown, and the complex of the performed investigations of their hierarchic structure on various levels was demonstrated. The innovative aspect of the report represents the original development of the solid-phase technology of mixing of the rigid-chain biopolymers, for example, PHB and chitosan with the aim to obtain new class of bioactive composite materials, and also the experiment and the computer modeling of destruction and transport processes providing the prolonged delivery of drugs into local area.

This work was performed within the program of Presidium of Russian Academy of sciences Fundamental sciences – medicine.

ПРОИЗВОДСТВО БИОТОПЛИВА ИЗ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ВИХРЕВЫХ ПЛАВАЮЩИХ АКВАРЕАКТОРОВ

Рамазанов ЮА

ООО «Центр вихревых технологий»

НСО р.п. Кольцово, Технопарковая д1

y.ramazanov@rambler.ru www.algaereactor.ru

Растущий объем потребления природных топливных ресурсов (нефти, газа), при сокращении их запасов ставит задачу поиска новых источников энергии. Наиболее перспективным является путь использования возобновляемых экологически безопасных источников энергии.

Микроводоросли по энергетическому выходу значительно превосходят пальмовое и рапсовое масло, обычно применяемое для производства биодизеля, обладают самым эффективным аппаратом **по биоконверсии** солнечной энергии и являются ее природными биоаккумуляторами.

В настоящее время разработку способов выращивания микроводорослей и конструирование различных типов аппаратов для этого ведут многие корпорации.

Однако, созданные конструкции биореакторов для выращивания микроводорослей имеют серьезные недостатки.

В докладе организации Worldwatch Institute, по биотопливу, указано, что разработанные в настоящее время конструкции биореакторов для выращивания водорослей малоэффективны.

Разработан новый концептуальный подход решения задачи экономически эффективной масштабной наработки биомассы микроводорослей и создан вихревой плавающий аквариум для ее реализации.

Вихревые плавающие аквариумы – это принципиально новый тип аппаратов, не имеющих аналогов в мире.

Научная новизна определяется использованием принципиально нового эффективного и экономичного способа объемного перемешивания жидкости структурированным воздушным потоком, вихревым плавающим аквариумом, его реализующим и размещением свободно плавающего аппарата в окружающей воде с использованием ее в качестве основы культуральной жидкости.

Вихревые плавающие аквариумы позволяют использовать дешевые «мягкие» материалы - полимерные пленки, для создания крупнотоннажных аппаратов, поддерживать необходимую температуру в аппарате вне зависимости от ее возможных перепадов в дневное и ночное время. Аквариумы имеют зону повышенной концентрации биомассы, универсальны, обеспечивают

возможность культивирования любых, в том числе и без оболочных форм фотосинтезирующих микроорганизмов, энергоэкономичны.

Проведены лабораторные испытания выращивания микроводорослей в вихревом аквареакторе. Изготовлен опытно-промышленный вихревой плавающий аквареактор объемом 1 куб.м.. Успешно проведены его технические испытания.

Расчетная продуктивность промышленного вихревого плавающего аквареактора 4800г/м²/день(беззольная основа сухого веса).

Разработан также наземный вариант аквареактора.

Размещение вихревых плавающих аквареакторов в бассейнах очистных сооружений предприятий с большим выделением CO₂, в акватории морей, озер, бухт прибрежных мегаполисов, позволяет использовать сточную, морскую, озерную воду в качестве культуральной жидкости, решая задачу масштабной дешевой наработки биомассы микроводорослей, улучшая при этом экологическую обстановку.

BIODIESEL PRODUCTION FROM MICROALGAE USING VORTEX AQUAREACTORS

Ramazanov YA

«Vortex technologies Ltd»

1 Tekhnoparkovaya Str., Koltsovo, 630559

y.ramazanov@rambler.ru www.algaereactor.ru

The increasing level of consumption of natural fuel resources (oil, gas) and the reduction of their supplies pose the problem of search for new energy sources. The most promising way is the use of renewable environmentally safe energy sources.

Microalgae present an effective renewable culture possessing the greatest potential from the point of view of energy production without the use of plough-lands; they consume CO₂ and evolve O₂ in the process of vital activity.

Microalgae considerably surpass palm and rapeseed oils generally used for biodiesel production in energy efficiency.

Microalgae possess the most effective apparatus for bioconversion of solar energy and are its natural bioaccumulators.

At present, a large number of corporations are developing methods for microalgae growth and designs of different types of apparatuses for this purpose.

However, the developed designs of bioreactors for microalgae growth have serious disadvantages.

In the report of the **Worldwatch Institute** on biodiesel, it was noted that the currently available designs of bioreactors for algae growth are ineffective.

We developed *a new conceptual approach* to solution of the problem of economically effective large-scale production of microalgal biomass and created a *floating vortex aquareactor* to implement it.

Floating vortex aquareactors present an entirely new type of apparatuses having no analogues in the world.

The scientific novelty is determined by: the use of an entirely new effective and economical method for mass mixing of fluid by a structured air flow and a floating vortex aquareactor implementing it.

Location of a freely floating apparatus in aquatic environment and its use as a culture fluid.

Floating vortex aquareactors allow:

- to use cheap "soft" materials (polymeric films) for manufacture of large-capacity apparatuses
- to use aquatic environment as a base of culture fluid at microalgae growth

to maintain the required temperature in the apparatus irrespective of possible temperature fluctuations in the daytime and at night

Floating vortex aquareactors: *are universal, provide the possibility of cultivation of any forms of photosynthetic microorganisms including envelope-free ones, are cheap due to the use of film polymeric materials, are energy efficient and do not occupy any land.*

Laboratory tests on growing microalgae in a vortex aquareactor were performed. An experimental-industrial floating vortex aquareactor of 1 cubic meter was manufactured. It successfully passed engineering tests.

The calculated productivity of an industrial floating vortex aquareactor is **4800g/m²/day** (ash-free dry weight).

Also the land variant vortex aquareactors is developed.

The location of floating vortex aquareactors in water areas of seas, lakes, bays of coastal megapolises, in reservoirs of sewage disposal plants at enterprises with massive eduction of CO₂ allows us to use sea and lake water or sewage as a culture fluid at solving the problem of large-scale and low-cost production of microalgal biomass thus improving the environmental situation.

БИОЭЛЕМЕНТОЛОГИЯ

Скальный А.В.,

президент АНО «Центр биотической медицины»

Известно, что химические элементы существуют в организме не сами по себе, но лишь некоторые виды имеют тесное взаимодействие с другими компонентами. Такие подразделения предлагается называть биоэлементами: элементарные единицы функционирования живой материи, которые являются биологически активными комплексами химических элементов в виде атомов, ионов или наночастиц с органическими соединениями экзогенного или биогенного происхождения. Предлагается называть научную дисциплину, которая занимается изучением биоэлементов, биоэлементологией. Эта дисциплина может заложить основу для интеграции биоорганической химии, бионеорганической химии, биофизики, молекулярной биологии и других разделов естественных.

Биоэлемент является элементарной единицей функционирования живой материи, которая представляет собой биологически активный комплекс химических элементов в виде атомов, ионов и наночастиц с органическими соединениями экзогенного (первичного) или биогенного (вторичного) происхождения. Биоэлементы являются предшественниками живой материи, успешное сочетание которых, привело к образованию клеток.

Биоэлементология - это направление фундаментальной науки, изучающей переходное состояние вещества (эволюцию от биологически инертных к живым), формирование и изменение биоэлементов, которые являются жизненно важными или условно эссенциальными для живой материи, под влиянием различных физических взаимодействий и матричного эффекта воды. В отличие от преобладающего в настоящее время молекулярного подхода, который, к сожалению, не решает проблемы возникновения жизни, несмотря на вовлеченность в рассмотрение новых биохимических факторов - нуклеиновых кислот, матричных механизмов преемственности и биохимической памяти, - биоэлементология, на наш взгляд, поможет рассмотреть условия жизни более целостно, потому что наличие биоэлементов уже является самым важным условием для ее поддержания.

BIOELEMENTOLOGY

Anatoly V. Skalny

AS "Center of the biotic medicine", Zemlyanoy val, 46, Moscow, Russia

It is known that chemical elements exist in the organism not by themselves, but in certain species having close interaction with other components. Such units are proposed to be called bioelements: the elementary functioning units of living matter, which are biologically active complexes of chemical elements as atoms, ions or nanoparticles with organic compounds of exogenous or biogenous origin. The scientific discipline, which study bioelements, is proposed to be called bioelementology. This discipline could lay the foundation for the integration of bioorganic chemistry, bioinorganic chemistry, biophysics, molecular biology and other parts of life sciences.

Bioelement is the elemental functioning unit of living matter, which is a biologically active complex of chemical elements as atoms, ions and nanoparticles with organic compounds of exogenous (primary) or biogenous (secondary) origin. Bioelements are precursors of living matter, a successful combination of which led to the formation of cells.

Bioelementology is a direction of fundamental science studying the transition state of the matter (evolution from biologically inert to living), formation and change of bioelements, which are vital or conditionally essential for the living matter, under influence of various physical interactions and matrix effect of water. Unlike the currently prevailing molecular approach, which unfortunately does not solve the problem of the life origin despite the involvement in consideration of new biochemical factors – nucleic acids, matrix mechanisms of continuity and biochemical memory, – bioelementology, in our view, will help to consider the conditions of life more holistically as the presence of bioelements is already the most important condition for its maintenance.

НОВЫЙ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОЦЕСС ПРОДУКЦИИ ЯНТАРНОЙ КИСЛОТЫ ПРИ НИЗКИХ ЗНАЧЕНИЯХ pH

Юзбашев Т.В., Юзбашева Е.Ю., Соболевская Т.И., Лаптев И.А.

Выборная Т.В. и Синецкий С.П.

Всероссийская Коллекция Промышленных Микроорганизмов (ВКПМ), ФГУП Государственный Научно-Исследовательский Институт Генетики и Селекции Промышленных Микроорганизмов, 1-ый Дорожный пр. 1, Москва 117545, Россия

Ферментацию слабых органических кислот, таких как янтарная, экономически выгоднее вести при низких значениях pH. Так, для производства 1 тонны янтарной кислоты необходимо затратить около 0,5 тонны КОН для поддержания нейтральных значений pH. По окончании ферментации, полученную соль – сукцинат необходимо перевести в свободную кислоту, для чего потребуется около 1 тонны серной кислоты. В результате этого на 1 тонну янтарной кислоты будет произведено более 1,5 тонн нерезицируемого сульфата калия в качестве побочного продукта. Среди природных штаммов известно несколько анаэробных бактерий, продуцирующих значительные количества янтарной кислоты, однако особенности их физиологии не позволяют осуществлять процесс при низких значениях pH. В связи с этим нами была предложена новая стратегия по конструированию аэробного эукариотического продуцента на базе штамма дрожжей *Yarrowia lipolytica*, несущего делецию по одному из генов, кодирующих субъединицы сукцинатдегидрогеназы. На основе оригинальной методики с *in vitro* мутагенезом были получены штаммы *Y. lipolytica*, содержащие

Ts-мутации в гене *SDH1*. Мутанты были использованы при оптимизации состава сред для отбора трансформантов, несущих делецию по гену *SDH2*. Последующие несколько этапов селекции позволили нам существенно повысить устойчивость штамма с делецией к янтарной кислоте и получить мутанты, накапливающие до 60 г/л янтарной кислоты без нейтрализации. Таким образом, нами впервые продемонстрирована принципиальная возможность микробиологической продукции янтарной кислоты при низких значениях pH. Перспектива, позволяющая исключить масштабное использование минеральных кислот и щелочей при производстве янтарной кислоты, выглядит обнадеживающей как с точки зрения экономики, так и для окружающей среды.

THE NEW BIOTECHNOLOGICAL PROCESS FOR PRODUCTION OF SUCCINIC ACID AT LOW PH

Yuzbashev T.V., Yuzbasheva E.Y., Sobolevskaya T.I., Laptev I.A., Vybornaya T.V. and Sineoky S.P.
Russian State Collection of Industrial Microorganisms (VKPM), State Research Institute of Genetics and Selection of Industrial Microorganisms,
1-st Dorozhny pr., 1, Moscow 117545, Russia

Biotechnological production of weak organic acids such as succinic acid is most economically advantageous when carried out at low pH. It can be easily estimated that to produce 1 ton of succinate, about half a ton of alkali (KOH) needs to be exhausted to maintain a neutral pH. Subsequently, to obtain the free acid in a downstream purification process, about 1 ton of sulfuric acid will be consumed. As a result, more than 1 ton of inorganic salts will be formed that cannot be recycled but could be utilized. Among naturally occurring microorganisms, several bacterial strains are known to produce considerable amounts of succinic acid under anaerobic conditions but they are inefficient in performing the low-pH fermentation due to their physiological properties. We have proposed therefore a new strategy for construction of an aerobic eukaryotic producer on the basis of the yeast *Yarrowia lipolytica* with a deletion in the gene coding one of succinate dehydrogenase subunits. Firstly an original *in vitro* mutagenesis-based approach was proposed to construct strains with Ts-mutations in the *Y. lipolytica SDH1* gene. These mutants were used to optimize the composition of the media for selection of transformants with the deletion in the *Y. lipolytica SDH2* gene. Subsequent gradual breeding approach substantially improves the strain with deletion for resistance to succinic acid and allowed us to obtain the strains capable to accumulate succinate at the level of more than 60 g l⁻¹ without buffering. Thus for the first time the strain was constructed for succinic acid production under low pH conditions. The opportunity to exclude alkali and mineral acid waste from microbial succinate production seems environmentally friendly and cost-effective.

ПОСТЕРЫ И ПУБЛИКАЦИИ POSTERS AND PUBLICATIONS

НОВЫЕ БИОРАЗЛАГАЕМЫЕ СМЕСИ НА ОСНОВЕ ХИТИНА И ХИТОЗАНА С СИНТЕТИЧЕСКИМИ ПОЛИМЕРАМИ

Алексанян К.В., Роговина С.З.

Учреждение Российской Академии наук Институт химической физики им.

Н.Н. Семенова РАН,

ул. Косыгина 4, 119991 Москва

Непрерывный рост объемов производства полимеров приводит к загрязнению окружающей среды, в связи с чем вопросы их утилизации приобретают все более актуальное значение. Решение этой проблемы может быть достигнуто путем создания биоразлагаемых полимерных материалов, которые могли бы распадаться под действием окружающей среды на безвредные для природы вещества, на основе синтетических и природных полимеров.

Одним из перспективных путей создания подобных систем является получение смесей из природных полисахаридов, в частности, хитина, содержащегося в панцирях ракообразных и являющегося вторым по распространенности полисахаридом в природе, и его деацетилированного производного – хитозана с различными синтетическими полимерами.

В данной работе были исследованы особенности процесса получения двойных смесей хитина и хитозана с полиэтиленом низкой плотности (ПЭНП) и их тройных смесей с полиэтиленоксидом (ПЭО) различной молекулярной массы под действием сдвиговых деформаций и изучены их структура и свойства. Методами рентгеноструктурного анализа и ДСК показано, что в этих условиях происходит аморфизация полимеров. Испытаниями на грибостойкость и исследованиями по выдерживанию образцов в почве было установлено, что добавление ПЭО приводит к увеличению биоразлагаемости композиций.

Проведенные измерения механических параметров полученных образцов показали, что исследуемые композиции на основе хитина и хитозана обладают достаточно высокими механическими характеристиками и могут быть использованы для создания упаковочных материалов, пленок для пищевых продуктов, изделий кратковременного назначения, и т.д.

NEW BIODEGRADABLE BLENDS BASED ON CHITIN AND CHITOSAN WITH SYNTHETIC POLYMERS

Alexanyan Ch.V., Rogovina S.Z.

Semenov Institute of Chemical Physics of Russian Academy of Sciences,

ul. Kosygina 4, 119991 Moscow

Continuous growth of the polymer production volumes leads to environmental pollution, and therefore the problems of their utilization become more and more urgent. This problem can be solved by creation of biodegradable polymer materials, which can be decomposed under the environmental conditions to give harmless products, based on synthetic and natural polymers.

One of the promising ways of creation of such systems is the production of the blends from natural polysaccharides, in particular, chitin which is contained in the crustaceous shields and ranks second among naturally abundant polysaccharides, and its deacetylated derivative – chitosan with various synthetic

polymers.

In the present work the peculiarities of the production process of binary blends of chitin and chitosan with low-density polyethylene (LDPE) and their ternary blends with polyethylene oxide (PEO) of various molecular weight under the action of shear deformation were investigated and their structure and properties were studied. X-ray diffraction and DSC analyses showed that under these conditions the polymer amorphization occurs. Tests on fungus resistance and investigations on exposure of the sample in soil established that addition of PEO leads to increase of biodegradability of the compositions.

Performed measurements of the mechanical parameters of the obtained samples showed that the investigated compositions based on chitin and chitosan have quite high mechanical characteristics and can be used to produce the packaging materials, food films, articles of short-term use, etc.

ИНТЕНСИФИКАЦИЯ ПРОЦЕССА СУШКИ ФОСФОЛИПИДНЫХ КОНЦЕНТРАТОВ ПОДСОЛНЕЧНЫХ МАСЕЛ В РОТАЦИОННО-ПЛЕНОЧНОМ АППАРАТЕ

Алтайулы Сагымбек

*ГОУ ВПО «Воронежская государственная технологическая академия»,
г. Воронеж, Россия, E-mail: sagimbek@mail.ru*

Производство фосфолипидных концентратов подсолнечных масел осуществляется методом гидратации, то есть добавлением воды в масло, при этом фосфатиды коагулируют в виде хлопьев и отделяются. Для увеличения срока хранения и улучшения качества, фосфолипидных концентратов подсолнечных масел гидратационный осадок имеющий, высокую начальную влажность подвергается сушке до содержания влаги в нем менее 1 %.

В роторно-пленочных аппаратах жидкие фосфолипидные эмульсии, в виде пленки распределяются на поверхности внутренней цилиндрической стенки аппарата, и непрерывно подвергаются турбулизации с помощью жестких лопастей, смонтированных на вращающемся роторе. При подводе к ним теплоты и осуществление удаления влаги из них происходит увеличение концентрации сухих веществ, изменение плотности, вязкости, поверхностного натяжения, и теплофизических свойств жидкой среды. Это влечет за собой увеличение общей толщины пленки и толщины пристеночного пограничного слоя, возрастание термического сопротивления пленки, что при одном и том же удельном тепловом потоке ведет к уменьшению коэффициента теплоотдачи при сушке.

Для высушивания фосфолипидной эмульсии предлагается горизонтальный цилиндрический ротационно-пленочный аппарат, содержащий цилиндрический корпус с крышками, обогреваемыми стенками и сепарационной камерой. Аппарат имеет патрубки для подвода и отвода пара, ввода исходного продукта и удаления его концентрата, а также подсоединения к вакуумной системе. Внутри корпуса размещен и закреплен на валах с помощью дисков перфорированный ротор, на наружной поверхности которого расположен полый барабан со звездообразным сечением, вершины которого являются его лопастями, а его кромки по всей своей длине расположены параллельно образующей внутренней поверхности цилиндрического корпуса с постоянным зазором. Лопастей ротора имеют винтообразный и прямолинейный участки, отделенные друг от друга по высоте лопасти перегородкой.

Сушка фосфолипидных концентратов подсолнечных масел на данном аппарате непрерывного действия позволяет получить конечный продукт с высокими качественными показателями.

INTENSIFICATION OF THE DRYING PROCESS OF PHOSPHOLIPID CONCENTRATES OF SUNFLOWER OILS IN A ROTARY-FILM APPARATUS

Altaiuly Sagymbek

*Voronezh state technological academy,
Voronezh, Russia, E-mail: sagimbek@mail.ru*

Production of phospholipid sunflower oils concentrates by the method of hydration, ie the by addition of water in to oil, the phosphatides coagulating in the form of flakes and separating. To increase the keeping time and to improve the quality of phospholipid concentrates of sunflower oils hydration sediment having, a high initial moisture content is to be dried up to a moisture content of less than 1% in it.

In the rotary-film apparatus, liquid phospholipid emulsions as a film distribute on the surface of the inner cylindrical wall of the apparatus, and are being continuously subjected to turbulence using of rigid blades, mounted on a rotating rotor. When being, brought heat and removing moisture from them an increase in the concentration of solids, the change in density, viscosity, surface tension, and thermal properties of the liquid medium take place. This results in the increase in the total film thickness and the thickness of the wall boundary layer, the increase of thermal resistance of the film, which leads to decrease of heat transfer index same specific heat flux decreases during drying at the same specific heat flow.

To dry phospholipid emulsion a horizontal cylindrical rotary-film apparatus, is proposed that consists of a cylindrical body with lids, heated walls and a separating chamber. The device has connections for the supply and removal of steam, entering the original product and removing of its concentrate, as well as connection to a vacuum system. Inside the case a perforated rotor is placed and fixed on the shafts with discs, on the outer surface of rotor there is a hollow drum with star-shaped cross section, whose vertices are its fins, and its edge over its entire length are parallel to the generating of the inner surface of the cylindrical body with a constant gap. Rotor blades have are helical and straight sections, separated by a vertical blade baffle.

Drying of phospholipid concentrates of sunflower oils in this of continuous action device gives the final product with high quality characteristics.

ПРИМЕНЕНИЕ ЭКСТРАКТОВ ИЗ ВЫСШИХ ВОДНЫХ И НАЗЕМНЫХ РАСТЕНИЙ АСТРАХАНСКОГО РЕГИОНА ДЛЯ НУЖД КОСМЕТОЛОГИИ

Астафьева О.В., Новиченко О.В.

*ГОУ ВПО «Астраханский государственный университет»,
414056, г. Астрахань, ул. Татищева, 20А*

Актуальной проблемой современной медицины, фармакологии и косметологии является замена химических противомикробных препаратов на натуральные растительные компоненты. Одним из таких компонентов являются биологически активные вещества экстрактов растений – концентрированные извлечения из растительного сырья. Активность экстрактов во многом обусловлена наличием в них определенных химических веществ. Эти действующие активные вещества имеют разнообразный состав и относятся к различным классам химических соединений: флавоноиды, терпеноиды, гликозиды, некоторые сапонины, смолы, фенольные соединения, эфирные соединения и дубильные вещества, углеводы и минеральные вещества.

Целью нашего исследования является выделение активных химических компонентов из растений Астраханского региона, а также исследование методов экстрагирования БАВ из растений,

как водных, так и наземных, и применение их в косметологии, в том числе талассотерапии.

Изучали методы экстрагирования пектиноподобных веществ из водной растительности Волго-Каспия, а именно рдеста пронзеннолистного (*Potamogeton perfoliatus L.*); методы экстрагирования комплекса биологически активных компонентов (таких как флавоноидов из почек тополя черного *Populus nigra*, флавоноидные соединения корня солодки голой *Glycyrrhiza glabra* и соцветий цмина песчаного *Helichrysum arenarium L.*).

Уникальный состав и комплекс биологически активных веществ пресноводных трав и наземных растений определяет широкий спектр их применения и вызывает особый интерес специалистов в области косметологии.

Проводится выделение отдельных компонентов из исследуемых экстрактов растений и планируется их использование в приготовлении косметической продукции.

THE USE OF EXTRACTS FROM HIGHER HYDROPHYTES AND GEOPHYTES OF THE ASTRAKHAN REGION FOR THE NEEDS OF COSMETOLOGY

Astafieva O.V., Novichenko O.V.

SEI of HPE «Astrakhan State University»,

414056, Astrakhan, Tatishchev St., 20a

Actual problem of modern medicine, pharmacology and cosmetology is the replacement of chemical antimicrobials in natural herbal ingredients. One of these components are biologically active substances of plant extracts. There are concentrated extracts from plant materials. Activity of extracts is largely due to the presence of certain chemicals. These existing active substances have a diverse composition and belong to different classes of chemical compounds: flavonoids, terpenoids, glycosides, some saponins, resins, phenolics, volatile compounds and tannins, carbohydrates and minerals. The object of our study is the identification of active chemical ingredients from plants of the Astrakhan region, as well as research the methods of extracting biologically active substances from plants, both water and land, and their application in cosmetics, including thalassotherapy.

We studied the methods of extraction pectines from the hydrophytes of the Northern Caspian sea and the Volga river delta, such as perfoliate pondweed (*Potamogeton perfoliatus L.*); methods of extraction of biologically active components (such as flavonoids from the kidney of black poplar *Populus nigra*, flavonoid compounds of licorice's roots *Glycyrrhiza glabra* and inflorescences' everlasting *Helichrysum arenarium L.*).

The unique composition of complex and biologically active substances of fresh-water hydrophytes and geophytes identifies a wide range of application. There are attract particular interest of specialists in the field of cosmetology.

Now we are studying a selection of individual components from the test extracts of plants. We will plan to use them in preparation of cosmetic products.

ВЫДЕЛЕНИЕ И ТЕСТИРОВАНИЕ КОМПОНЕНТА КЛЕТОК ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*, ИЗБИРАТЕЛЬНО ВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩЕГО С АНТИ-ГЛИАДИНОВЫМИ АНТИТЕЛАМИ ЧЕЛОВЕКА

Алешкевич И.И.¹, Киселева Е.П.², Михайлопуло К.И.², Новик Г.И.¹

¹ Институт микробиологии НАН Беларуси,

Беларусь, г. Минск, ул. Академика Купревича 2

² Институт биоорганической химии НАН Беларуси,

Беларусь, г. Минск, ул. Академика Купревича 5/2

Установлена повышенная частота встречаемости антител к антигенам дрожжей рода *Saccharomyces* в сыворотке крови человека при некоторых аутоиммунных заболеваниях (болезнь Крона, целиакия). Высказывается предположение о зависимости иммунного ответа на компоненты клеток дрожжей *S. cerevisiae* и белки злаков глинады, являющиеся фактором, провоцирующим развитие целиакии. Целью исследования является обнаружение компонентов клеток дрожжей *S. cerevisiae*, перекрестно-реагирующих с антителами человека к глиадинам, являющимися одними из известных серологических маркеров целиакии. Объект исследования - штамм дрожжей *S. cerevisiae* Y-195 из научной коллекции типовых и промышленно-ценных непатогенных микроорганизмов Института микробиологии НАН Беларуси. Исследование проводили методом иммуноферментного анализа (ИФА), используя в качестве источника компонентов с указанными свойствами (1) фракцию клеток, разрушенных ультразвуком (ФРК) и (2) бесклеточную фракцию (БФ) тех же клеток, представляющую собой совокупность цитоплазмы и компонентов наружной поверхности клетки, слабо ассоциированных с клеточной мембраной.

Установлено, что ФРК и БФ клеток *S. cerevisiae* Y-195 (но не *D. hansenii* Y-4) содержат компоненты, способные к избирательному взаимодействию с антителами человека к глиадинам. Об этом свидетельствует зависимость связывания клеточными фракциями *S. cerevisiae* Y-195 иммуноглобулинов (Ig), находящихся в составе образцов сыворотки крови человека (n=50), от концентрации антител к глиадинам (IgA + IgG) в тех же образцах (коэффициенты корреляции 0,69 и 0,56 для ФРК и БФ соответственно). Вероятно, целевой компонент слабо ассоциирован с наружной мембраной клеток и переходит в раствор при их обработке ультразвуком. Целевой компонент выделяли из БФ аффинной хроматографией на сорбенте с иммобилизованными антителами к глиадинам класса Ig G, используя 0,2 М аммиак, pH 11,5, в качестве элюента. Фракционировали элюат лимит-эксклюзионной хроматографией с использованием Superose 12 HR 10/30 (Pharmacia, Sweden) и комплекта оборудования Pharmacia FPLC System. Профиль хроматографии содержал хорошо разрешенные симметричные пики в диапазоне 30–100 кДа. ИФА показал, что целевой компонент содержится во фракции №17.

Таким образом, разработаны методы получения и тестирования компонента БФ дрожжей рода *Saccharomyces*, избирательно взаимодействующего с антителами человека к глиадинам, необходимые для установления природы и структуры данного компонента с целью выяснения его роли в патогенезе целиакии.

ISOLATION AND TESTING OF CELL COMPONENT FROM YEAST SACCHAROMYCES CEREVISIAE SELECTIVELY INTERACTING WITH ANTI-GLIADIN HUMAN ANTIBODIES

Aliashkevich I.I.¹, Kiseleva E.P.², Mikhailopulo K.I.², Novik G.I.¹

¹ The Institute of microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus, 220141 Minsk, Acad. Kuprevicha 2, Belarus

² The Institute of bioorganic chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, 220141 Minsk, Acad. Kuprevicha 5/2, Belarus

Elevated frequency rate of antibodies to antigens of Saccharomyces yeast was found in human blood serum during some autoimmune pathologies (Crohn's disease, celiac disease). The assumption is made on relationship of human immune response to cell components of Saccharomyces yeast and to gliadin proteins as the factors provoking progress of celiac disease. Aim of this study is to detect cell components of S. cerevisiae cross-reacting with human antibodies to gliadins – well known serologic markers of celiac disease. Object of studies – yeast strain S. cerevisiae Y-195 from collection of type and commercially valuable non-pathogenic microbial cultures deposited at the Institute of Microbiology, NAS Belarus.

Investigation was carried out by immune enzymatic assay (IEA) using as a source of cell components (1) ultrasonically disrupted cell fraction (DCF) and (2) cell-free fraction (CF) comprising a mixture of cytoplasm and elements of external cell surface weakly associated with cell membrane. It was established that DCF and CF of strain S. cerevisiae Y-195 contain components capable of selective interaction with human antibodies to gliadins. This conclusion is supported by correlation of binding cell fraction of S. cerevisiae Y-195 to immunoglobulins (Ig) present in human blood serum samples (n=50) with concentration of anti-gliadins antibodies (Ig A + Ig G) in these samples (correlation coefficients for DCF and CF are 0,69 and 0,56, respectively). The active component seems to be not firmly bound to external cell membrane so that it is released into solution upon ultrasonic treatment. This component was recovered from CF by affinity chromatography on the sorbent with immobilized antibodies to gliadins of Ig G type using 0,2M ammonia, pH 11,5 as the eluting agent. Eluate was fractionated by limit-exclusion chromatography with Superose 12 HR 10/30 (Pharmacia, Sweden) and Pharmacia FPLC System. Chromatographic profile revealed symmetrical peaks at good resolution in molecular weight range 30-100 kDa. IEA demonstrated that the sought component was available in fraction №17.

Summing up, methods for producing and testing CF component of Saccharomyces yeast selectively interacting with human antibodies to gliadins have been developed. They are essential for elucidation of chemical nature and structure of this component to decipher its role in celiac pathogenesis.

ИНТЕНСИФИКАЦИЯ ПРОЦЕССА МЕМБРАННОГО КОНЦЕНТРИРОВАНИЯ ПРОТЕКТИВНЫХ АНТИГЕНОВ В ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА ХОЛЕРНОЙ БИВАЛЕНТНОЙ ХИМИЧЕСКОЙ ВАКЦИНЫ

Алешина Ю.А., Крайнова А.Г., Еремин С.А., Комиссаров А.В., Белякова Н.И., Клокова О.Д.

ФГУЗ Роспотребнадзора, Российский научно-исследовательский противочумный институт

“Микроб”, 410005 г. Саратов, ул. Университетская, д. 46

Обоснование и выбор параметров технологических процессов, с учетом особенностей разделяемых продуктов, является важным этапом на стадиях разработки и совершенствования мембранных технологий.

Поэтому, при внедрении в технологию производства холерной вакцины способа концентрирования протективных антигенов с помощью ультрафильтрации важное значение приобретали исследования по изучению температурных режимов концентрирования и их влияния на качество полупродуктов.

Апробировано три температурных режима ($(8\pm 2)^\circ\text{C}$; $(20\pm 2)^\circ\text{C}$ и $(37\pm 2)^\circ\text{C}$) проведения процесса концентрирования холерогена-анатоксина и О-антигена *Vibrio cholerae* 569В Инаба с использованием мембран с номинальной отсечкой по молекулярной массе (НОММ) 50 кДа и О-антигена *V. cholerae* М41 Огава с использованием мембран с НОММ 500 кДа. Площадь фильтрации мембран составляла $0,1\text{ м}^2$.

Средняя удельная скорость фильтрации при проведении процесса концентрирования холерогена-анатоксина и О-антигена *V. cholerae* 569В Инаба составила: при температуре $(8\pm 2)^\circ\text{C}$ – $39\text{ дм}^3/\text{м}^2/\text{час}$; $(20\pm 2)^\circ\text{C}$ – $56\text{ дм}^3/\text{м}^2/\text{час}$ и $(37\pm 2)^\circ\text{C}$ – $72\text{ дм}^3/\text{м}^2/\text{час}$.

Средняя удельная скорость фильтрации при проведении процесса концентрирования О-антигена *V. cholerae* М-41 Огава составила: при температуре $(8\pm 2)^\circ\text{C}$ – $51\text{ дм}^3/\text{м}^2/\text{час}$; $(20\pm 2)^\circ\text{C}$ – $79\text{ дм}^3/\text{м}^2/\text{час}$ и $(37\pm 2)^\circ\text{C}$ – $114\text{ дм}^3/\text{м}^2/\text{час}$.

Активность препаратов, полученных в эксперименте, значимо не отличалась от активности препаратов, полученных по регламентной технологии.

Таким образом, выполненные исследования по изучению температурных режимов процессов фильтрации позволили сделать вывод об интенсификации концентрирования протективных антигенов при повышении температуры проведения процесса до 37°C .

INTENSIFICATION OF THE PROCESS OF MEMBRANE CONCENTRATION OF PROTECTIVE ANTIGENS IN TECHNOLOGY OF CHOLERA BIVALENT CHEMICAL VACCINE PRODUCTION

**Aleshina Yu.A., Kraynova A.G., Eremin S.A.,
Komissarov A.V., Belyakova N.I., Klokova O.D.**

*Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare,
Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 410005 Saratov, Universitetskaya St., 46*

Substantiation and choice of technological processes parameters with special consideration of separated products peculiarities are thought to be an important stage of membrane technologies development and improvement.

Thus, the studies on temperature regimes of concentration and their influence upon semifinished products quality were of special importance, when introducing ultrafiltration based protective antigens concentration in technology of cholera vaccine production.

Evaluated were three temperature regimes – $(8\pm 2)^\circ\text{C}$, $(20\pm 2)^\circ\text{C}$ and $(37\pm 2)^\circ\text{C}$ of concentration of cholera anatoxin and *Vibrio cholerae* 569В Inaba O-antigen using membranes with nominal "cut-off" as regards molecular mass (NCMM) equal to 50 kDa, and *V. cholerae* М41 Ogava O-antigen using those with 500 kDa NCMM. The filtration surface of the membranes was 0.1 м^2 .

The average specific velocity of filtration during the process of cholera anatoxin and *V. cholerae* 569В Inaba O-antigen concentration appeared to be as follows: $39\text{ дм}^3/\text{м}^2/\text{hour}$ at $(8\pm 2)^\circ\text{C}$, $56\text{ дм}^3/\text{м}^2/\text{hour}$ at $(20\pm 2)^\circ\text{C}$ and $72\text{ дм}^3/\text{м}^2/\text{hour}$ at $(37\pm 2)^\circ\text{C}$.

The average specific velocity of filtration during the process of *V. cholerae* М-41 Ogava O-antigen concentration appeared to be as follows: $51\text{ дм}^3/\text{м}^2/\text{hour}$ at $(8\pm 2)^\circ\text{C}$, $79\text{ дм}^3/\text{м}^2/\text{hour}$ at $(20\pm 2)^\circ\text{C}$, and $114\text{ дм}^3/\text{м}^2/\text{hour}$ at $(37\pm 2)^\circ\text{C}$.

The activity of the preparations obtained in the experiment, did not differ significantly from that of the preparations, obtained by the authorized technology.

Thereby, the studies on temperature regimes of filtering processes allowed to draw a conclusion that protective antigen concentration intensified at increasing of the temperature of the process performance up to 37°C .

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ РЯДА ФАКТОРОВ НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КОМПЛЕКСНОГО ПРЕПАРАТА НУКЛЕОТИДНОЙ ПРИРОДЫ

Баурина М.М., Шабанова М.Е., Якубович Л.М., Красноштанова А.А.

Российский химико-технологический университет им. Д.И.Менделеева

125047, г. Москва, Миусская пл., д.9, РХТУ

При получении комплексного препарата нуклеотидной природы медицинского назначения энкад, нашедшего в настоящее время широкое применение для лечения наследственных заболеваний сетчатки глаз – тапеторетинальной абиотрофии, дегенеративных заболеваний нервно-мышечной системы, болезни Шегрена (иммунодефицита) и др., особое внимание уделяется его качеству, которое согласно ВФС 42-1768-87 определяется физико-химическими показателями, такими как соотношения поглощений при определенных длинах волн (230, 260 и 290 нм). Данные показатели характеризуют нуклеотидную природу препарата, в том числе долю неспецифичных продуктов гидролиза – нуклеозидов, и степень чистоты от белковых компонентов, оказывающих существенное влияние на возможное появление токсичности и пирогенности готовой лекарственной формы.

По традиционной технологии препарат, включающий комплекс моно- и олигонуклеотидов, получают путём переработки рибонуклеиновой кислоты. Фрагменты до 10-12 нуклеотидов подвергают очистке, используя ультрафильтрацию с применением ацетилцеллюлозной мембраны УАМ-100. С целью устранения действия рибонуклеаз возможной контаминантной микрофлоры показана возможность применения миндальной кислоты, подобрана её необходимая концентрация. Способностью ингибировать рибонуклеазы обладает достаточно большой ряд веществ [McDonald M.R., 1955], но преимуществом миндальной кислоты является то, что она не ухудшает качество готового продукта, так как сама является лекарственным препаратом [Dorland's illustrated medical dictionary, 1998]. При этом в составе полученного препарата удалось стабилизировать содержание моонуклеотидов (до 25%) и предотвратить их потери, приводящие к избыточному накоплению нуклеозидов, оказывающих негативное воздействие на соотношения указанных поглощений и образующих при дальнейшей обработке большую часть невосполнимой спирторастворимой доли целевого продукта.

Применение миндальной кислоты приводит к увеличению выхода препарата до 68%, а также имеет следствием унификацию целевого продукта, стабилизирует его физико-химические показатели и может быть рекомендовано для промышленного производства комплексного препарата нуклеотидов [патент RU № 2274658, 2006], при этом получаемый препарат является нетоксичным, апиогенным и удовлетворяет требованиям ВФС.

INFLUENCE OF SOME FACTORS ON PHYSICAL AND CHEMICAL INDICATORS OF COMPLEX PREPARATION OF NUCLEOTIDES

Baurina M. M., Shabanova M. E., Yakubovich L.M., Krasnoshtanova A.A.

*D.I. Mendeleev University of Chemical Technology of Russian
125047, Moscow, Miussky sq., 9, MUCTR*

The medical complex preparation of nucleotide nature, the pancreatic hydrolysate of RNA has been found wide application for treatment for hereditary diseases of a retina of eyes – tapetoretinal degeneration, degenerative diseases of neuromuscular system, Shegrena's disease (immunodeficiency), etc. At manufacturing the special attention is given to its quality and pharmacopeia requirement compliance. This is defined by physical and chemical indicators, such as ratios of absorption at certain lengths of waves (230, 260 and 290 nanometers). The given indicators characterize nucleotide nature of the preparation, including a share of not specific products of hydrolysis – nucleosides, and a degree of purity from the protein components, which makes essential impact on possible appearance of a toxic and pyrogenic ready medicinal form.

On traditional technology a preparation including a complex of mono- and oligonucleotides is manufactured by processing ribonucleic acid. Fragments of up to 10-12 nucleotides are purified, using an ultrafiltration with acetyl cellulose membrane. For the purpose of elimination of possible contaminated microflora ribonuclease action the possibility of using almond acid is shown and its necessary concentration is chosen. A large number of substances have the ability to inhibit ribonucleases [McDonald M.R, 1955], but the advantage of almond acid is that it doesn't worsen quality of a ready medical product [Dorland's illustrated medical dictionary, 1998]. Thus it was possible to stabilize the maintenance of mononucleotides (to 25 %) as a part of the preparation and to prevent their losses giving superfluous accumulation of nucleosides, which have negative influence on the specified absorption ratios and form the most part of irreplaceable alcohol-soluble part of a desired product at further processing.

The use of almond acid results in increase of the product yield to 68 %, unification of the product, and also stabilizes its physical and chemical indicators. It can be recommended for industrial production of a complex preparation of nucleotides [Patent RU № 2274658, 2006], the manufactured preparation being nontoxic, pyrogenic and pharmacopeia compliant to requirements.

РАЗРАБОТКА РЕЖИМОВ ВАКУУМНОГО ОБЕЗВОЖИВАНИЯ БИОПРЕПАРАТА «МОБЕЛИЗ»

Буданцев Е.В., Булкин М.С., Овчинникова О.Е.

*ГОУ ВПО «Московский государственный университет прикладной биотехнологии», 109316
Москва, ул.Талалихина, 33*

При производстве сухих легкорастворимых антибиотиков, бактериальных и вирусных препаратов, заквасок и ферментов, кисломолочных продуктов, БАДов и т.п., сублимационная сушка пока не имеет альтернативы. Объекты обезвоживания замораживают и сушат в стеклянных емкостях – в основном, флаконах и ампулах.

В нашей работе решалась задача уменьшение длительности сублимационного обезвоживания биопрепаратов на примере БАД «Мобелиз». Сушка велась в мягких режимах (верхняя экстремальная температура в продукте не превышала 37°C). Половина емкостей с продуктом стояла непосредственно на греющей плите. Вторая половина находилась на греющей плите с нанесением

тонкого слоя (порядка 0,1 мм) пасты, состоящей на 95% из тонкодисперстного порошка меди. Результаты приведены в таблице.

	Остаточная влажность, (сушка в чашках Петри), %	Остаточная влажность (сушка во флаконах), %	Длительность процесса, часов	Биологическая активность препарата, % от исходного уровня
Реальные условия контактирования в промышленном производстве	3,5	2,2	10	84
Улучшенные условия контактирования	3,2	2,0	8	95

Таким образом, предложенные меры по улучшению условий контактирования позволяют поддерживать уровень качества высушиваемого продукта на заданном уровне при сокращении общей продолжительности обезвоживания.

DEVELOPMENT OF MODES OF VACUUM DEHYDRATION OF A BIOLOGICAL PRODUCT OF «MOBELIZ»

Budantsev E.V., Bulkin M.S., Ovchinnikova O.E.

*Moscow State University of Applied Biotechnology,
109316 Moscow, Talalihin street, 33*

By manufacture of dry readily soluble antibiotics, bacterial and virus preparations, ferments and enzymes, sour-milk products, biological active supplements, etc., freeze-drying yet has no alternative. Objects of dehydration freeze and dry in glass capacities – basically, bottles and ampoules.

In our work the problem duration reduction freeze-drying dehydration of biological products on an example biological active supplement “Mobeliz” dared. Drying was conducted in soft modes (the top extreme temperature in a product didn’t exceed 37°C). Half of capacities with a product stood directly on a heating plate. Second half was on a heating plate with drawing of a thin layer (an order of 0,1 mm) the paste consisting on 95 % from fine-dispersed of a powder of copper. Results are resulted in the table.

	Residual humidity, (drying in cups of Petri), %	Residual humidity, (drying in cups of vial), %	Duration of process, h	Biologichesk activity of a preparation, % from initial level
Real conditions contacting in industrial production	3,5	2,2	10	84
The improved conditions contacting	3,2	2,0	8	95

Thus, the offered measures on improvement of conditions contacting allow to support a degree of quality of a dried up product at the set level at reduction of the general duration of dehydration.

ИЗУЧЕНИЕ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ *NICOTIANA TABACUM* L., СИНТЕЗИРУЮЩИХ БЫЧИЙ ГАММА-ИНТЕРФЕРОН

Бурлаковский М.С., Савельева Н.В., Емельянов В.В., Лутова Л.А.

Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург.

Кафедра генетики и селекции, лаборатория генной и клеточной инженерии растений.

E-mail: burmish@yandex.ru

Интерфероны – гликопротеины семейства цитокинов, продуцируемые большинством эукариотических клеток в ответ на индукторы вирусной природы. На их основе возможно создание лекарственных средств широкого спектра действия, сочетающих иммуномодулирующие, противоопухолевые и противовирусные свойства. Воздействуя на организм, эти вещества предупреждает развитие опухолевых процессов, а также активируют животные клетки для борьбы с вирусами. В настоящее время существует большой спектр препаратов интерферонов, применяемых в медицине и ветеринарии, многие из которых получены генно-инженерными методами.

Растения являются удобной и дешевой системой для синтеза ряда фармакологических веществ, в том числе и для синтеза интерферонов. Наша работа посвящена изучению трансгенных растений-продуцентов бычьего гамма-интерферона.

В лаборатории генной и клеточной инженерии растений (кафедра генетики и селекции СПбГУ) были созданы продуценты бычьего гамма-интерферона на основе растений табака (*Nicotiana tabacum* L.). Целью данной работы является получение линий, стабильно наследующих и экспрессирующих гетерологичный ген гамма-интерферона (*IFNG*).

Мы провели анализ растений поколений T_2 и T_3 , являющихся потомками двух независимых трансформантов (T_0) и продемонстрировали стабильное наследование гетерологичного гена *IFNG* у всех проанализированных растений. Изучение уровня экспрессии гена *IFNG* методом ОТ-ПЦР позволило выявить его варьирование среди растений, принадлежащих к одной семье. На основании данных ОТ-ПЦР были отобраны наиболее эффективные растения-продуценты гамма-интерферона. Наличие в этих растениях белка гамма-интерферона было подтверждено методом Вестерн-блот гибридизации.

В дальнейшем мы планируем изучить биологическую активность гамма-интерферона, выделенного из трансгенных растений, используя для этого лабораторных животных.

INVESTIGATION OF TRANSGENIC PLANTS *NICOTIANA TABACUM* L. SYNTHESIZING BOVINE GAMMA INTERFERON

Burlakovsky M.S., Savel'eva N.V., Emel'yanov V.V., Lutova L.A.,

Saint-Petersburg, Russia E-mail: burmish@yandex.ru

Interferons belong to a family of cytokine glycoproteins, produced by the most of eukaryotic cells after virus invasion. Interferons are one of the best immunostimulate, antineoplastic and antiviral preparations. These substances have wide spectrum of effects including prevention of tumoral process and activation of animal cell resistance against viruses. Up-to-date there is a number of interferon preparations, that applied in medicine and veterinary, many of which are received by genetic engineering methods.

Transgenic plants is convenient and cheap system for synthesis of some pharmacological substances, including interferons. Our research is devoted to study of genetically modified plants producers of the bovine gamma interferon.

In the laboratory of gene and cellular engineering of plants (St. Petersburg State University, department of genetics and breeding) the producers of the bovine gamma interferon were created from tobacco plants (*Nicotiana tabacum* L.). The aim of our investigation is the obtaining of lines with stable inheritance and expression of heterological gene of gamma interferon (*IFNG*).

We have tested plants of T_2 and T_3 generations, being descendants of two independent transgenic ancestors (T_0) and show stable inheritance of heterological *IFNG* gene in all analyzed plants. The study of level of *IFNG* gene expression by a RT-PCR method revealed a variation of *IFNG* expression activity between the plants from one family. On the basis of the RT-PCR data the most effective plants-producers of gamma interferon have been selected. The presence of gamma interferon protein in these plants has been confirmed by Western blot analysis.

To research the biological activity of the gamma interferon from transgenic plants, we plan to test this substance on laboratory animals in further experiments.

ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПОЛУЧЕНИЯ ВАКЦИН НА ОСНОВЕ СУБКЛЕТОЧНЫХ АНТИГЕНОВ

Девришов Д.А., Мирзаев М.Н., Крыканов А.А.

ФГОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина»,
109472, Москва, ул. Академика Скрябина, 23

Как известно, традиционные технологии получения лекарственных средств, особенно вакцин, от стадии культивирования штаммов до изготовления готовых препаратов, не отличаются высоким уровнем стандартности. Поэтому в последнее время специалисты уделяют значительное внимание исследованиям, направленным на получение профилактических препаратов на основе очищенных антигенов и иммуностимулирующих компонентов.

Нами проводятся работы по разработке технологии изготовления иммунобиологических препаратов, содержащих в качестве активных компонентов субклеточные антигены возбудителей бактериальных инфекций. Технологический процесс включает следующие основные этапы: получение биомассы вакцинных штаммов, дезинтеграция клеток, выделение и очистка антигенов, оптимизация готовой лекарственной формы.

В процессе отработки метода дезинтеграции клеток микроорганизмов, изучены разные подходы: автолиз при 39-40 °C в термостате; многократное, последовательное замораживание и оттаивание; дезинтеграция ультразвуком мощностью 20 - 26 кГц на установке УЗДН-2Т. Очистку антигенов бактерий после разрушения клеток осуществляли путем центрифугирования и осаждения неразрушенных клеток и крупных субклеточных частиц. Супернатант использовали для дальнейшей очистки и выделения субклеточных антигенов (белки, липопротеиды, липополисахариды), используемых при моделировании готовых форм препаратов на их основе.

На примере вакцинного штамма возбудителя бруцеллеза (Rev-1) показана перспективность направления по получению новых субклеточных вакцин, включающих в качестве ингредиентов, очищенные антигены. Экспериментальные образцы препаратов обладают достаточно высоким уровнем иммуногенности и безвредности.

TECHNOLOGICAL ASPECTS OF RECEIPT OF VACCINES ON THE BASIS OF SUBCELLULAR ANTIGENS

Devrishov D.A., Mirzaev M.N., Krykanov A.A.

FGOU VPO «Moscow state academy of veterinary medicine and biotechnology the name of K.I. Skryabina»,

109472, Moscow, street Academician Skryabina, 23

As is generally known, traditional technologies of receipt of medications, especially vaccines, from the stage of cultivation of cultures to making of the prepared preparations, does not differ the high level of standardness. Therefore lately specialists spare considerable attention researches, to directed on the receipt of prophylactic preparations on the basis of the cleared antigens and immunostimulant components.

Conducted by us work on development of technology of making of immunobiological preparations, containing the subcellular antigens of excitors of bacillosiss as active components. A technological process includes the followings basic stages: receipt of biomassy of vaccine cultures, disintegration of cages, selection and cleaning of antigens, optimization of the prepared medicinal form.

In the process of working off the method of disintegration of cages of microorganisms, different approaches are studied: avtoliz at 39-40 °C in a thermostat; frequent, successive freezing and thawing; disintegration an ultrasound by power 20 - 26 kHz on setting of UZDN-20. Cleaning of antigens of bacteria after destruction of cages was carried out by centrifugirovaniya and besieging of the unblasted cages and large subcellular particles. A supernatant was used for the further cleaning and selection of subcellular antigens (squirrel, lipoproteidy, lipopolysaccharides), in-use at the design of the prepared forms of preparations on their basis.

On the example of vaccine culture of exciter of brucelleza (Rev-1) perspective is rotined of direction on the receipt of new subcellular vaccines, including as ingredients, cleared antigens. The experimental standards of preparations possess the high enough level of adjuvanticity and harmlessness.

СВОЙСТВА А-ГАЛАКТОЗИДАЗЫ, В-КСИЛОЗИДАЗЫ И АРАБИНОФУРАНОЗИДАЗЫ МИКРОМИЦЕТНОГО ГРИБА *CHRYSO Sporium LUCKNOWENSE*

Доценко Г.С., Синицын А.П.

Химический факультет МГУ имени. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

На сегодняшний день одним из альтернативных источников энергии считается возобновляемое растительное сырьё, которое может быть конвертировано в биоэтанол. Важнейшей стадией этого процесса является ферментативный гидролиз биомассы до сбраживаемых сахаров.

Было показано, что ферменты, секретируемые грибом *Chrysosporium lucknowense* позволяют гидролизовать различные углеводсодержащие субстраты и обладают рядом ценных биотехнологических свойств.

В данной работе были изучены свойства α -галактозидазы, β -ксилозидазы и арабинофуранозидазы, секретируемых этим грибом (субстратная специфичность, кинетические параметры гидролиза характерных субстратов, температурные и рН зависимости активности, температурная стабильность, глубина исчерпывающего гидролиза полимерных субстратов).

Было показано, что исследованные ферменты проявляют наибольшую активность по *n*-нитрофенил- α -D-галактопиранозиду, *n*-нитрофенил- β -D-ксилопиранозиду и арабиноксилану пшеницы соответственно. Свойства ферментов были охарактеризованы с использованием

этих специфических субстратов. Константы Михаэлиса оказались равными 0,08 мМ и 1,5 мМ для α -галактозидазы и β -ксилозидазы соответственно и 1,7 мг/мл для арабинофуранозидазы. Температурные оптимумы действия рассмотренных ферментов находились в диапазоне 60-70°C, а pH оптимумы – в диапазоне 4-5,5. α -Галактозидаза, β -ксилозидаза и арабинофуранозидаза проявили способность к гидролизу полисахаридных субстратов (галактоманнан кароб, ксилан берёзы, арабиноксилан пшеницы соответственно), глубина исчерпывающего гидролиза этих субстратов составила 1 мг/мл, 2,5 мг/мл и 3 мг/мл соответственно.

PROPERTIES OF α -GALACTOSIDASE, β -XYLOSIDASE AND ARABINOFURANOSIDASE FROM *CHRYSO Sporium LUCKNOWENSE* FUNGAL STRAIN

Dotsenko G.S., Sinitsyn A.P.

M.V. Lomonosov Moscow State University, Chemical Department Moscow, Russia

Nowadays renewed biomass raw materials are supposed one of the alternative source of energy, which can be converted into bioethanol. Enzymatic hydrolysis of biomass into simple sugars is the foremost stage of this process.

Enzymes, produced by *Chrysosporium lucknowense* fungus were shown to allow to hydrolyze different carbohydrate-containing substrates and to possess a number of important biotechnological properties.

In this research properties of α -galactosidase, β -xylosidase and arabinofuranosidase, produced by this fungus were investigated (substrate specificity, kinetic parameters of hydrolysis specific substrates, temperature and pH dependences of activity, temperature stability, the degree of conversion of polymeric substrates).

It was shown, that investigated enzymes possess the highest activity towards *p*-nitrophenyl- α -D-galactopyranoside, *p*-nitrophenyl- β -D-xylopyranoside and wheat arabinoxylan respectively. Using these specific substrates properties of enzymes were characterized. Michaelis constants were equaled 0,08 mM and 1,5 mM for α -galactosidase and β -xylosidase respectively and 1,7 mg/ml for arabinofuranosidase. The optima temperature for considered enzymes were laid in the band 60-70°C, and optima pH – in the band 4-4,5. α -Galactosidase, β -xylosidase and arabinofuranosidase were capable for continued hydrolysis of polysaccharide substrates (galactomannan carob, birchwood xylan, wheat arabinoxylan respectively), the degree of conversion of this substrates was equaled 1 mg/ml, 2,5 mg/ml and 3 mg/ml respectively.

ТРЕХСЛОЙНЫЕ СТЕНОВЫЕ КОНСТРУКЦИИ ПОВЫШЕННОЙ БИОСТОЙКОСТИ НА ОСНОВЕ КОМПЛЕКСНЫХ СВЯЗУЮЩИХ

Ерофеев В. Т., Бурнайкин Н. Ф.¹, Митина Е. А.,
Богатов А. Д., Казначеев С. В., Богатова С. Н., Баргов Е. Г.

ГОУВПО «МГУ им. Н.П. Огарева», г. Саранск, 430005, ул. Большевистская, 68

¹ОАО «Завод ЖБК-1», г. Саранск, 430030, ул. Титова, 4

Процессы биоразрушения строительных материалов и изделий в зданиях с биологическими агрессивными средами прогрессируют с каждым годом. Разработана технология изготовления трехслойной стеновой панели, предназначенной для использования в качестве ограждающих конструкций животноводческих, мясомолочных и других предприятий. Технология изготовления

базируется на использовании различных вяжущих с применением легких заполнителей и не требует модернизации существующих линий заводов ЖБК.

Панель состоит из двух крайних плотных слоев, выполненных из полимербетона и из цементного бетона, а так же среднего слоя, изготовленного из крупнопористого бетона. Толщины слоев можно регулировать в зависимости от теплотехнических требований к зданиям и сооружениям. Повышение биостойкости обеспечивается за счет наличия полимербетонного крайнего и крупнопористого – среднего слоев. Полимербетонный слой, обращенный во внутрь здания, из-за повышенной плотности и гладкой поверхности не является благоприятным для заселения и размножения микроорганизмов. А слой из крупнопористого бетона обеспечивает эксплуатацию стеновой панели в воздушно-сухих условиях. Атмосферная и конденсационная влага стекают по порам в нижнюю часть панели, где осуществляется ее удаление, т.к. не происходит накопление влаги в структуре панели – исключается развитие микроорганизмов.

Разработка защищена патентами РФ. Разработаны технические условия «Панели стеновые наружные трехслойные из легких бетонов». Промышленное внедрение осуществлено на ОАО «Завод ЖБК-1» в г. Саранске. В 2007 году разработка удостоена Государственной премии Республики Мордовия.

THREELAYERED WALL CONSTRUCTIONS OF RAISED BIOSTABILITY ON BASE OF COMPLEX CONNECTINGS

V. T. Yerofeev, N. F. Burnaykin¹, E. A. Mitina, A. D. Bogatov,

S. V. Kaznacheev, S. N. Bogatova, E. G. Bargov

Mordovia N. P. Ogareva State University, Saransk, 430005, str. Bolshevitskaya, 68;

¹OSC «Plant ZBK-1», Saransk, 430030, str. Titova, 4

The Processes of biodestructions building materials and product in building with biological aggressive ambience progress since each year. The technology of the fabrication threelayered wall panels, intended for use as barrier design of animal, milk-meat and other enterprise is designed. Technology of the fabrication is based on use different astringent with using light fillings and does not require the modernizations existing line plant rein-forced concrete constructions.

The Panel consists of two extreme thick layers, executed from polymerconcrete and cement concrete, but in the same way average layer, made from bigpored concrete. It is possible to regulate the thickness of the layered depending on heat-technical of the requirements of buildings. Increasing of biostability is provided by the presence polymerconcrete extreme and bigpored – average layers. Polimerconcrete layer, turned in inside buildings, because of raised density and smooth surfaces is not favourable for occupying and duplicating of microorganism. But layer from bigpored concrete provides the usage of wall panel in air-dry conditions. Atmospheric and condensative moisture flows down on pores in lower part of panel, where is realized her(its) removing because the accumulation moisture in structure of the panels – does not occur – the development of microorganism is excluded.

The Development is protected by patent of RF. The technical conditions “Wall outside threelayered Panels made of light concrete are designed”. Industrial introduction is realized on OSC “Plant ZBK-1” in Saransk. State bonus of the Republic Mordoviya is awarded in 2007 development.

БИОЦИДНОЕ ДЕЙСТВИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ НА НЕКОТОРЫЕ ВИДЫ МИКРООРГАНИЗМОВ

S.Delgermaa, doctor (Ph.D), S.Tserendulam, magistrate (Mc.S.)

Food Engineering and Biotechnology school, Mongolian University of Science and Technology, Post box-503, Ulaanbaatar-13, Mongolia

E-mail: delgermaa_sovd@yahoo.com

Now different ways of protection by one of them are applied to protection of textile and carpet materials against biodestruction under action of various species of microorganisms is the application at dyeing of filament of extracts of plants having biocide action. The purpose of research - study biocide action of extracts of plants and revealing of chemical substances contained in them. As objects of research we have chosen *Rheum undalatum*, *Thymus dahurica* L., *Plantago major* L., *Chelidonium majus* L., *Urtica dioica* L. The growth of microorganisms decreases almost in 5-8 times at this volume. This volume is pernicious for *E.coli*. At study of chemical structure of the given plants, we fractionated the given extracts in the various organic solvents and spent thin layer chromatography. Thus in an extract *Chelidonium majus* L is found out polar alkaloid. For revealing flavonoid we spent comparison of results TLC with results liquid chromatography. We are established, that in a fraction ETAC of *Rheum undalatum* and *Chelidonium majus* L is contains flavonoid of routines.

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ КЕРАТИНАЗ НА ОСНОВЕ МИКРОМИЦЕТОВ

Гордонова И.К., Никитина З.К., Быков В.А.

ГНУ ВИЛАР РАСХН, 117216, Москва, ул. Грина, 7

Кератинолитические ферменты микроорганизмов применяются в тех областях, где необходим гидролиз кератинов: в медицине, косметологии, при производстве детергентов, в кожевенной промышленности, биоконверсии отходов. Целью данной работы было получение очищенной кератиназы с использованием микромицетов.

Разработаны способы получения пяти кератинсодержащих субстратов на основе волос человека и эпидермиса хвостов крыс. Для выявления синтеза внеклеточных кератиназ проведен скрининг девяти микромицетов с использованием этих субстратов в качестве источника углерода. Наибольший индекс лизиса кератина, скорость роста, кератинолитическая активность культуральной жидкости были установлены для *Cladosporium sphaerospermum*.

Разработан метод выделения и очистки кератинолитического фермента, секретируемого *Cl. sphaerospermum*, включающий последовательное применение гель-фильтрации и аффинной хроматографии и позволивший получить электрофоретически гомогенный препарат с молекулярной массой 35 кДа, степенью очистки 75 раз и кератинолитической активностью 750±63 мкМ/мгхчас. Оптимальные pH и температура для фермента были 7,4 и 30°C соответственно. PSMF практически полностью ингибировал кератиназу, в то время как EDTA и DTT не влияли на активность фермента. Изучение свойств полученного фермента позволило отнести его к нейтральным термолабильным кератинолитическим сериновым протеиназам. Фермент был активен в отношении кератинов различного происхождения и некоторых растворимых белков, что позволяет считать его перспективным не только в качестве кератиназы, но также и протеиназы. В то же время, коллаген и дипептиды, специфичные для него (Ley-Gly, Gly-Gly), не гидролизировались ферментом. Это

является преимуществом при использовании кератиназы в косметических и медицинских целях или в кожевенной промышленности, когда collagen не должен быть поврежден. Таким образом, была разработана технология получения перспективной кератиназы из *Cladosporium sphaerospermum*.

THE DEVELOPMENT OF KERATINASE OBTAINING TECHNOLOGY BASED ON MICROMYCES

Gordonova I.K., Nikitina Z.K., Bykov V.A.

VILAR, 117216, Moscow, Green st., 7

The application of microorganisms keratinolytic enzymes in different fields where keratins should be hydrolyzed, such as medicine, cosmetics, detergent and leather industry, waste bioconversion. The aim of this study was the development of pure keratinase obtaining technology using the micromycetes.

Methods of five keratin-containing substrates based on human hair and rat tails epidermis obtaining were developed. Nine micromycetes were screened with application of these substrates as the source of carbon for synthesis of extracellular keratinases. The highest index of keratin lyses, growth rate, the highest keratinolytic activity of culture media were found for *Cladosporium sphaerospermum*.

The method of isolation and purification of keratinolytic enzyme, secreting by *Cl. sphaerospermum*, was developed, concluding consequent using of gel filtration chromatography and affinity chromatography, and allowing to receive electrophoretically homogeneous enzyme preparation with a molecular mass 35 kDa, the degree of enzyme clearing 75 times and keratinolytic activity $750 \pm 63 \mu\text{M}/\text{mg} \cdot \text{h}$. The optimal pH and temperature for enzyme were 7.4 and 30°C , respectively. PSMF practically completely inhibited the keratinase, while EDTA and DTT didn't influence on enzyme activity. Studying the properties of the enzyme allows to consider it belonged to the neutral thermolabile keratinolytic serine proteinases. The enzyme was active upon the keratins of different origin and some soluble proteins, which allow consider it perspective not only as keratinase, but also as proteinase. At the same time collagen and dipeptides, specific for it (Ley-Gly, Gly-Gly), couldn't be hydrolyzed by the enzyme, and this is an advantage for the application of the keratinase for the cosmetic and pharmaceutical purposes or in the leather industry where collagen should not be attacked. Thus, the perspective keratinase obtaining technology from *Cladosporium sphaerospermum* was developed.

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ДЛИТЕЛЬНОЙ КОНСЕРВАЦИИ ПРОМЫШЛЕННО-ЦЕННЫХ ШТАММОВ ДРОЖЖЕВЫХ ГРИБОВ

Кантерова А.В., Новик Г.И.

Институт микробиологии НАН Беларуси, 220141, Минск, ул. Купревича, 2

В Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов (БКМ) поддерживаются 64 вида дрожжей, относящихся к 32-м родам. К роду *Saccharomyces* относится **31 штамм**. При производстве спирта и вина используют особые расы дрожжей рода *Saccharomyces*, которые способны переносить высокое осмотическое давление больших концентраций сахаров в сбраживаемом субстрате, солей, а также спирта, образующегося в процессе ферментации.

Для хранения дрожжевых грибов в БКМ используются методы лиофилизации, криоконсервации и субкультивирования. Известно, что дрожжи наиболее устойчивы к замораживанию и высушиванию

в стационарной фазе роста, однако, крупноклеточные дрожжи рода *Saccharomyces* плохо переносят лиофилизацию, поэтому сублимационное высушивание дрожжевых культур проводили как в стационарной фазе роста, так и на стадии спорообразования. Для получения спорулирующей культуры дрожжи выращивали при температуре 25°C на агаризованной среде с пивным суслом, глюкозой, пептоном и дрожжевым экстрактом. Через 2 суток роста культуры пересеивали на среду Городковой, используемой для индукции аскоспорообразования, и выращивали при температуре 25°C в течение 38 суток до активного образования аскоспор. Образование спор наблюдалось у 60-80% клеток. Количество жизнеспособных клеток у всех штаммов сахаромисетов, лиофилизированных на стадии спорообразования, было значительно выше по сравнению с культурами, находившимися в стационарной фазе роста, независимо от сроков хранения, как через 1 сутки после сублимационного высушивания, так и в течение 10 лет хранения.

Полученные данные свидетельствуют о целесообразности лиофилизации дрожжей рода *Saccharomyces* на стадии спорообразования. Консервация их на данной стадии обеспечивает высокую степень выживаемости и сохранение физиолого-биохимических свойств культур.

OPTIMIZATION OF CONDITIONS FOR LONG-TERM PRESERVATION OF COMMERCIALY VALUABLE STRAINS OF YEAST-LIKE FUNGI

Kanterova A. V., Novik G.I.

*Institute of Microbiology, National Academy of Sciences of Belarus,
220141, Minsk, Kuprevich Str., 2*

Yeast-like fungi deposited at Belarusian collection of non-pathogenic microorganisms (БКМ) are represented by 64 species affiliated to 32 genera. 31 strains belong to genus *Saccharomyces*. Special yeast types of genus *Saccharomyces* able to withstand high osmotic pressure caused by elevated concentrations of sugars, salts and generated alcohol in the fermented media are used for wine and spirits production.

Methods of freeze-drying, cryoconservation and subculturing on agar media are applied for preservation of yeast-like fungi maintained at БКМ. Microorganisms are known to be most resistant to freezing and desiccation at stationary growth phase, yet, according to literature reports, large-cell yeast of genus *Saccharomyces* are hardly tolerant to lyophilization, hence freeze-drying of yeast cultures was carried out both at stationary growth phase and at sporulation stage. To derive sporulating culture *Saccharomyces* strains were initially grown at temperature 25°C on agar media of the following composition wort, glucose, peptone, yeast extract. Upon 2 days of fermentation yeast culture was transferred to slant with Gorodkova medium inducing formation of ascospores, and was grown at 25°C during 38 days until active ascospore formation. Spores were generated by 60-80 % of all cells. Number of viable cells in *Saccharomyces* strains freeze-dried at sporulation stage was significantly higher when compared to cultures at stationary growth phase, irrespective of storage term, throughout the whole observation period of 10 years.

The obtained results indicate that sporulation stage is most favorable for lyophilization of *Saccharomyces* yeasts. Cryopreservation ensures increased cell survival rate and does not affect physiological-biochemical characteristics of microbial cultures.

ПОЛУЧЕНИЕ КОРМОВОЙ ПРОБИОТИЧЕСКОЙ ДОБАВКИ ПУТЕМ ГЕТЕРОФАЗНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЛАКТОБАКТЕРИЙ

Кареткин Б.А.¹, Шакир И.В.¹, Лойко Н.Г.², Эль-Регистан Г.И.², Панфилов В.И.¹

¹ *Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева,*

г. Москва, 125047, Миусская пл., 9, e-mail: boris.karetkin@gmail.ru

² *Учреждение Российской академии наук Институт микробиологии*

им. С.Н. Виноградского РАН,

г. Москва, 117312, Москва, ул. Проспект 60-летия Октября, д., 7 к.2, e-mail: loikonat@mail.ru

В настоящее время интенсивно расширяется рынок кисломолочных продуктов, обладающих пробиотическими свойствами. Среди них обращают на себя внимание пробиотические препараты на основе сорбированных на твердом субстрате клеток молочнокислых бактерий (МКБ). Преимуществом таких препаратов является увеличение устойчивости иммобилизованных клеток к стрессовым воздействиям (в том числе агрессивной среде желудка), что повышает эффективность применения пробиотиков.

Целью исследований было разработать пробиотический препарат на основе лактобактерий, культивируемых в среде с измельченными клубнями топинамбура после экстракции инулина (гетерофазная ферментация). На первом этапе экспериментов были подобраны штамм лактобактерий, питательная среда и условия культивирования, позволяющие получать через 48 часов продукт с высоким титром клеток молочнокислых бактерий. На втором этапе работ производитель и условия культивирования были адаптированы к росту на среде с топинамбуром. Число иммобилизованных клеток определяли после трипсинизации. В процессе гетерофазной ферментации получили культуру с титром МКБ $8.5-9.5 \cdot 10^8$ КОЕ/мл, в которой до 30 % клеток было иммобилизовано на твердой фазе. Через три месяца хранения при температуре $+5^\circ\text{C}$ число клеток в культуре с топинамбуром снижалось до 9 % от первоначальной, тогда как в контрольной погруженной культуре – до 1.4 %. На завершающем этапе исследований был разработан эффективный способ длительного хранения пробиотического продукта путем лиофилизации выращенной культуры. В результате были получены товарные образцы продукта, имеющие титр жизнеспособных молочнокислых бактерий после посева на MRS среде на уровне $5.0 \cdot 10^{10}$ КОЕ/г.

PROBIOTIC FODDER PRODUCTION BY MEANS OF LACTOBACTERIA HETEROPHASE FERMENTATION

Karetkin B.A.¹, Shakir I.V.¹, Loiko N.G.², El-Registan G.I.², Panfilov V.I.¹

¹ *D. Mendeleev University of Chemical Technology of Russia,*

9, Miusskaya sq., Moscow, 125047, Russia, e-mail: boris.karetkin@gmail.ru

² *Winogradsky Institute of Microbiology, Russian Academy of Sciences,*

7/2, Prospekt 60-letiya Oktyabrya 117312, Moscow, Russia, e-mail: loikonat@mail.ru

Market of fermented milk products with probiotic properties is expanding rapidly at present time. Probiotic products composed of absorbed on solid substrate cells of lactic acid bacteria (LAB) call a special interest among them. This products have an advantage because of immobilized cells resistance to stress (e.g. gastric acid), consequently effectivity of probiotic increase.

Aim of our investigation was to work out probiotic product composed of lactobacteria, fermented in media, which contained crushed Jerusalem artichoke tubers after inulin extraction (heterophase submerged

fermentation). In first step of experiments lactodacteria stain, media composition and conditions of fermentation were selected. Product with high LAB growth was obtained after 48 hours of fermentation. In second steep culture and conditions of fermentation were adapted to Jerusalem artichoke tubers contain media. The number of immobilized cells was assayed after tripsinisation of samples. MRS agar was applied to control. LAB culture contained $8.5-9.5 \cdot 10^8$ CFU/ml with 30% of immobilized cells was obtained during heterophase submerged fermentation. After 3 month of storage at $+5^\circ\text{C}$ concentration of viable cells rise to 9 % in comparison with 1.4 % for submerged culture without solid. In final steep of investigation was developed effective way to long-time storage of probiotic product by means of lyophilisation of culture obtained. Commercial samples with concentration of LAB about $5.0 \cdot 10^{10}$ CFU/g were produced.

ИЗУЧЕНИЕ КОЛЛАГЕНАЗНОЙ АКТИВНОСТИ ВЫСШИХ ГРИБОВ

Касьян О. В., Шамцян М. М.

Санкт-Петербургский Государственный Технологический Институт

(Технический Университет)

190013, Санкт-Петербург, Россия

Московский проспект, дом 26

Известно, что коллагеназа относится к числу наиболее мощных протеолитических ферментов со специфическим действием на коллагеновые волокна - основной структурный элемент соединительной ткани. Применение коллагеназы показано при различных патологиях, сопровождающихся изменениями соединительно-тканной системы. Особое место среди показаний занимает патология глаз с развитием рубцов, при которой фермент является наиболее надежным средством для профилактики и лечения нарушений зрения. Исключительная способность фермента гидролизовать в коллагене специфические пептидные связи, которые практически не поддаются гидролизу другими ферментами, делают коллагеназу уникальным естественным деполимеризующим ткани агентом. Применение коллагеназ перспективно и в составе лечебных косметических препаратов, а также в пищевой промышленности, в частности в пивоварении и для смягчения жёсткого мяса.

Современные данные о производстве ферментов, антибиотиков и других биологически активных веществ из высших грибов свидетельствует о важности и перспективах исследований в этой области.

Был проведён скрининг продуцентов коллагеназы среди 35-и культур базидиомицетов. Исходные культуры выращивали методом глубинного культивирования при температуре 28°C в течение 7 суток на роторной качалке на полусинтетической среде. После завершения культивирования в фильтрате культуральной жидкости определяли уровни коллагенолитической активности.

Наиболее высокая коллагеназная активность обнаружена в нативном растворе культуры гриба *Coprinus* sp. на 7-е сутки культивирования.

Оптимизация состава среды позволило значительно повысить ферментативную активность нативного раствора культуральной жидкости гриба.

STUDY OF COLLAGENOLYTIC ACTIVITY OF BASIDIOMYCETES

Kasyan O.V., Shamtsyan M.M.

*Saint-Petersburg State Institute of Technology
(Technical University)*

190013, Saint-Petersburg, Russia

Moskovsky pr., 26

It is known that collagenase is one of the most powerful proteolytic enzyme with a specific action on collagen fibers - the main component of connective tissue. The use of collagenase is shown in various pathologies, accompanied by changes in the connective tissue system. A special place among the indications is eye pathology with scarring in which the enzyme is the most reliable remedy of prevention and treatment of dysopia. Exclusively ability of the enzyme to hydrolyze in the collagen specific peptide bonds makes collagenase a unique natural depolymerize fabric agent, which are virtually impossible to hydrolysis by other enzymes. The use of collagenases is perspective in medical cosmetic products, as well as in the food industry, particularly in the brewing process and to mitigate the hard meat.

Higher mushroom may represent a promising source of collagenase. Modern data about the production of enzymes, antibiotics and other biologically active substances from basidiomycetes demonstrates the importance and prospects of research in this area.

The objects of study were mycelial cultures strains of basidiomycetes. Screening was conducted among 35 producers of collagenase of basidiomycetes cultures. Initial cultures were grown by submerged cultivation at 28°C for 7 days on a rotary shaker at the semi-synthetic medium. After cultivation it was determined the levels of collagenolytic activity in culture filtrate.

Highest collagenolytic activity was detected in the native solution of basidial mushroom *Coprinus* sp. at 7th day of cultivation.

Optimization of medium composition resulted in a significant increase enzymatic activity of the native solution of the fungus.

ЛАККАЗЫ ВЫСШИХ БАЗИДИОМИЦЕТОВ

Клепиков А.А., Шамцян М.М.

*Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет),
198013, Санкт-Петербург, Московский пр., 26*

Лакказы являются одними из основных лигнолитических ферментов. Подавляющее большинство лакказ относится к так называемым «голубым» медьсодержащим белкам, способным восстанавливать молекулярный кислород непосредственно до воды без образования в качестве промежуточного продукта перекиси водорода или каких либо других кислородных интермедиатов.

Каталитические и электрокаталитические свойства лакказы дают возможность её широкого использования в различных сферах, таких, как делигнификация бумажной пульпы в целлюлозно-бумажной промышленности; создания биосенсоров; детоксикации и обесцвечивания сточных вод; пищевой промышленности; отбеливания тканей; органическом синтезе; производстве моющих средств; косметической промышленности и других областях.

В качестве продуцентов Лакказ нами были выбраны Базидиальные грибы, так как их высоко редокс-потенциальные лакказы наиболее пригодны для промышленного применения. Эти грибы способны расти на легкодоступных питательных средах, включая отходы некоторых производств.

Путём проведения скрининга, из нескольких десятков культур грибов нами были отобраны наиболее перспективные для дальнейшего изучения, представляющие роды *Bjerkandera* и *Panus*.

Выращивание грибов производилось методом глубинного культивирования. Для отобранных при проведении скрининга грибов было изучено влияние различных субстратов, концентрации углерода, азота, ростовых факторов на активность лакказ. Подобраны компоненты питательной среды с мукой в качестве основного сырья. Показано, что использование солодовых ростков позволяет увеличить оксидазную активность в 1,8 раза.

LACCASES OF HIGHER MUSHROOMS

Klepikov A.A., Shamtsyan M.M.

St. Petersburg State Institute of Technology (Technical University).

Russia, 198013, St. Petersburg, Moskovsky prospect, 26

Laccase is one of the main ligninolytic enzymes. The vast majority of laccases is the so-called “blue” copper-containing proteins that can restore the molecular oxygen directly to water without formation as an intermediate product of hydrogen peroxide or any other oxygen intermediates.

Catalytic and electrocatalytic properties of laccases enable their wide use in various fields such as delignification of paper pulp in the pulp and paper industry, creation of biosensors, detoxification and decoloration of wastewater, food processing, textiles bleaching, organic synthesis, production of detergents, cosmetics industry and other areas.

As producers of laccases, we studied basidiomycetes, as their high redox potential laccases are most suitable for industrial applications. These fungi can grow on readily available nutrient media, including waste of some manufactures. The object of the study were strain of higher basidiomycetes.

By screening of tens of mushroom species, we have selected the most promising strains for further studies, representing genera of *Bjerkandera* and *Panus*.

Submerged cultivation of mushrooms was performed. For selected mushrooms the effect of different substrates, the concentration of carbon, nitrogen sources and growth factors on the activity of laccase were studied. Selected components Medium composition, with wheat flour as the main carbon source was determined. It was shown that the use of malt sprouts can increase oxidase activity for 1,8 times.

ГИДРОЛИТИЧЕСКАЯ СПОСОБНОСТЬ НОВЫХ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ГРИБА *PENICILLIUM VERRUCULOSUM*

Короткова О.Г.¹, Правильников А.Г.¹, Немашкалов В.А.², Рожкова А.М.¹, Синицын А.П.^{1,3}

¹ *Институт Биохимии им. А.Н.Баха РАН, Москва, Россия*

² *Институт Биохимии и физиологии микроорганизмов РАН, Пуццино, Россия*

³ *Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

В связи с истощением запасов ископаемого топлива лигноцеллюлозная биомасса представляет потенциальный интерес как дешевый возобновляемый источник для получения различных продуктов, в частности биоэтанола. Основной стадией конверсии растительной биомассы является ферментативный гидролиз полисахаридных субстратов, эффективность которого зависит от сбалансированности целлюлазного комплекса.

Ранее нами было показано, что мутантный штамм низшего гриба *Pen. verruculosum* является мощным продуцентом целлюлазного комплекса, способного к высокоэффективному гидролизу целлюлозы. Его преимуществом является высокая секреторная способность - 40-50 г/л внеклеточного белка. Для увеличения осахаривающей способности ферментного комплекса данного гриба, используя новую систему экспрессии с применением гистоновых промоторов, нами были клонированы ген β -глюкозидазы/целлобиазы *Aspergillus niger*, ген ксиланазы А *Pen. canesense* и ген эндо-1,4- β -глюканазы II (ЕГ II) *Pen. verruculosum*. На основе полученных штаммов – продуцентов целевых белков получены ферментные препараты. Экспрессия секретируемого целевого белка оценивалась по наличию полосы β -глюкозидазы и ксиланазы и увеличению интенсивности полосы в случае ЕГ II на белковом геле-электрофорезе образцов культуральной жидкости. Присутствие гетерологичных белков подтверждалось при помощи масс-спектрометрического анализа трипсиновых гидролизатов исследуемых белков.

Были измерены соответствующие основные активности по следующим субстратам – по карбоксиметилцеллюлозе, ксилану, β -глюкану, *n*НФ- β -D-глюкопиранозиду и целлобиозе. С помощью хроматографического разделения был определен количественный компонентный состав целлюлазного комплекса. Полученные данные свидетельствуют об увеличении экспрессии целевых белков в 2-3 раза.

Были проведены прикладные эксперименты для оценки осахаривающей способности полученных препаратов на примере гидролиза предобработанной сосновой и измельченной осиновой древесины, багассы и микрокристаллической целлюлозы как модельного синтетического субстрата. Наблюдалось увеличение выхода восстанавливающих сахаров и глюкозы примерно на 30% в случае β -глюкозидазы и на 25-30% в случае ксиланазы А и ЕГ II по сравнению с исходным целлюлазным комплексом. Это свидетельствует об увеличении эффективности деструкции целлюлозосодержащей биомассы.

Таким образом, нами были получены штаммы-продуценты гетерологичных β -глюкозидазы и ксиланазы А и гомологичной эндо-1,4- β -глюканазы II, обладающие повышенной осахаривающей способностью по широкому кругу растительных субстратов.

SACCHARIFICATION ABILITY OF NEW ENZYME PREPARATIONS BASED ON FILAMENTOUS FUNGI *PENICILLIUM VERRUCULOSUM*

Korotkova O.G.¹, Pravilnikov A.G.¹, Nemashkalov V.A.², Rozkova A.M.¹, Sinitsyn A.P.^{1,3}

¹ A.N.Bach Institute of Biochemistry RAS, Moscow, Russia

² Institute of Physiology and Biochemistry of Microorganisms RAS, Pustshino, Russia

³ Chemical Department, M.V.Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

The development of the alternative energy technology is a critically important because security issues regarding the oil supply. Cellulose is the most abundant renewable natural biological resource, and the production of useful products and bioenergy from less costly renewable lignocellulosic material is important and represents potential interest. Bioconversion of lignocellulosic residues is initiated primarily by fungi which produce extracellular cellulolytic enzymes.

Filamentous fungi *Pen. verruculosum* produce large amount of extracellular cellulolytic enzymes. This complex is capable efficient converse lignocellulosic residues to fermentable sugars. Its advantage is high level of extracellular protein – 40-50 g/l. To increase saccharification ability of cellulosic complex *Pen. verruculosum* we have cloned β -glucosidase/cellobiase *Aspergillus niger* gene (*bglI*), xylanase A *Pen. canesense* gene (*xylA*) and endo-1,4- β -glucanase II (EG II) *Pen. verruculosum* gene (*eglII*). New histone expression system was used.

Enzyme preparations based on new strain were obtained. Expression level of β -glucosidase, xylanase A and endo-1,4- β -glucanase II under control of H4.1 promoter in recombinant *Pen. verruculosum* was increased 2-3 times in comparison to origin strain. Specific activity of recombinant β -glucosidase (about 60 U/mg) towards standard β -glucosidase substrates *p*NPh- β -D-glucopyranoside was retained. Activities towards standard endo-1,4- β -glucanase II and xylanase A substrates (CMC and β -glucan, and xylan) were 20% increased in comparison with origin type strain. Remarkably, β -glucosidase, xylanase A and endo-1,4- β -glucanase II were presented at complex. It was proved by quantative analysis of secreted cellulase complex composition using anion exchange and hydrophobic chromatography. Presence of heterological protein was confirmed by mass-spectroscopy analysis.

Saccharification ability has been estimated on lignocellulosic residues – pretreated pine and crushed aspen wood, bagasse, and avicel. Product yield (reducing sugar and glucose) was 30% increased for β -glucosidase and 25-30% increased for xylanase A and EG II in comparison with origin strain.

Thus, we obtained strains with heterologous β -glucosidase and xylanase A and homologous endo-1,4- β -glucanase II activities which possess the raised saccharification ability.

ПЕРЕРАБОТКА ЛЬНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КУЛЬТУР БАЗИДИОМИЦЕТОВ И ИХ ФЕРМЕНТОВ

Котова Е.В.¹, Макаренко С.В.¹, Шамолина И.И.¹, Белова Н.В.², Пороховинова Е.А.³

¹ Санкт-Петербургский государственный университет технологии и дизайна,
г. Санкт-Петербург, 191186, ул. Большая Морская, 18

² Учреждение Российской академии наук Ботанический институт им. В.Л.Комарова РАН, г.
Санкт-Петербург 197376, ул. Проф. Попова 2

³ ГНУ ВНИИ растениеводства им. Н.И.Вавилова Российской Академии наук,
г. Санкт-Петербург, 19000, ул. Большая Морская, 42-44

Льняное волокно – ценное растительное сырье для отечественной текстильной промышленности. При переработке льна образуются значительные количества отходов (измельченная древесина стеблей или костра, корни и полова) и короткого льняного волокна, характеризующегося высокой степенью одревеснения. Для биотехнологических исследований выбраны штаммы лигнотрофных базидиальных грибов из Коллекции культур базидиомицетов Ботанического института им. В.Л.Комарова, способные осуществлять биоконверсию лигноцеллюлозных материалов методом прямого культивирования за счет биосинтеза оксидоредуктаз.

Изучен химический состав и свойства первичных отходов льна-долгунца. Установлено, что они могут быть использованы в качестве субстратов для культивирования базидиальных грибов - *T. hirsuta*, *P. ostreatus*, *P. highlandensis*, с образованием продуктов с пониженным содержанием лигнина и повышенным содержанием белковых веществ.

Сегодня технически решена проблема механической переработки короткого льняного волокна с получением хлопкольнай пряжи. Анализ характеристик пряжи показал, что использование для ее обработки ферментных препаратов, содержащих пероксидазу и лакказу, эффективно влияет на свойства, обеспечивая увеличение гигроскопичности, капиллярности, смачиваемости, удлинения при разрыве, снижение жесткости и ворсистости. Пряжа приобретает свойства, удовлетворяющие требованиям для выработки трикотажного полотна.

PROCESSING OF FLAX USING CULTURES OF BASIDIOMYCETES AND THEIR ENZYMES

Kotova E.V.¹, Makarenko S.V.¹, Shamolina I.I.¹, Belova N.V.², Porokhovinova E.A.³

¹ Saint-Petersburg State University of Technology and Design,
S.Petersburg, 191186, B.Morskaya str., 18

² V.L.Komarov Botanical Institute of Russian Academy of Science,
S.Petersburg 197376, Prof. Popova str., 2

³ N.I.Vavilov research institute of plant industry, S.Petersburg, 190000, B.Morskaya str. 42-44.

Flax fiber is an important plant material for national textile industry. Significant amounts of wastes (shredded wood from stem or boon, roots and chaff) and short flax fiber, characterized by a high degree of lignification, are produced during the processing of flax. For biotechnological researches the strains of fungi lignotrophic basidiomycetes are selected from the Culture Collection of the V.L.Komarov Botanical Institute. The strains are capable to carry out the bioconversion of lignocellulosic materials by direct cultivation using the biosynthesis oxidoreductase.

The chemical composition and properties of the primary waste of flax was studied. We found that they can be used as substrates for the cultivation of basidiomycetes - *T. hirsuta*, *P. ostreatus*, *P. highlandensis*, with the formation of products with reduced lignin content and increased content of protein substances.

Nowadays, the problem of mechanical processing of short staple flax fibers for manufacturing of cotton-flax yarns was technically solved. Analysis of yarns' technological characteristics demonstrated, what usage of enzymatic agents, containing peroxidase and lactase, considerably affects on its properties, providing increase of hygroscopicity, capillarity, water affinity, breaking elongation, and decrease of rigidity and hairiness. Therefore, the yarn obtains properties, fulfilling requirements for knitting.

РАЗРАБОТКА НАУЧНЫХ ОСНОВ ТЕХНОЛОГИИ СОВМЕСТНОГО ПОЛУЧЕНИЯ ИЗОФЛАВОНОИДОВ, ИЗОЛЯТА БЕЛКА И ИНГИБИТОРОВ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ ИЗ БЕЛОГО ЛЕПЕСТКА СОИ

Хабибулина Н.В., Красноштанова А.А.

Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева,
125047, г. Москва, Миусская площадь, д. 9, кафедра биотехнологии.

Традиционные технологии переработки сои предусматривают получение из нее соевого масла и белковых продуктов, однако в настоящее время растет интерес к содержащимся в соевых бобах минорным компонентам, обладающим биологической активностью – изофлавоноидам и ингибиторам трипсина и химотрипсина. Получение белковых продуктов и биологически активных веществ в индивидуальном производстве приводит к образованию больших количеств отходов, характеризующихся высоким содержанием ценных нецелевых компонентов, поэтому целью настоящей работы явилась разработка научных основ технологии, позволяющей получать в ходе одного технологического цикла изолят белка сои, фракцию соевых изофлавоноидов и ингибиторы протеолитических ферментов.

В качестве сырья использовали белый лепесток. Было показано, что на первом этапе целесообразно проводить экстракцию изофлавоноидов этиловым спиртом. После удаления растворителя фракцию изофлавоноидов подвергают очистке от примесных белковых веществ и углеводов, а твердый остаток белого лепестка передают на стадию извлечения белковых веществ (кислотная экстракция, pH 2,0). Для выделения высокомолекулярной фракции белков был использован

метод ультрафильтрации с применением мембраны с отсекаемой молекулярной массой 100 кДа, при этом концентрат далее поступает на выделение изолята белка сои, а пермеат, обогащенный низкомолекулярными белковыми компонентами, является сырьем для выделения ингибиторов. Вторая стадия ультрафильтрации (с применением мембраны с отсекаемой молекулярной массой 20 кДа) позволяет разделить ингибиторы, из концентрата проводят осаждение ингибитора трипсина (Кунитца) этиловым спиртом, а из пермеата – ингибитора трипсина и химотрипсина (Баумана-Бирка) ацетоном. Для очистки ингибиторов протеаз были использованы методы диафильтрации и пересадения.

WORKING OUT OF SCIENTIFIC BASES OF TECHNOLOGY OF JOINT RECEPTION OF ISOFLAVONES, PROTEIN ISOLATE AND INHIBITORS OF PROTEOLYTIC ENZYMES FROM DEFATTED SOYA FLAKES

Khabiboulina N.V., Krasnoshtanova A.A.

*Mendeleyev University of Chemical Technology of Russia,
125047, Moscow, Miusskaya square, 9, faculty of biotechnology.*

Traditionally soya process basically on oil and albuminous products, however interest to the minor components containing in soybeans, which exhibit biological activity – isoflavones and inhibitors of trypsin and chymotrypsin - now grows. Reception of albuminous products and biologically active substances individually lead to formation of considerable quantities of the waste characterized by the high maintenance of valuable collateral components, therefore the purpose of the present work was working out of scientific bases of the technology, allowing to receive during one work cycle soybean protein isolate, fraction of soya isoflavones and inhibitors of proteolytic enzymes.

As raw materials the defatted soya flakes was used, and it has been shown that at the first stage it is expedient to spend isoflavones extraction with ethyl spirit. After removal of solvent the fraction of isoflavones passes a stage of clearing from albumens and carbohydrates, and the firm rest of a defatted soya flakes arrives on a stage of extraction of albumens (acid extraction, pH 2,0). For allocation of high-molecular fraction of albumens the method of an ultrafiltration with application of a membrane with the cut molecular weight 100 kDa has been used, thus the concentrate serves further for the allocation of protein isolate, and filtrate, enriched with low-molecular albuminous components, is a raw materials for allocation of inhibitors. The second stage of an ultrafiltration (with application of a membrane with the cut molecular weight 20 kDa) allows to divide inhibitors, from a concentrate the sedimentation trypsin inhibitor (Kunitz inhibitor) by ethyl spirit is spent, and from filtrate the sedimentation of trypsin and chymotrypsin inhibitor (Bowman-Birk inhibitor) by acetone is spent. For increase in degree of cleanliness of inhibitors of proteases methods of diafiltration and resedimentation have been used.

КОМПЛЕКСНАЯ ПЕРЕРАБОТКА ОТХОДОВ ЛЕСОЗАГОТОВКИ

Хаматаев Р.В.¹, Ступин А.Ю.², Мерекина В.В.³, Акопян В.Б.², Алдошина Е.А.³

¹ОАО «ВСКБТ», ул. Гидролизная, 1, 665250, Иркутская обл., г. Тулун;

²ОАО «ГосНИИсинтезбелок», ул. Александра Солженицына, 27109004, Москва;

³МГУ ИЭ, Москва, ул. Старая Басманная, 21/4, 107884

При заготовке древесного сырья используется в лучшем случае около 30 % в виде деловой древесины. Однако технология превращением древесных отходов в целый веер полезных продуктов вполне реализуема.

Из измельченного древесного сырья извлекают специфические экстрактивные вещества, в частности смолу, обладающую широким спектром полезных свойств.

После удаления смолы, древесина подвергается ферментативному гидролизу, трансформирующему целлюлозу в сахара. При этом высвобождается лигнин - сырье для производства ванилина, активированного угля, дубящих веществ, удобрений, уксусной и щавелевой кислот, фенола, горящих без копоти пеллет и еще ряда полезных продуктов.

Освобожденные от лигнина сахара - основное питательное вещество для синтезирующих органические растворители, в частности бутанол, микроорганизмов. Полученные гидролизом древесины сахара практически не отличаются от таковых, полученных из других источников, и могут быть использованы в микробиологических производствах витаминов, антибиотиков, и ценных для различных отраслей промышленности соединений.

В процессе бутанольно-ацетонового брожения образуются не только органические растворители бутанол-ацетон-этанол, но также водород и углекислый газ.

Водород находит широкое применение в промышленности, а в топливных элементах, давно используемых в космических программах, реакцией окисления водорода в мембранном электрохимическом процессе получают электричество, тепло и воду.

Диоксид углерода входит в состав газированной воды и лимонада. Жидкой углекислотой экстрагируют из растительного сырья ценные соединения. Твердая углекислота используется в морозильных установках.

Образующийся в процессе брожения ацетон также представляет собой хорошо известное и весьма ценное вещество, используемое в промышленности как растворитель и сырье для синтеза целого ряда других органических соединений. Питательные вещества, оставшиеся в среде после брожения, равно как и излишки сахаров, можно использовать для выращивания дрожжей, потребность в которых всегда велика.

ОАО Корпорация «Биотехнологии», закладывая основы производства биотоплива второго поколения, будет полностью перерабатывать все содержащиеся в дереве компоненты, и выпускать широкий спектр нужных человеку продуктов.

INTEGRATED WOOD-WASTES TREATMENT

Khamataev P.V.¹, Stupin A.Yu.², Merekina V.V.³, Akopyan V.B.², Aldoshina E.A.³

¹ VSKTB, 1 Hidroliznaia Str., 665250, Tulun, Irkutsk Reg.

² OAO GosNII sintezbelok, ul. Aleksandra Solzhenitsyna 27, Moscow, 109004, Russia

³ Moscow State University of Environmental Engineering,
21/4, Staraya Basmannaya str., Moscow, 105066, Russia

At the best about 30 % of wood raw material is used in the form of industrial timber. However the technology of a wood waste transformation into the useful products is quite realized.

Specific extractive substances of wide spectrum properties are possible to extract from the sawdust. After removal of resins, wood cellulose by enzyme hydrolysis transforming may be converted into the sugar and pure lignin which is raw materials for vanillin, activated coal, tanning substances, fertilizers, acetic and oxalic acids, phenol, burning without a soot pellets and of some useful products manufacturing. Liberated from the lignin sugar is the main nutrient for microbiological synthesizing of organic solvents, butanol for example.

Wood sugars don't differ from those obtained from other sources, and can be used in the microbiological production of vitamins, antibiotics, and valuable for various industries compounds.

During the acetone-butanol fermentation not only organic solvents butanol-acetone-ethanol is formed, but also hydrogen and carbon dioxide.

Hydrogen has wide application in industry. The dioxide of carbon has a application in production of carbonated beverages. Liquid carbonic acid is used for valuable biological active components from vegetative raw materials. Solid carbon dioxide is used in freezer.

Acetone which appears during fermentation also represents well-known and valuable substance for industry as solvent and raw materials for synthesis of variety of other organic substances. The rests after fermentation, and surpluses of sugars is possible to use for cultivation of yeasts which are rich source of proteins.

ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОИЗВОДСТВА КОРМОВЫХ ДРОЖЖЕЙ

Харина М.В., Мухачев С.Г., Валеева Р.Т., Логинова И.В., Нуртдинов Р.М.

Казанский государственный технологический университет,
420015 г. Казань, ул. Карла Маркса, д.68

При проведении промышленных экспериментов часто возникает потребность выполнения полного балансового расчета. Например, когда фиксация технологического эффекта (прироста производительности) происходит в условиях нестабильности базового показателя (расхода или состава питательной среды) и требуется пересчитать эффект относительно величины скорости потока, принятой за базовое значение.

Однако в условиях производства не обязательно имеются все необходимые средства измерения. Поэтому встает задача поиска дополнительных соотношений, которые могли бы быть использованы в балансовых расчетах таким образом, чтобы снизить число экспериментально фиксируемых параметров.

Предложен итерационный метод расчета материального баланса процесса аэробного культивирования микроорганизмов на сложных средах, основанных на использовании спиртовой барды, при неполной информации о материальных потоках. Метод основан на применении

альтернативных вариантов расчета баланса массы барды и потерь сухих веществ барды за счет срабатывания углеродных субстратов в энергетическом обмене с образованием углекислого газа.

Решена задача оптимального управления процессом производства СКД с использованием математической модели. Оптимизация режимных параметров, включая распределение потока барды между реакторами, позволяет без модернизации оборудования увеличить производительность цеха СКД на 18,6% без ухудшения качества продукта.

Для проведения расчётов была выбрана среда MathCad, что позволило совместить стандартные процедуры поиска решений ЧНУ с поиском оптимальных значений производительности и существенно сократить материальные и временные затраты на расчёты.

Итерационный метод расчета баланса не требует измерения расходов потока барды и культуральной жидкости, необходимость чего вызвана крайней недостаточностью средств КИПиА на большинстве действующих спиртовых заводов, а тем более цехов по переработке отходов.

IMPROVING THE EFFICIENCY OF FODDER YEAST PRODUCTION

Kharina M.V., Mukhachev S.G., Valeeva R.T., Loginova I. V., Nurtudinov R.M.

*Kazan State Technological University,
420015, Kazan, K. Marks st., 68*

When carrying out industrial experiments often need to perform a full balance calculation. For example, when fixation of technological effect (increment of productivity) takes place in a conditions of instability basic parameter (rate or composition of the nutrient medium) and required recalculate effect in relation to value of the velocity of flow, taken as the base value.

However, in industrial conditions there aren't necessarily all the required tools of measurement. Therefore, there is a problem finding additional relationships, that could be used in balance calculations so as to reduce the number of parameters, which recorded experimentally.

Suggested the method for calculating the material balance of aerobic cultivation of microorganisms on complex nutrient mediums, based on the usage of alcohol stillage, with incomplete information about material flows. The method is based on the use of alternative variants calculation of the mass balance of alcohol stillage and loss of solids alcohol stillage through contribution of carbon substrates in energy metabolism with the formation of carbon dioxide.

The problem of optimal operation of dry fodder yeast production is solved using a mathematical model. Optimization of operating parameters, including flow distribution of alcohol stillage between the reactors, allows to increase productivity of shed of dry fodder yeast at 18,6% without compromising product quality and modernization of equipment.

For the calculations was chosen MathCad environment, which allows to combine standard procedures to find solutions of system of non-linear equations with searching the optimal values of performance and significantly reduce material and time spent on calculations.

An iterative method for calculating the balance does not require measurement of flow rates alcohol stillage and culture fluid, which is caused by the need for extreme lack of monitoring measurement instrumentation and automation on the majority of existing distilling plants, and the more sheds for wastes recycling.

СИНТЕЗ 4-ГИДРОКСИИЗОЛЕЙЦИНА МЕТОДОМ БИОТРАНСФОРМАЦИИ

Киверо А.Д.¹, Кодера Т.², Котлярова В.А.¹, Рушкевич Н.Ю.¹, Самсонова Н.Н.¹, Смирнов С.В.¹

¹ Научно-исследовательский институт Аджиномото-Генетика (ЗАО «АГРИ»),

г. Москва, Россия

² Институт Науки Жизни, Аджиномото Ко., инк., Сузуки-чо, Кавасаки-ку, Кавасаки-ши, 210-8681, Япония

Введение. 4-гидроксиизолейцин (4-HIL) является биогенной аминокислотой, обладающей ярко выраженной инсулинотропной активностью. Действие 4-HIL строго пропорционально концентрации глюкозы в крови человека. Это позволяет регулярно использовать 4-HIL в качестве пищевой добавки без возникновения гипогликемии. Таким образом, 4-HIL является перспективным средством для терапии и профилактики диабета II типа. Существующие сегодня методы химического синтеза 4-HIL являются сложными и дорогими процессами. Новым эффективным методом синтеза 4-HIL может стать биотрансформация L-изолейцина в 4-HIL посредством гидроксилирования.

Результаты. Известно, что L-изолейцин диоксигеназа (IDO) из *Bacillus thuringiensis* обладает способностью катализировать искомую биотрансформацию, сопряжённую с окислением α -кетоглутарата до сукцината. Таким образом, в клетках с генотипом (Δ sucAB, Δ aceAK) окисление субстрата является единственным способом эффективно синтезировать сукцинат. Поэтому, экспрессия гена IDO при культивировании штамма MG1655[pELAC-IDO(Lys, 23)] Δ sucAB, Δ aceAK на минимальной среде, содержащей глюкозу, Fe(II), аскорбат и L-изолейцин, привела к активному росту бактерий и синтезу 4HIL. Полученная невысокая эффективность трансформации (74 %) могла быть вызвана одним из возможных путей утилизации 4HIL (деаминирование продуктом гена *ilvE* - трансаминазой B). Следовательно, полученный штамм MG1655[pELAC-IDO(Lys, 23)] Δ sucAB, Δ aceAK, Δ ilvE показал увеличение эффективности продукции 4HIL до 88 %.

Закключение. В результате проведенных исследований сконструирован штамм для биотрансформации L-изолейцина в 4-HIL на основе шунтирования цикла Кребса в клетках *E.coli* за счет сопряженного окисления изолейцина и α -кетоглутарата. Предложенный подход может быть использован для гидроксилирования других аминокислот с использованием соответствующих диоксигеназ. Разработанный метод биотрансформации может существенно снизить себестоимость 4-HIL.

SYNTHESIS OF 4-HYDROXYISOLEUCINE BY BIOTRANSFORMATION METHOD

Kivero A. D.¹, Koder Tomohiro², Kotlyarova V. A.¹,
Rushkevich N. Yu.¹, Samsonova N. N.¹, Smirnov S. V.¹

¹ Ajinomoto-Genetika Research Institute, 1st Dorozhny pr. 1, Moscow, 117545, Russia

² Life Sciences, Ajinomoto Co., INC., Suzuki-cho, Kawasaki-ku, Kawasaki-shi, 210-8681, Japan

Introduction. 4-hydroxyisoleucine (4-HIL) is a natural nonproteinogenic amino acid possessing insulinotropic biological activity. 4HIL action is strictly dependent on the glucose concentration. This unique property allows regularly using 4HIL as a dietary supplement avoiding undesirable side effects such as hypoglycemia. Thus 4-HIL is a very perspective drug for the treatment and prevention of type II diabetes. At this moment there are chemical methods of 4-HIL syntheses, which are very expensive and difficult processes. Biotransformation L-isoleucine to 4-HIL by hydroxylation can be new effective method of 4-HIL synthesis.

Results. It is known, that L-isoleucine dioxygenase (IDO) from *Bacillus thuringiensis* has possibility to catalyze the desirable biotransformation conjugated with oxidation of α -ketoglutarate to succinate. Thus, in the cells with genotype (Δ sucAB, Δ aceAK) isoleucine hydroxylation is single mode for the effectively synthesis of succinate. Indeed, expression the IDO gene in MG1655 [pELAC-IDO(Lys, 23)] Δ sucAB, Δ aceAK strain during cultivation at minimal medium supplemented with glucose, Fe(II), ascorbate and L-isoleucine resulted in active bacteria growth and 4HIL synthesis. However, the effectiveness of transformation was only 74%. It may be result of 4HIL deamination by ilvE gene product (transaminase B). Consequently, obtained MG1655 [pELAC-IDO(Lys, 23)] Δ sucAB, Δ aceAK, Δ ilvE strain shown increasing of 4HIL productivity effectiveness up to 88%.

Conclusion. As a result of the performed investigation the *E.coli* strain was constructed for biotransformation of L-isoleucine into 4-HIL by coupling the oxidation of L-isoleucine and α -ketoglutarate thereby shunting the Krebs cycle. Proposed method can be used for hydroxylation of other amino acids with utilization of corresponding dioxygenases. Developed effective method of biotransformation can appreciably decrease cost of 4-HIL.

МАЛООТХОДНАЯ ТЕХНОЛОГИЯ ПЕРЕРАБОТКИ БЕЛОГО ЛЕПЕСТКА СОИ С ПОЛУЧЕНИЕМ ПРОДУКТОВ БЕЛКОВОЙ И УГЛЕВОДНОЙ ПРИРОДЫ

Красноштанова А.А., Хабибулина Н.В.

*Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева,
125047, г. Москва, Миусская площадь, д. 9, кафедра биотехнологии*

Одним из путей решения проблемы дефицита белка является разработка новых технологий получения пищевого белка из возобновляемого сырья, прежде всего, растительного. Среди растительного белоксодержащего сырья лидирующая роль принадлежит соевым бобам. Современные технологии переработки сои предполагают получение белковых концентратов и изолятов на основе белого лепестка – полупродукта, получаемого после отжима соевого масла. Процесс выделения соевого белка сопровождается образованием значительного количества твердых и жидких отходов. Как показали наши исследования, жидкие отходы содержат значительное количество ингибиторов пищеварительных ферментов (Баумана-Бирка и Кунитца). Твердые отходы переработки сои содержат значительное количество углеводов, среди которых наибольший практический интерес представляют стахиоза и раффиноза, и изофлавоноидов.

Целью данных исследований явилась разработка малоотходной технологии переработки белого лепестка сои с получением в одном технологическом цикле белкового изолята, кормового белкового продукта, стахиозы, раффинозы, ингибиторов пищеварительных ферментов и изофлавоноидов.

Предложены основы технологии получения белкового продукта кормового назначения, содержащего не менее 30% сырого протеина и 70% монофосфата кальция, из белоксодержащих жидких отходов производства изолята белка сои. Разработаны основы технологии получения раффинозы и стахиозы с содержанием основного вещества не менее 90% из депротенизированного белого лепестка.

Подобраны оптимальные условия экстракции изофлавоноидов этиловым спиртом с последующей очисткой методом жидкость – жидкостной экстракции. Подобраны оптимальные условия разделения ингибиторов пищеварительных ферментов методом ультрафильтрации и осаждения органическими растворителями.

LOW-WASTE TECHNOLOGY FOR PROCESSING OF THE WHITE PETALS OF SOYBEAN TO PRODUCE PRODUCTS OF PROTEIN AND CARBOHYDRATE NATURE

Krasnoshtanova A.A.

*Mendeleev University of Chemical Technology of Russia,
125047, Moscow, Miusskaya Square, 9, Department of Biotechnology*

One way to solve the problem of protein deficit is the development of new technologies for producing food protein from renewable raw materials, above all vegetable. Among plant protein-containing raw materials leading role belongs to soybeans.

Modern technologies of soybean processing involve obtaining protein concentrates and isolates, based on defatted soya flakes - intermediate product obtained after extraction of soybean oil. The process of isolation of soy protein is accompanied by a significant amount of solid and liquid wastes. As shown by our study, liquid wastes contain significant amounts of inhibitors of digestive enzymes (Baumann-Birk and Kunitz). Solid wastes of soybean treatment contain significant amounts of carbohydrates, among which the greatest practical interest offers stachyose and raffinose, and isoflavones.

The purpose of this research was to develop low-waste technology for processing the soy flakes to produce in a single technological cycle protein isolate, protein feeding product, stachyose, raffinose, inhibitors of digestive enzymes and isoflavones.

Proposed the fundamentals of technology for the protein feeding product containing not less than 30% crude protein and 70% calcium monophosphate from protein-containing liquid waste from the production of soy protein isolate.

The fundamentals of the technology of raffinose and stachyose with in the content of the basic substance of at least 90% from soya flakes were proposed.

Optimal conditions for extraction of isoflavones with ethyl alcohol followed by purification by liquid - liquid extraction were taken up. Optimal conditions for separation of inhibitors of digestive enzymes by ultrafiltration and precipitation by organic solvents were taken up.

РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМА ПОЛУЧЕНИЯ ПОЛИМЕРНЫХ КОМПОЗИЦИЙ С РЕГУЛИРУЕМОЙ БИОСТОЙКОСТЬЮ

**Кряжев Д.В., Смирнова Л.А., Мочалова А.Е., Смирнов В.Ф.,
Зотов К.А., Сеницина Ю.В., Стручкова И.В.**

*НИИ химии ГОУВПО «Нижегородский государственный университет им.
Н.И. Лобачевского»;
603022, г. Нижний Новгород, пр-т Гагарина 23, корп.5*

Биостойкость и биоразлагаемость различных полимерных материалов является важной эколого-технологической проблемой. Важная роль в процессах деструкции материалов принадлежит микроорганизмам, а именно микроскопическим грибам.

Одним из способов регулирования биостойкости является введение в состав композиций различных присадок, способных как ингибировать, так и активировать метаболические процессы микроорганизмов, участвующих в начальных этапах деструкции материалов.

В связи с этим в модельных экспериментах нами исследовалось действие трех различных по химическому строению биоцидов: экодез, катон, сульфат меди; и активатора (хлористый кальций) на активность экзоферментных систем микромицетов в процессе деструкции ими гибридных

композиций на основе природных и синтетических полимеров. Результаты исследований показали, что экодез способен ингибировать активность эстеразы, каталазы, хитозаназы и целлюлазы; катон ингибирует хитозаназу, целлюлазу, амилазу; сульфат меди – фенолоксидазу, эстеразу, хитозаназу, целлюлазу, каталазу и амилазу. Таким образом, введение этих биоцидов в рецептуру соответствующих композиций способно снижать у них способность к биоутилизации. При добавлении хлористого кальция, напротив возрастает активность каталазы, протеиназы, целлюлазы и фенолоксидазы, что в конечном счете может снижать биостойкость композиций и ускорять разрушение их синтетических и природных составляющих.

Полученные результаты позволили нам разработать алгоритм получения полимерных материалов с регулируемой биостойкостью.

WORKING OUT OF ALGORITHM OF RECEPTION OF POLYMERIC COMPOSITIONS WITH ADJUSTABLE BIOFIRMNESS

**Kryazhev D.V., Smirnova L.A., Mochalova A.E., Smirnov V.F.,
Zotov K.A., Sinitsina U.V., Strychkova I.V.**

*Research institute of chemistry, "Nizhegorodski state university named after N.I. Lobatchevski"
603022, Nizhniy Novgorod, 23 Gagarina Ave., building 5*

Bioresistance and biodegradation of different polymeric materials is an important ecological and technological problem. The important role in processes of destruction of materials belongs to microorganisms, to be specific microscopic fungi.

One of the way of regulation of biofirmness is introduction in structure of compositions various additives, capable as to inhibit and to activate metabolic processes of the microorganisms participating in the initial stages of destruction of materials.

In this connection we investigated in modeling experiments action of three various biocides: ecodez, kathon, copper sulfate; and the activator (chloride calcium) on activity of exoenzymes systems of micromycetes in process of destruction of hybrid compositions on the basis of natural and synthetic polymers. Results of researches have shown that ecodez is capable to inhibit the activity of esterase, catalase, chitosanase and cellulase; kathon is capable to inhibit the activity of chitosanase, cellulase, amylase; copper sulfate is capable to inhibit the activity of phenoloxidase, esterase, chitosanase, cellulase, catalase and amylase. Thus, introduction of these biocides in a compounding of corresponding compositions is capable to reduce ability to biorecycling at them. At addition of chloride calcium, activity of catalase, proteinase, cellulase and phenoloxidase increases, that finally can reduce biofirmness of compositions and accelerate destruction of their synthetic and natural components.

The received results have allowed us to develop algorithm of reception of polymeric materials with adjustable biofirmness.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ И ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ РЕАБИЛИТАЦИИ ТЕРРИТОРИИ УРАНОВЫХ РУДНИКОВ ПО ОБЕСПЕЧЕНИЮ БЕЗОПАСНОСТИ

**Кулажанов К.С., Ректор, д.т.н., академик,
Туменов С.Н., д.т.н., профессор, Лесова Ж.Т., к.т.н., доцент,
Свамбаев А., д.б.н., профессор;**

АО Алматинский Технологический Университет

Свамбаев Ж. А., Свамбаев Е. А., Тусупбекова С.Т., Султанбеков Г.А.;

ООО ФТВ "Сотрапу" 050060г. Алматы, пр. Гагарина, 232 – 29;

Тел. Факс (8727-2) 49-06-83; Моб. 87013620897. E-mail: svaman1@rambler.ru

Действие излучения на вещество проявляется в ионизации атомов и молекул, входящих в состав данного вещества. Поэтому любой радиоактивный источник представляет потенциальную опасность для окружающих. Экологическое загрязнение биологической среды происходит при добыче урана различными способами. Для обеспечения безопасности при добыче и переработке компаниями обеспечивается регламентированный ведомственный контроль с использованием физических измерительных приборов. Однако эти приборы в основном измеряют мощность экспозиционной дозы радиации.

Производственники для оценки действия радиации рассчитывают мощность эквивалентной дозы путем замера. Предельно допустимое значение мощности эквивалентной дозы излучения измеряют на известной точке внешней поверхности радиационного объекта, и умножают на 100, таким путем выводит транспортный индекс радиации. Такой метод не обеспечивает **биологические и экологические основы безопасности реабилитируемых площадей урановых рудников и загрязненных радиационными частицами территории и объектов.**

Для оценки по обеспечению безопасности мы предлагаем использовать биологические объекты, которые даст безошибочную информацию.

BIOLOGICAL AND ECOLOGICAL BASES OF REHABILITATION OF TERRITORY OF URANIUM MINES ON A SAFETY

**Kulzhanov K.S., The rector, d.t.s., The academician,
Tumenov S.N., d.t.s., the professor, Lesova Z.T., Cand.Biol.Sci., the docent,
Svambayev Amanbek., d.b.s., the professor;**

Joint-stock company Almaty Technological University

Svambayev Zhassulan Amanbekovich, Svambayev Yerkebulan Amanbekovich, Tusupbekova Sania Temirgalievna, Sultanbekov Galymbek Adilbovich, The senior scientific employees;

Open Company FTV " Company " 050060. Almaty, Pr. Gagarin 232 - 29,

Fax. (8727-2) 49-06-83; E-mail: svaman1@rambler.ru

Action of radiation on substance is shown in ionization of atoms and the molecules included in the given substance. Therefore any radioactive source represents potential danger to associates. Ecological pollution of biological environment occurs at extraction of uranium by various ways. For good safety at extraction and processing by the companies the regulated departmental control over use of physical measuring devices is provided. However these devices measure capacity of an exposition doze of radiation basically.

Production workers for an estimation of action of radiation expect capacity of an equivalent doze

by gauging. Maximum permissible value of capacity of an equivalent dose of radiation measure on a known point of an external surface of radiating object, and multiplies on 100, in such way deduces a transport index of radiation. Such method does not provide biological and ecological bases of safety of the rehabilitated areas of uranium mines and polluted with radiating particles of territory and objects.

For an estimation on a safety we suggest to use biological objects which will give the correct information.

ЗАВИСИМОСТЬ ИНТЕНСИВНОСТИ РОСТА ПЛЕСНЕВОГО ГРИБА *PENICILLIUM VERRUCULOSUM* PEYRONEL ОТ СОДЕРЖАНИЯ САХАРОЗЫ В ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ

Купреева М.Д., Волкова П.А.

Московская гимназия на Юго-Западе (№1543),

119526, Москва, ул. 26 Бакинских комиссаров, д. 3, корп. 5.

Изучение плесневых грибов из рода пеницилл имеет большое практическое значение для человека. Эти грибы используют в производстве ферментов, витаминов, органических кислот и антибиотиков, а также особых сортов сыра, поэтому выяснение оптимальных условий для роста пенициллов – весьма актуальная задача.

Одна из ключевых характеристик условий культивации пенициллов – концентрация углеводов в питательной среде. В качестве оптимальной рекомендована довольно низкая концентрация (30 г сахарозы на 1 л раствора: ГОСТ 9.048-89). Нам не удалось найти количественные данные, отражающие влияние этого параметра на скорость роста пеницилла. Мы решили проверить, не может ли скорость роста пеницилла быть повышена посредством увеличения концентрации сахарозы в питательной среде.

В качестве модельного объекта использовали обычный вид *Penicillium verruculosum* Peyronel. Гриб культивировали в стерильных условиях в чашках Петри на питательной среде Чапека-Докса при комнатной температуре. Мы протестировали три концентрации сахарозы: одна ниже рекомендуемой (10 г/л, 15 чашек Петри) и две – выше (60 г/л, 15 чашек Петри и 110 г/л, 11 чашек Петри). Посев произвели 6 октября 2010 года. Измерения площади мицелия проводили один раз в 3-4 дня, начиная с 26-ого дня после посева (1, 5, 8 и 12 ноября).

Во все четыре дня наблюдений отмечена положительная высоко достоверная линейная зависимость (корреляционный тест Спирмена: $p < 0.01$) площади мицелия от концентрации сахарозы в питательной среде.

Таким образом, в исследованном диапазоне концентрации сахарозы в питательной среде (10 – 110 г/л) наблюдается положительная линейная зависимость интенсивности роста плесневого гриба *P. verruculosum* от этого параметра. Полученный результат можно объяснить тем, что сахароза в использованной среде Чапека-Докса – единственный источник органических веществ и, следовательно, важнейший лимитирующий фактор для роста плесневого гриба. Таким образом, в ходе нашего исследования получены новые данные о влиянии условий культивирования на интенсивность роста плесневого гриба пеницилла, что может иметь успешное практическое применение.

THE DEPENDENCE OF INTENSITY OF GROWTH OF *PENICILLIUM VERRUCULOSUM* PEYRONEL ON CONTENT OF SUCROSE IN THE NUTRIENT MEDIUM

Kupreeva M.D., Volkova P.A.

The study of mold fungi of genus *Penicillium* has big practical importance for people. These fungi are used in production of enzymes, vitamins, organic acids and antibiotics, and also in production of special kinds of cheese, that is why it is a very actual scientific problem to find out the most optimal conditions for growth of *Penicillium* species.

One of the main characteristics of cultivation conditions for *Penicillium* is concentration of carbohydrates in the nutrient medium. As an optimal concentration it is recommended to take rather low content (30 g for 1 L of the solution: GOST 9.048-89). We have not managed to find any quantitative data about influence of this parameter on the speed of *Penicillium* growth. We have decided to find out if we can increase the speed of *Penicillium* growth by increasing the sucrose concentration in the nutrient medium.

We have used *Penicillium verruculosum* Peyronel as a model object. It was cultivated in the sterile conditions in Petri dishes with Chapec-Dox medium. We have tested three concentrations of sucrose: one was lower than the recommended one (10g/L, 15 Petri dishes) and two concentrations were higher than the recommended one (60 g/L, 15 Petri dishes; 110g/L, 11 Petri dishes). The plating was made on 6th of October 2010. We measured the area of mycelium every 3-4 days starting from the 26th day from the plating (1st, 5th, 8th and 12th of November).

During all four days of observation we registered a significant mycelium area's linear dependence on the sucrose concentration in nutrient medium (Spearman's Rank Correlation Test: $p < 0.01$).

There is a significant linear dependence of intensity of *P. verruculosum* growth on sucrose content in the investigated range of sucrose concentration (10 – 110 g/L). This result can be explained by the fact that sucrose in Chapec-Dox medium is the only source of organic compounds. Thus it is the most important limiting factor for the mycelium growth. During our study we have revealed new facts about the influence of cultivation conditions on the intensity of *Penicillium* growth that can have successful practical application.

ПИЛОТНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В БИОТЕХНОЛОГИИ ГРИБОВ

Кузнецова О.В.¹, Смотрова Н.Г.², Лисицкая С.М.³

¹Институт ботаники им. Н.Г.Холодного НАН Украины,
01601, г. Киев-1, ул. Терещенковская, 2;

²Днепропетровская государственная медицинская академия,
49044, г. Днепропетровск, ул. Дзержинского, 9;

³Национальный горный университет,
49627, г. Днепропетровск, просп. К.Маркса, 19

Культивирование грибов – одна из наиболее интенсивно развивающихся в последнее время отраслей биотехнологии. И это не только грибоводство – получение плодовых тел в искусственных условиях, но и культивирование макро- и микромицетов с целью синтеза биологически активных веществ (БАВ): витаминов, гормонов, ферментов. Большинство из этих соединений успешно получают путем пилотных производств.

Проведены исследования с использованием стимуляторов роста (гиббереллин, гетероауксин, биогумат, фумар) с целью изучения их влияния на морфогенез макромицетов рода *Pleurotus* в

поверхностной и глубинной культуре. Отмечено комплексное воздействие биостимуляторов на рост гриба на разных стадиях онтогенеза: сокращение лаг-фазы, увеличение радиальной скорости роста мицелия, уменьшение сроков появления примордиев и плодовых тел, увеличение биомассы, продуктивности гриба, повышение содержания белка в плодовых телах. При глубинном культивировании *Pleurotus ostreatus* (штамм НК-35) с использованием стимуляторов роста обнаружили повышение активности грибных ферментов – фенолоксидаз.

Сотрудниками Днепропетровской государственной медицинской академии изучены условия и параметры использования микромицета морфологической группы дрожжей *Aureobasidium pullulans*, выделенного из почвы, как продуцента глюкозооксидазы для определения глюкозы крови. Культивирование гриба проводили на грибном агаре (на основе *Pleurotus ostreatus*). Из культуральной жидкости выделяли ферментный комплекс, содержащий глюкозооксидазу. Показана возможность использования клеток *Aureobasidium pullulans* в качестве биосенсора для определения глюкозы в биологических жидкостях.

Проведенные пилотные исследования показали их актуальность и необходимость в биотехнологии грибов и, в частности, в биотехнологии ферментов.

PILOT STUDIES IN BIOTECHNOLOGY OF FUNGI

Kuznetcova O.V.¹, Smotrova N.G.², Lisitskaya S.M.³

¹*N.G. Kholodny Institute of Botany of the National Academy of Sciences of Ukraine, 01601, Kyiv-1, Tere-schenkivska str., 2;*

²*Dnipropetrovsk State Medical Academy, 49044, Dnipropetrovsk, Dzerzhinsky str., 9;*

³*National Mining University, 49627, Dnipropetrovsk, Ave. Marx, 19.*

The cultivation of fungi - one of the most intensively developing in lately the biotechnology industry. And it's not just mushroom – the receiving of the fruiting bodies in artificial conditions, but also the cultivation of macro- and micromycetes in order to synthesis of biologically active substances (BAS): vitamins, hormones, enzymes. Most of these compounds are successfully produced by the pilot production.

The investigations with the use of growth stimulators (gibberellin, heteroauxin, biogumat, fumar) to purpose of study their effects on morphogenesis macromycetes genus *Pleurotus* in surface and submerged culture are conducted. It is noted the combined effect of biostimulators on the growth of the fungus at different stages of ontogeny: reducing the lag-phase, increasing the radial growth rate of mycelium, the decrease in times of occurrence of primordia and fruiting bodies, the enhancement of biomass, productivity of the fungus and protein content in the fruiting bodies. During submerged cultivation *Pleurotus ostreatus* (strain NK-35) with the use of growth stimulators found increased activity of fungal enzymes – phenoloxidas.

Employees of the Dnipropetrovsk State Medical Academy studied the conditions and parameters of using morphological group micromycetes yeast *Aureobasidium pullulans*, isolated from soil, as a producer of glucoseoxidase for the determination of blood glucose. The cultivation of the fungus was carried out on a mushroom extract agar (based on *Pleurotus ostreatus*). From the culture fluid was isolated enzyme complex that contains glucoseoxidase. It is shown the possibility of using cells *Aureobasidium pullulans* as a biosensor for glucose determination in biological fluids.

Pilot studies have shown its relevance and the need for biotechnology mushrooms, in particular, biotechnology of enzymes.

БАКТЕРИОДОПСИН СИНТЕЗИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ *HALOBACTERIUM SODOMENSE K91R*

Лобанова К.В., Ташпулатов Ж.Ж., Гулямова Т.Г.

Институт микробиологии АН РУз,

100128, Узбекистан, Ташкент, ул. А.Кадыри 7Б, imbasru@uzsci.net

Из образцов соли, отобранных из солончака Барса Келмес (плато Устюрт, Каракалпакстан) нами были впервые выделены экстремально галофильные бактерии, отнесенные к галоархеям семейства *Halobacteriaceae*, обладающие способностью к синтезу пигментов каротиноидного ряда. При электрофоретическом разделении внутриклеточных белков штамма, идентифицированного как *Halobacterium sodomense K91r*, обнаружен белок, соответствующий стандартному бактериородопсину.

В этой связи было проведено изучение характера накопления бактериородопсина в динамике роста культуры на жидких средах № 44 и Брауна. Установлено, что экспоненциальная фаза роста микроорганизма как на среде №44, так и на среде Брауна, длится до 11 суток, но интенсивное накопление бактериородопсина начинается лишь на 5-6 сутки культивирования. Показано, что прирост биомассы *H. sodomense K91r* на среде Брауна происходит более интенсивно, чем на среде №44. Тем не менее, уровень накопления бактериородопсина в динамике роста *H. sodomense K91r* как на среде №44, так и на среде Брауна, существенно не отличался. Определение количественного содержания пигмента показало, что его максимальное количество на среде №44 достигается на 11 сутки и составляет 11,3 мг/л, а на среде Брауна на 10 сутки и составляет 10 мг/л. На 14 сутки культивирования на обеих средах концентрация бактериородопсина заметно снижается.

Согласно литературным данным, представители рода *Halobacterium* без оптимизации условий способны накапливать до 12-20 мг/л бактериородопсина. Очевидно, что выделенный местный штамм *H. sodomense K91r*, накапливающий 11 мг бактериородопсина на 1 л среды, может рассматриваться как потенциальный продуцент.

BACTERIORHODOPSIN SYNTHESIZING ACTIVITY OF *HALOBACTERIUM SODOMENSE K91R*

Lobanova K.V., Tashpulatov J.J., Gulyamova T.G.

Institute of microbiology,

7B A.Kadyri street, Tashkent, Uzbekistan, 100128, imbasru@uzsci.net

For the first time extremely halophilic bacteria were isolated from salt samples of the salt marsh Barsa-Kelmes (plateau Ustyurt, Karakalpakstan). They were identified as haloarchaea from *Halobacteriaceae* family possessing ability to synthesize carotenoid pigments. Electrophoretic separation of intracellular proteins of the strain *Halobacterium sodomense K91r* revealed the protein corresponding to standard bacteriorhodopsin.

In these regards, a study of character of bacteriorhodopsin accumulation was conducted in growth dynamics of the culture on liquid media № 44 and Brown. It was established that exponential phase of growth of the microorganism both on medium #44 and on Brown medium lasts till 11 days, but intensive accumulation of bacteriorhodopsin starts only from 5-6 days. It was determined that biomass growth of *H. sodomense K91r* on Brown medium runs more intensively rather than on medium #44. Nevertheless, the level of bacteriorhodopsin accumulation in dynamics of growth of *H. sodomense K91r* both on medium #44

and Brown medium did not vary greatly. Determination of quantitative content of pigment revealed that its maximum quantity on medium #44 is observed on 11th day (11.3 mg/l) and on Brown medium on 10th day (10 mg/l). on 14th day of cultivation the bacteriorhodopsin concentration on both media considerably decreases.

According to available data representatives of the genus *Halobacterium* are capable to accumulate up to 12-20 mg/l of bacteriorhodopsin without optimization of cultivation conditions. Obviously, indigenous strain *H. sodomense* K91r accumulating 11 mg/l of bacteriorhodopsin may be considered as potential producer as well.

ИССЛЕДОВАНИЕ НОВОГО МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ КЛЕЙКОСТИ ХЛОПКОВОГО ВОЛОКНА

Лусинян И.В., Сергеев К.В., Пехташева Е.Л., Масталыгина Е.Е.

*ОАО «Центральный научно-исследовательский текстильный институт» (ОАО «ЦНИТИ»),
119071, г.Москва, ул.Орджоникидзе, д.12;*

*Российская экономическая академия им. Г.В. Плеханова
(кафедра товароведения и товарной экспертизы),
115998, г. Москва, Стремянный пер., д.3*

Под термином клейкость хлопкового волокна подразумевается совокупность различных сахаров, вызывающих нежелательные явления налипания на рабочие органы оборудования в процессе производства, что приводит к поломкам машин и снижению качества продукции (пряжи). Клейкость в основном происходит от энтомологических сахаров, производимых насекомыми, такими как тля, белокрылка, и называется также «медовой росой». Кроме того, наличие на поверхности волокна сахаров, являющихся питательной средой для микроорганизмов, оказывает существенное влияние на биостойкость хлопкового сырья. В зависимости от региона произрастания, климатических условий для данного волокна, наличие вредителей, на волокне можно обнаружить сахарозу, глюкозу, мальтозу, трегалюлозу и т.д., и все эти сахара имеют различные физические характеристики (температуру плавления, температура разложения и т.д.) и по-разному влияют на процессы технологической переработки. От содержания каждого из сахаров и будет зависеть, насколько успешно будет перерабатываться данное волокно.

В мировой практике используется в основном химический способ обнаружения «медовой росы», основанный на окислительно-восстановительной реакции, позволяющей определить наличие моносахаров (глюкоза и фруктоза). Однако, как известно, моносахара оказывают незначительное влияние на налипание «медовой росы» на рабочие органы оборудования, тогда как такие сахара как трехалюлоза (trehalulose), мелицитоза (melezitoze) и могут повышать риск поломки оборудования и снижать качество пряжи. В последние годы появился наиболее объективный способ определения клейкости, имитирующий взаимодействие волокна с металлом под воздействием температуры, но требующий дорогостоящего оборудования.

Поэтому поиск объективного метода химического определения наличия вредоносных сахаров актуален. Цель настоящей работы состоит в исследовании предлагаемого химического экспресс метода определения клейкости с помощью раствора парааминобензойной кислоты, который позволил бы объективно выделять наличие сахаров, которые в большей мере вызывают налипание, и разработке нормативов по степени клейкости хлопка.

RESEARCH OF NEW METHOD TO DETERMINE THE STICKINESS OF COTTON FIBRES

Lusinyan I., Sergeev K., Pekhtasheva E., Mastaligina E.

“Central Scientific Research Textile Institute” OJSC

12, Ordzhonikidze, 119071, Moscow, RUSSIA

Plekhanov Russian Economic Academy (Department of Commodity Research and Expertise), 3 Stremyanny per., 115998, Moscow, RUSSIA

Cotton stickiness means the sum of different sugars, causes different undesirable processes of work area contamination in production, equipment breakages and as a result low quality of the product (yarn). The origin of stickiness, also known as “honeydew”, is entomologic sugars, produced by insects (aphid and whitefly). Moreover, the presence of such sugars on fibers could influence on bioresistance of cotton as nutrient.

We can also determine sucrose, glucose, maltose, trehalulose and etc. are sugars with different physical properties (melting point, decomposition point). They have different influence on technological processes.

In general the world practice based on different chemical tests of “honeydew” determination with oxidation-reduction process shows monosaccharides (glucose and fructose). As a matter of fact, monosaccharides bring less influence on result of honeydew stickiness in production processes than trehalulose and melezitose.

There is comprehensive but expensive method to imitate production conditions and determine the stickiness called thermodetection.

That’s why there is the problem of research a comprehensive chemical analysis to determine stickiness.

The aim of the research is to investigate the chemical test with para-aminobenzoic acid to obtain comprehensive results of stickiness and to develop the norms.

ВНЕДРЕНИЕ МЕТОДОВ НАНОБИОТЕХНОЛОГИИ В РАЗЛИЧНЫЕ ОБЛАСТИ БИОИНДУСТРИИ

Максимова Е.В.¹, Воробьева Г.И.², Максимова Г.Н.²

¹ООО «НаноБиоАктив»

²ОАО «ГосНИИсинтезбелок», Россия, Москва, Александра Солженицына, 27.

Представлены результаты исследований по использованию методов нанобиотехнологии с применением композиционных биостимуляторов (КБС) для интенсификации процессов получения целевых продуктов в различных биотехнологических производствах. Предлагаемые Композиционные биостимуляторы (КБС) включают ряд биологически активных компонентов, синергически усиливающих действие друг друга. Выявлено отсутствие токсичности и перспективность использования КБС в условиях промышленного производства как биомассы для пищевых и кормовых целей, так и этилового спирта. Показано, что введение в питательную среду КБС приводит к существенному улучшению практически всех технологических показателей и качества получаемых продуктов (повышение содержания белка в биомассе и снижение нежелательных примесей в этиловом спирте). Применение КБС позволяет получать значительные экономические эффекты без введения дополнительного оборудования и изменения технологических схем производства как за счет ускорения роста культуры, так и увеличения выхода целевых продуктов от используемых субстратов.

IMPLEMENTATION OF METHODS OF NANOBIO TECHNOLOGY IN DIFFERENT BIOINDUSTRIES

Maximova E.V.¹, Vorobieva G.I.², Maximova G.N.²

¹*NanoBioActiv*

²*JSC GosNII sintezbelok, Russia, Moscow, 109004, Alexandra Soljenitsina str, 27*

The article presents the results of research on applications of methods of nanobiotechnology with the use of composite biostimulators (KBS) for intensification of the processes of obtaining the products in different biotechnological productions. These composite biostimulators (KBS) include the number of biologically active components which synergically increase the effectiveness of each other. The advantages of use of KBS in industrial productions of biomass for food and feed purposes as well as for ethanol production are presented. The adding of KBS into the media gives significant increase of practically all technological parameters and quality of the products obtained (increase of protein content in biomass and decrease of undesirable impurities in ethanol). The application of KBS allows to get significant economical effects without use of additional equipment and without changing of technological production schemes due to acceleration of the culture growth and increase of the yields of end products.

ТЕРМОДИНАМИКА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МЕТИЛРЕЗОРЦИНА С ЛИЗОЦИМОМ

Мартыросова Е.И., Плащина И.Г.

*Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН,
119334 Москва, ул. Косыгина, 4, e-mail: ms_martins@mail.ru*

Ранее продемонстрирована способность метилрезорцина (МР) в диапазоне концентраций 10^{-7} – 10^{-3} М стимулировать ферментативную активность лизоцима яичного белка (повышение активности белка в отношении коллоидного хитина на 200–470%) и эффективность катализируемых им реакций гидролиза специфических и неспецифических субстратов.

Цель данной работы заключалась в изучении влияния концентрации МР на термодинамические параметры взаимодействия с лизоцимом куриного яйца в растворе (0,05 М PBS, pH 7,4).

Методом микрокалориметрии смешения установлено, что во всем диапазоне концентраций МР (0–35 мМ) энтальпия взаимодействия с лизоцимом является отрицательной величиной, значение которой изменяется от 0 до –5 кДж/моль, что указывает на преобладание в системе экзотермических взаимодействий, обусловленных, вероятно, образованием водородных связей между гидроксильными группами МР и полярными группами молекулы лизоцима. Определены стандартные термодинамические функции связывания: $\Delta H_b^0 = -9,6$ кДж/моль; $\Delta S_b^0 = -3,8$ Дж/моль К; $\Delta G_b^0 = -8,5$ кДж/моль и рассчитана константа связывания $26,6$ М⁻¹ при $p=1$ и 37°C.

Установлено дестабилизирующее влияние МР на конформационную стабильность лизоцима, что проявляется в снижении избыточной по отношению к свободному белку энергии Гиббса процесса денатурации лизоцима в растворе по данным ДСК. Эффект двукратного повышения разности теплоемкостей нативной и денатурированной форм молекул модифицированного лизоцима в сравнении с интактным свидетельствует об увеличении доступной гидрофобной поверхности молекулы модифицированного белка. Согласно данным тензиометрии, наблюдается синергический эффект повышения поверхностной активности лизоцима в присутствии МР. Методом статического светорассеяния установлено понижение значения второго вириального коэффициента в присутствии МР при неизменном значении молекулярной массы лизоцима, что свидетельствует о понижении

термодинамического сродства молекул лизоцима к растворителю за счет гидрофобизации его поверхности в присутствии лиганда.

Таким образом, показано, что повышение активности лизоцима в комплексе с МР сопровождается понижением его конформационной стабильности и термодинамического сродства к растворителю.

THERMODYNAMIC INTERACTIONS OF METHYLRESORCINOL AND LYSOZYME

Martirosova E.I., Plashchina I.G.

Emanuel Institute of Biochemical Physics RAS,

Kosygin st. 4, Moscow 119334, Russia, e-mail: ms_martins@mail.ru

The possibility of methylresorcinol (MR) within the range of concentrations 10^{-7} – 10^{-3} M to stimulate the lysozyme activity raising up to 200–470% and to increase the hydrolysis reaction efficiency of specific and non-specific substrates was demonstrated early.

The aim of this research was to study the MR concentration effect on thermodynamic parameters of methylresorcinol and lysozyme interactions in solution of 0.05 M PBS, pH 7.4.

Using mixing microcalorimetry the enthalpy of interaction (ΔH_b) has been estimated to be a negative value changing from 0 to -5 kJ/mole with the raise in the MR concentration from 0 to 35 mM. ΔH_b negative values indicate that exothermic interactions prevail in the system, which is most likely to be due to the formation of hydrogen bonds between MR hydroxyl groups and lysozyme molecule polar groups. The standard thermodynamic functions of binding have been defined: $\Delta H_b^0 = -9.6$ kJ/mole; $\Delta S_b^0 = -3.8$ J/mole K; $\Delta G_b^0 = -8.5$ kJ/mole. K_b calculated for $n=1$ and 37°C is 26.6 M^{-1} .

It has been established the destabilizing MR action on the enzyme conformation stability, that was appeared as reducing of excess Gibbs energy of thermodenaturation compared with intact lysozyme in solution according DSC data. The effect of a two-fold increase in the difference between thermal capacities of the native and denatured forms of the lysozyme molecules modified by MR versus intact lysozyme testifies about increasing of accessible hydrophobic surface of modified enzyme molecule. The data obtained by tensiometry have shown the synergistic effect of increasing surface tension lysozyme activity in presence of MR. According to static light scattering data the decreasing of the second virial coefficient (A_2) value as a result of interaction with MR was noticed with molecular masses of native and MR-modified proteins were unchanged. It means that the MR-induced decrease in the thermodynamic affinity of lysozyme to the solvent because of hydrophobization of molecular surface.

Thus, it was demonstrated that the increasing of lysozyme catalytic activity in hydrolysis of colloid chitin via interaction with MR was accompanied by changing its conformation stability and thermodynamic affinity to the solvent.

АППАРАТЫ ДЛЯ АКТИВАЦИИ ВОДЫ И СОЗДАНИЕ БЕТОНОВ С БИОЦИДНЫМИ СВОЙСТВАМИ НА АКТИВИРОВАННОЙ ВОДЕ ЗАТВОРЕНИЯ

**Матвиевский А. А.¹, Ерофеев В. Т., Федосов С. В.², Митина Е. А.,
Емельянов Д. В., Юдин П. В., Богатов А. Д., Казначеев С. В.**

ГОУВПО «МГУ им. Н.П. Огарева», г. Саранск, 430005, ул. Большевикская, 68;

¹ *ЗАО «МАКСМИР», г. Москва, 121099, Новинский бульвар, 11;*

² *ИГАСУ, г. Иваново 153037, ул. 8 Марта, д. 20*

В процессе эксплуатации строительные конструкции в зданиях и сооружениях взаимодействуют с окружающей средой, которая может оказывать на них сильное негативное влияние. В зданиях с биологически активными средами биологическая коррозия становится определяющим фактором надежности и долговечности зданий и сооружений. Процессы биоразрушений прогрессируют с каждым годом. Одним из методов выявления биостойкости бетонов и железобетонных конструкций является использование при их изготовлении активизированных водных систем.

Разработаны приборы и оборудование для активации воды в условиях воздействия электрического тока и магнитного поля и технология изготовления биоцидных цементных композитов на активированной воде затворения.

Использование установок позволяет регулировать процесс активации и получать воду с заданными параметрами. Применение активированной воды затворения способствует созданию бетонов, имеющих физико-химические свойства неблагоприятные для развития и размножения на поверхности изделий мицелиальных грибов (плесени). Усиление биостойкости достигается за счет введения в воду при проведении активации специальных биоцидных препаратов. Применение разработанной технологии позволяет получать материалы с улучшенными физико-механическими свойствами, повышенной биостойкостью, а так же снизить расход цементного вяжущего, что позволяет решать в конечном итоге энергетические, экономические и экологические проблемы.

Разработанная технология и составы бетонов на активированной воде затворения использованы при изготовлении железобетонных изделий на ОАО «Ростокинский завод железобетонных конструкций» г. Москвы, ЗАО «Подольский ДСК» г. Подольска и ОАО «Завод ЖБК-1» г. Саранска.

DEVICES FOR ACTIVATION OF WATER AND CREATION OF CONCRETE WITH BIOCID CHARACTERISTIC ON ACTUATED WATER OF THE SHUTTERING

**A. A. Matvievskiy¹, V. T. Yerofeev, S. V. Fedosov², E. A. Mitina,
D. V. Emeliyanov, P. V. Yudin, A. D. Bogatov, S. V. Kaznacheev**

Mordovia N.P. Ogareva State University, Saransk, 430005, str. Bolshevitskaya, 68;

¹ *PSC «MAKSMIR», Moscow, 121099, Novinskiy boulevard, 11;*

² *Ivanovskiy State architectural-building university, Ivanovo, 153037, str. 8 March, 20*

In a process of the usages the building constructions in structures interact with surrounding ambience, that can render strong negative influence on them. In buildings with biologically active ambience biological corrosion becomes the defining factor to reliability and longevity of the buildings. The Processes of biodestructions progress since each year. One of the methods of the discovery of biostability of concrete and reinforced constructions the using under their fabrication actuated water systems.

The instruments and equipment for activation of water in conditions of influence of the electric current

and magnetic field and technology of the fabrication of biocide cement composites on actuated water of the shuttering are designed.

The use of installation allows of adjust the process of activation and get water with given parameters. Using of actuated water of the shuttering promotes the creation of a concrete, having physics-chemical characteristic unkind for development and duplications on surfaces product of micelium mushroom. The reinforcement of biostability is reached to account of the introduction to water with undertaking the activations special biocide preparations. Using of designed technologies allows to get the material with perfect physics-mechanical characteristic, raised biostability, but in the same way to reduce the consupcion of cement astringent that allows to solve finally energy, economic and ecological problems.

Technology and compositions of concrete on actuated water of the shuttering are used at fabrication reinforced products on “Rastokinskiy plant of reinforced constructions” (Moscow), OSC “Podoliskiy DSK” (Podolisk) and OSC “Plant ZBK-1” (Saransk).

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БЕСПЛАЗМИДНОЙ ЭКСПРЕССИОННОЙ СИСТЕМЫ ДЛЯ БИОСИНТЕЗА ГОРМОНА РОСТА ЧЕЛОВЕКА В КЛЕТКАХ *E. COLI*

Мечев П.В., Шульга А.А., Гончарук Д.А., Скрыбин К.Г., Зейналов О.А.

Центр «Биоинженерия» РАН

Адрес: проспект 60-летия Октября, 7/1, 117312 Москва, Россия

Тел. (499) 135-15-30

Использование бактериальных штаммов *E. coli* для получения рекомбинантных белков в последние десятилетия получило чрезвычайно широкое распространение. Наиболее часто при этом используются экспрессионные системы на основе плазмидной ДНК. Альтернативным способом является создание бесплазмидных систем путем интеграции экспрессионной кассеты в хромосому клетки. Преимуществами этого подхода являются: более низкая метаболическая нагрузка на клетку; стабильность генетического материала, и как следствие, отсутствие необходимости использования антибиотиков для селекции клеток, несущих экспрессионную кассету.

С помощью системы Red рекомбинирования был получен бесплазмидный штамм-продуцент гормона роста человека, содержащий экспрессионную кассету в хромосоме клеток *E. coli* BL21(DE3) под контролем T7 промотора. Несмотря на одну копию гена культивирование получившегося рекомбинантного штамма в колбах продемонстрировало высокий выход белкового продукта, сравнимый с выходом, полученным при использовании экспрессионной системы на основе плазмиды pET9a.

В условиях промышленного производства часто необходима возможность культивирования рекомбинантного штамма в течение длительного периода времени до достижения высоких значений оптической плотности. В ходе культивирования полученного бесплазмидного штамма-продуцента гормона роста на лабораторном ферментере BIOSTAT В с рабочим объемом 1,7 л удалось достичь высокой оптической плотности культуры (250 опт.ед) с уровнем продукции рекомбинантного белка около 13 г/л.

THE USE OF PLASMID-FREE EXPRESSION SYSTEM FOR HUMAN GROWTH HORMONE BIOSYNTHESIS IN *E. COLI* CELLS

Mechev P.V., Schulga A.A., Goncharuk D.A., Skryabin K.G., Zeinalov O.A.

Centre "Bioengineering" Russian Academy of Sciences

Address: prospekt 60-letiya Oktyabrya, 7/1, 117312 Moscow, Russia

Tel. (499) 135-15-30

The use of *E. coli* bacterial strains to produce recombinant proteins has been widely spread in the last decades. For the most part, the expression systems are based on plasmid DNA vectors. The alternative way is to create plasmid-free systems by introducing the expression cassette into the cellular chromosome. The advantages of this approach are: the lower metabolic load on the cell, the stability of genetic material and as a consequence no need to use antibiotics for selection of cells, carrying the expression cassette.

In this work the human growth hormone gene placed under the control of T7 promoter was inserted into the chromosome of *E. coli* BL21(DE3) cells by the lambda Red recombineering. Despite the single-copy gene, the cultivation of the resultant recombinant strain in flasks demonstrated high protein production, which was comparable to that in the expression system based on pET9a plasmid.

Achievement of high cell densities is often required in industry. In the course of cultivation of the human growth hormone producer strain in the laboratory fermenter BIOSTAT B (with a working volume of 1.7 l) high optical density of the bacterial culture (250 OD) with the recombinant protein production of about 13 g/l was achieved.

КОМПОЗИЦИОННЫЕ СОРБЕНТЫ НА ОСНОВЕ ПРОДУКТОВ ПЕРЕРАБОТКИ РИСОВОЙ ШЕЛУХИ

Мирзаев М.Н., Сопов Л.П., Почтарев А.Н., Мельницкая Т.И.

ФГОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина», 109472, Москва, ул. Академика Скрябина, 23

Разработанная нами технология термической обработки рисовой шелухи в отсутствии кислорода позволяет получать сорбент, практически полностью состоящий из нано- и микрочастиц аморфного углерода и диоксида кремния. Фракция микрочастиц отличается очень высокими сорбционными свойствами, но применение ее для заполнения хроматографических колонок ограничено из-за плохих гидродинамических характеристик.

Как известно, для улучшения свойств порошкообразных сорбентов, состоящих из мелких частиц, к ним добавляют высокомолекулярные связующие компоненты (Максимов В.И., 1989; Nakamo N.I. et al., 1989). Это позволяет получать композиционные материалы, которые могут быть использованы для выделения и очистки широкого спектра биологически активных веществ колоночной хроматографией.

Предлагаемая работа посвящена изучению сорбционных и гидродинамических свойств материалов, включающих различные соотношения связующих веществ и дисперсного материала, представляющего собой карбонизованный диоксид кремния (КДК), получаемый нами по выше упомянутой технологии. В качестве связующих компонентов испытаны хитозан и целлюлоза, которые смешивали с КДК в соотношении от 1:3 до 1:10, высушивали, измельчали (размолом) и стандартизовали путем просеивания.

Показано, что наиболее оптимальным является сочетание целлюлозы и КДК в соотношении

1:7 – 1:8. Включенные в гель полисахарида микрочастицы КДК сохраняют свои сорбционные свойства, а гидродинамические характеристики колонки, заполненной этой композицией, вполне отвечают задачам хроматографического разделения целевых компонентов. Сорбционная емкость для некоторых произвольно взятых сахаров и аминокислот (лактоза, триптофан) составляет 52-55мг/г и 65-68 мг/г соответственно.

COMPOSITION SORBENTS ON THE BASIS OF PRODUCTS OF PROCESSING OF RICE HUSK

Mirzaev M.N., Sopov L.P., Pochtarev A.N., Melnitskaya T.I.

*FGOU VPO «Moscow state academy of veterinary medicine and biotechnology the name of K.I. Skryabina»,
109472, Moscow, street Academician Skryabina, 23*

The technology of heat treatment of rice husk developed by us in absence of oxygen allows to get a sorbent, practically fully consisting of nano- and microparticleless of amorphous carbon and silox. Faction of microparticleless differs ever-higher sorption properties, but application of it for filling of chromatographic columns is limited from bad hydrodynamic descriptions.

As is generally known, for the improvement of properties of powdery sorbents, consisting of shallow particles, to them add high molecular connective komponenty (Maksimov V.I.,1989; Nakamo N.I. at. all., 1989). It allows to get composition materials which can be used for a selection and cleaning of wide spectrum of bioactive matters a kolonochnoy chromatography.

The offered work is devoted the study of sorption and hydrodynamic properties of materials, including different correlations of connective matters and dispersible material, being a carbonized silica (KDK), got by us on the higher mentioned technology. As connective components a chitosan and cellulose is tested, which mixed up with KDK in correlation from 1:3 to 1:10, dried out, ground (grinding) down and standartized by sifting.

It is rotined that most optimum is combination of cellulose and KDK in correlation 1:7 – 1:8. The microparticleless of KDK plugged in gel of polysaccharides are saved by the sorption properties, and hydrodynamic descriptions of column, filled this composition, fully answer the tasks of chromatographic division of having a special purpose components. A sorption capacity for some arbitrarily taken sugars and amino acid (lactose, tryptophane) makes 52-55mg/g and 65-68 mgs/grammes accordingly.

МЕМБРАННЫЕ СИСТЕМЫ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНВАЗИЙ КАК МИШЕНЬ ПРОТИВОПАРАЗИТАРНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Мирзаева К. М., Мельницкая Т.И., Милаев Е. Н., Мирзаев М.Н.

*ФГОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина»,
109472, Москва, ул. Академика Скрябина, 23*

Предлагаемая работа посвящена исследованию тонких механизмов действия наиболее известных антипаразитарных лекарственных средств (ЛС) и при этом в качестве концепции выдвинуто положение о том, что их мишенью является мембранная система возбудителей инвазий.

По имеющейся на сегодня информации механизм действия антипаразитарных ЛС (пирантел, пиперазин, празиквантел, левамизол, рафоксанид, оксиклозамид, роленол, фасковерм, ивомек, аверсект-2, ниацит и др.) сводится к нарушению синтеза АТФ или блокированию нейромышечной передачи. Однако трудно себе представить, что такую относительно узкую и специфическую функцию могут выполнять вещества, столь сильно различающиеся по своей химической природе. Поэтому логичным кажется предположение о наличии у них более общих биохимических свойств. Действительно, молекулы практически всех антипаразитарных веществ липофильны, содержат длинные углеводородные цепи и ароматические кольца.

Внедряясь в липопротеиновые мембраны в качестве ионофоров, они воздействуют на их функции. Нами в модельных системах с олигохетами показана возможность блокирования функционирования биохимической системы малат – фумарат – сукцинат при добавлении разных противопаразитарных веществ. Суммарный выход сукцината в контроле и опыте практически одинаковый, а биосинтез АТФ при добавлении субстанций полностью ингибирован. Объяснить это можно тем, что вещества действуют конкретно на мембраны путем разряжения трансмембранного электрохимического потенциала, необходимого для синтеза АТФ, а биохимический процесс восстановления малата до сукцината идет без изменений.

DIAPHRAGM SYSTEMS OF EXCITERS OF INVAZIY AS TARGET OF PROTIVOPARAZITARNYKH PREPARATIONS

Mirzaeva K.M., Melnitskaya T.I., Milaev E.N., Mirzaev M.N.

FGOU VPO «Moscow state academy of veterinary medicine and biotechnology the name of K.I. Skryabina»,

109472, Moscow, street Academician Skryabina, 23

The offered work is devoted research of thin mechanisms of action of the most known antiparasitogenic medications (LS) and here as conception position is pulled out that their target is the diaphragm system of excitors of invaziy.

On present for today information the mechanism of action of antiparasitogenic LS (pirantel, Piperazinum, prazikvantel, levamisole, rafoksanid, oksiklozamid, rolenol, faskoverm, ivomek, aversekt-2, niacid and other) is taken to violation of synthesis ATP or to blocking of myoneural transmission. However hardness to imagine that such relatively matters can execute a narrow and specific function, so strongly differentiating on the chemical nature. Therefore seems logical supposition about a presence for them more general biochemical properties. Indeed, molecules of practically all antiparasitogenic matters of lipofil'ny, contain long hydrocarbon chains and aromatic rings. Inculcated in lipoprotein membranes as ionophores, they influence on their function. By us in the model systems with oligokheta supposition about a presence for them more general biochemical properties. Indeed, molecules of practically all antiparasitogenic matters of lipofil'ny, contain long hydrocarbon chains and aromatic rings. Inculcated in lipoprotein membranes as ionophores, they influence on their function. By us in the model systems with oligokhetami possibility of blocking of functioning of the biochemical system of malat is rotined – a fumarate is a succinate at addition of different antiparasitic matters. Total output of succinate in control and experience practically identical, and biosynthesis ATP at addition of substances fully ingibirovan. Explaining it is possible that matters operate concretely on membranes by discharging of transmembrane electrochemical potential, necessary for a synthesis ATP, and the biochemical process of renewal of malata to the succinate goes without changes.

РАЗРАБОТКА ЭКОНОМИЧНОЙ И ЭФФЕКТИВНОЙ ТЕХНОЛОГИИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ГАЛОБАКТЕРИЙ В УСЛОВИЯХ КОНТРОЛИРУЕМОГО ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА

Можжаев А.А., Каленов С.В., Кузнецов А.Е

*Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева,
125047 г. Москва, Миусская пл., д.9*

Облигатно галофильные археобактерии р. *Halobacterium* обладают уникальной светозависимой протонной помпой на основе ретиналь-содержащего белка – бактериородопсина (БР), входящего в состав пурпурных мембран и имеющего определенный коммерческий спрос. Внедрение БР в массовое производство сдерживается его высокой стоимостью, проистекающей из трудностей культивирования галобактерий (ГБ) и выделения БР. Традиционное культивирование дает малый выход биомассы с низким содержанием целевого продукта, выделение которого осложняется наличием каротиноидов. Штаммы при культивировании нестабильны, поэтому производство БР ограничивается небольшими опытными партиями.

Целью наших исследований является разработка экономичной эффективной технологии получения БР на основе совершенствования стадии культивирования галобактерий в условиях контролируемого окислительного стресса.

Настоящая работа является продолжением цикла исследований, проводимых на кафедре биотехнологии РХТУ им. Д.И. Менделеева с 2001 года. Основываясь на полученных ранее данных об ингибирующем действии продуктов фотохимического окисления компонентов среды на рост ГБ и синтез БР, их возможном участии в регуляции каротиногенеза, главный упор в совершенствовании метода культивирования делался на подавление этих отрицательных воздействий путем использования ферментации с адсорбентом.

В ходе выполняемой работы проведены исследования по выявлению метаболитов, ингибирующих рост ГБ, подобран эффективный адсорбент для извлечения ингибиторов метаболизма и разработан метод его регенерации. Дальнейшее совершенствование технологии культивирования ГБ связано с изучением химических свойств образующихся в процессе культивирования веществ-ингибиторов, подбором оптимальных режимов адсорбции, освещения и аэрации, подпитки субстратом, с последующим масштабированием процесса.

DEVELOPMENT OF ECONOMIC AND EFFECTIVE TECHNOLOGY OF CULTIVATION HALOBACTERIUM UNDER CONDITIONS OF CONTROLLABLE OXIDATIVE STRESS

Mozhaev A.A., Kalenov S.V., Kuznetsov A.E

*Mendeleev's Russian Chemico-Technological University,
125047, Moscow, Miussky square, 9*

Extreme halophile archaeobacterias of p. *Halobacterium* possess unique light of the dependent a proton pump on the basis of retinal-containing fiber – a bacteriorhodopsin (BR), a part of purple membranes and having certain commercial demand. Introduction BR in mass production restrains in its high cost resulting from difficulties of cultivation halobacterium (HB) and allocation BR. Traditional cultivation gives a small exit of a biomass with the low maintenance of the target product which allocation becomes complicated presence of carotinoids. Strains at cultivation are astable, therefore production BR is limited to small experimental batches.

The purpose of our researches is dependent of economic and effective technology of reception BR on the basis of perfection of a stage of cultivation halobacterium in the conditions of controllable oxidative stress.

The present work is continuation of a cycle of the researches spent on department of biotechnology Mendeleyev's Russian Chemico-Technological University since 2001. Being based on received before the data about inhibition action of products of photochemical oxidation of components of environment on growth HB and synthesis BR, their possible participation in regulation production of carotenoids, the main emphasis in perfection of a method of cultivation became on suppression of these negative influences by use of a fermentation with an adsorbent.

During performed work researches on revealing of metabolites, inhibition growth HB, the effective adsorbent for extraction of inhibitors of a metabolism is picked up and the method of its regeneration is developed. The further perfection of technology of cultivation HB is connected with studying of chemical properties of substances-inhibitors formed in the course of cultivation, selection of optimum modes of adsorption, illumination and aeration, feed by a substratum, with the subsequent scaling of process.

ИМПУЛЬСНОЕ ДИСПЕРГИРОВАНИЕ В ПРОИЗВОДСТВАХ СУБЛИМИРОВАННЫХ ПИЩЕВЫХ СИСТЕМ

Семенов Г.В., Орешина М.Н.

Московский государственный университет прикладной биотехнологии

109316, г. Москва, ул. Талалихина 33

Сублимационная сушка является одним из высокоэффективных современных способов обеспечения длительных сроков хранения термолабильных материалов в нерегулируемых температурных условиях. При всех общеизвестных достоинствах этого метода его недостатком остаются высокая длительность процесса и значительные энергозатраты. По этой причине весьма перспективными являются исследования, направленные на сокращение этих факторов. Проведенные нами исследования показали, что ультратонкое диспергирование способствует существенному изменению теплофизических характеристик объекта, и как следствие, изменению кинетики процессов замораживания и вакуумного обезвоживания.

На сегодняшний день, практически все применяемые способы диспергирования исчерпали технические возможности повышения степени дисперсности конечного продукта. Перспективным направлением совершенствования процесса диспергирования является использование импульсных воздействий на дисперсные системы различной интенсивности и частоты. С учетом этого, нами разработаны импульсные устройства для диспергирования, основным рабочим элементом которых является подвижный элемент, воздействующий на обрабатываемую жидкую среду. Комплексные исследования эмульсий и суспензий на примере молока и фруктовых соков, обработанных с использованием созданных импульсных диспергаторов, показали, что импульсное воздействие позволяет не только получать продукты с размерами частиц дисперсных фаз менее 0,3...0,7 мкм, но и способствует увеличению теплопроводности материалов. При этом время замораживания и сушки сокращается на 12...15 %. Таким образом, ультратонкое диспергирование многих жидких и пастообразных систем оказывает комплексное положительное влияние на процессы замораживания и сушки, а также показатели качества.

PULSE DISPERSION IN PRODUCTION FREEZE-DRY FOOD SYSTEMS

Semenov G. V., Oreshina M. N.

*The Moscow state university of applied biotechnology
109316, Moscow, street Talalikhina 33*

Freeze-drying is one of highly effective modern ways of maintenance of long periods of storage thermolabile a floor-mat-rials in noncontrollable temperature conditions. At all well-known advantages of this method its lack there is a high duration of process and considerable power inputs. For this reason the researches directed on reduction of these factors are rather perspective. The researches conducted by us have shown that ultrathin dispergation promotes essential change object characteristics, and as consequence, to change kinetics processes of freezing and vacuum dehydration.

On today's put, almost all applied ways dispergation have settled technical possibilities of increase of degree of dispersion of an end-product. A perspective direction of perfection of process dispergation is use of pulse influences on disperse systems of various intensity and frequency. Taking into account it, we develop pulse devices for dispergation, the basic which working element is the mobile element influencing on environment. Complex researches of emulsions and suspensions on an example of milk and the fruit juice processed with use of created pulse dispergators, have shown that pulse influence allows not only to receive products with the sizes of particles of disperse phases less than 0,3 ... 0,7 microns, but also promotes increase in heat conductivity of materials. Thus freezing and drying time is reduced on 12 ... 15 %. Thus, ultrathin dispergation many liquid and pastelike systems renders complex put-telnoe influence on freezing and drying processes, and also quality indicators.

МЕЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ БАКТЕРИЙ РОДОВ *PSEUDOMONAS* И *GEOBACILLUS*

Никитин Д.Н., Новик Г.И.

*Институт микробиологии НАН Беларуси,
220141, г. Минск, ул. акад. Купревича, 2*

При исследовании штаммов, перспективных для биотехнологии, проводятся работы по изучению их физиолого-биохимических и промышленно-ценных свойств, а также молекулярно-генетическая идентификация видовой принадлежности. Наиболее распространенным молекулярно-генетическим методом, позволяющим проводить корректную генотипическую идентификацию штаммов бактерий, является сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК.

Объектами исследования служили восемь коллекционных штаммов бактерий рода *Pseudomonas* и два штамма бактерий рода *Geobacillus* из Научной коллекции типовых и промышленно-ценных непатогенных микроорганизмов Института микробиологии НАН Беларуси.

В ходе работы была проведена амплификация нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК исследуемых микроорганизмов длиной около 1500 пар нуклеотидов, с использованием праймеров 8f и 1492г. Полученные ампликоны использовались для секвенирования в качестве матрицы. Также для секвенирования были использованы праймеры 8f и 1492г для концевых участков ампликонов, а праймер 926г для перекрывания средней части ампликона.

В результате проведения секвенирования были определены нуклеотидные последовательности генов 16S рРНК исследуемых штаммов. Анализ полученных данных позволил установить их

видовую принадлежность.

Таким образом, с использованием анализа нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК выполнена молекулярно-генетическая идентификация биотехнологически перспективных штаммов бактерий родов *Pseudomonas* и *Geobacillus*.

MOLECULAR-GENETICAL IDENTIFICATION OF BACTERIA FROM GENERA *PSEUDOMONAS* AND *GEOBACILLUS*

Nikitin D.N., Novik G.I.

Institute of Microbiology of NASB, 220141 Minsk, Kuprevich St, 2, Belarus

Investigation of strains potentially attractive for biotechnological applications envisages characterization of their physiological-biochemical and commercially valuable properties plus molecular-genetical identification of strain species affiliation. Most widely distributed molecular-genetical method allowing to perform a correct genotype identification of bacterial strains is a comparative analysis of nucleotide sequences of 16S rRNA genes.

8 collection strains belonging to bacteria of genus *Pseudomonas* and 2 bacterial strains of genus *Geobacillus* deposited at Collection of type and industrially valuable non-pathogenic microbial cultures, Institute of Microbiology, NAS Belarus served as objects of studies.

The studies resulted in amplification of nucleotide sequences of 16S rRNA genes in the tested microorganisms. The sequence contained about 1500 nucleotide base pair and primers 8f and 1492r were used. The obtained amplicons served as matrix for further sequencing. Primers 8f and 1492r were applied for sequencing of terminal amplicon sites, and primer 926r for crossing middle amplicon fragments.

The afore-mentioned procedure enabled to identify nucleotide sequences of 16S rRNA genes in examined strains. Analysis of obtained results allowed to define their species accessory.

Summing up, molecular-genetical identification of biotechnologically promising bacterial strains from genera *Pseudomonas* and *Geobacillus* was performed using analysis of nucleotide sequences of 16S rRNA gene.

ПОТЕНЦИАЛ И РЕАЛИЗАЦИЯ ФЕРМЕНТНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В ЦЕЛЛЮЛОЗНО-БУМАЖНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Новожилов Е.В.

*Северный (Арктический) федеральный университет
163002, Архангельск, Набережная Северной Двины, 17*

Ферменты могут использоваться на различных стадиях производства целлюлозы и при изготовлении бумаги и картона. Биомодификация целлюлозных волокон предполагает изменение их состава и свойств за счет регулируемого ферментативного воздействия. Спектр задач, решаемых с использованием биохимической модификации технической целлюлозы, расширяется по мере развития ассортимента ферментных препаратов. Научно обоснованный подход позволяет в максимальной степени реализовать преимущества селективного действия ферментов, поэтому изучается потенциал применения в ЦБП целлюлаз, ксиланаз, маннаназ, лакказ, пероксидаз, липаз, амилаз, эстераз, других ферментов. Продолжается подбор оптимального состава биокатализаторов

для конкретных технологических процессов, в частности, интенсивно исследуется эффективность лакказ и лакказ-медиаторных систем для делигнификации небеленой целлюлозы и модификации волокнистых полуфабрикатов с высоким содержанием лигнина.

Ферменты в промышленных масштабах применяются при отбелке целлюлозы, для ускорения размола и улучшения обезвоживания массы, борьбы со смоляными затруднениями, очистки вторичных волокон от краски, для устранения липких отложений. Самое крупномасштабное направление использования ферментов, внедренное в России на ряде крупных ЦБК – это обработка сульфатной целлюлозы ксиланазами перед отбелкой, что обеспечивает снижение расхода белящих реагентов, уменьшение загрязненности сточных вод хлорорганическими соединениями. На отечественных бумажных фабриках при переработке макулатуры нашли применение амилазы, эстеразы, целлюлазы в таких процессах как удаление типографской краски, контроль липкости, переработка брака влагостойких видов бумаги.

Практика показывает, что умеренные затраты, связанные с применением ферментов, в полной мере окупаются более высоким качеством получаемой продукции, повышением эффективности и экологической безопасности ЦБП.

FACILITIES AND IMPLEMENTATION OF ENZYME TECHNOLOGIES IN PULP AND PAPER INDUSTRY

E.V.Novozhilov

Northern (Arctic) Federal University

163002, Arkhangelsk, Naberezhnaya Severnoy Dviny, 17

Enzymes can be used in pulp production and paper and board manufacture. Cellulosic fibers biomodification implies changes in fiber structure and composition by controlled enzyme action. All possible advantages of enzymatic selective action can be used to achieve actual results. The number of problems to be solved with pulp biochemical modification increases with growth of commercial enzymes range. The potential of application in pulp and paper industry of cellulases, xylanases, mannanases, laccases, peroxydases, lipases, amylases, esterases and other enzymes is determined. Investigation proceeds by screening of optimal enzyme composition for certain engineering processes of several conditions, particularly laccases and laccase-mediator systems for unbleached pulp delignification and modification of pulps with high lignin content.

Worldwide enzymes are commercially applied for pulp bleaching, pitch control, refining acceleration, as well as for deinking, drainage improvement, and deposit removal. The most large-scale direction in term of extent of enzymes used is pulp treatment with xylanases prior to bleaching. This technology provides bleach boosting, reduction of bleaching chemicals charge and decrease of wastewater pollution by chlororganic compounds. In Russia this technology is implemented in number of major paper plants. Amylases, esterases, cellulases are used in Russian paper recycling mills for deinking, stick control, wet-strength paper recycling.

According to practical results moderate costs related with enzyme application are fully paid off by increase of manufacture effectiveness, products quality and environmental safety of pulp and paper industry.

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ КОМПЛЕКС ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОЦЕССОВ ГИДРОЛИЗА РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

Нуртдинов Р.М., Мухачев С.Г., Валеева Р.Т., Емельянов В.М., Харина М.В.

*Казанский государственный технологический университет,
420015 г. Казань, ул. Карла Маркса, д.68*

За последние годы в Российской Федерации произошла переориентация в использовании сырьевых ресурсов для биотехнологии с невозобновляемых источников (парафин, нефть, газ, синтетические спирты и органические кислоты) на возобновляемые.

Недостаток углеводного сырья послужил основной причиной неконкурентноспособности созданных технологий и прекращения производства ферментов, аминокислот, антибиотиков и других продуктов крупнотоннажной биотехнологии.

За последние годы Россия, обладая вторым в мире после США масштабом плодородных площадей, смогла увеличить урожайность зерновых культур в результате чего создана сырьевая база для нового этапа развития биотехнологических производств.

Для изучения сложных биотехнологических процессов создан единый технологический и исследовательский комплекс с компьютерными системами управления в составе: лабораторной мельницы для измельчения сырья, установки для подготовки гидролизующих агентов, установки для исследования процессов низкотемпературного кислотного гидролиза растительного сырья, установки для исследования кинетики высокотемпературного гидролиза растительного сырья, установки для исследования кинетики ферментативного гидролиза растительного сырья.

В установке для исследования процессов низкотемпературного кислотного гидролиза растительного сырья могут быть реализованы процессы гидролиза при избыточных давлениях до 0,35 МПа и температуре до 145 °С. В установке для исследования кинетики высокотемпературного гидролиза растительного сырья процессы химического гидролиза проводятся в рабочем диапазоне температур – от 100°С до 180 °С при избыточном давлении – 0 – 1 МПа.

Созданный биотехнологический комплекс обеспечивает проведение работ по интенсификации целого ряда биотехнологических процессов, в том числе производства биоэтанола по технологии комплексной переработки зернового сырья, соломы и других отходов сельского хозяйства.

BIOTECHNOLOGICAL COMPLEX FOR STUDYING OF HYDROLYSIS OF PLANT RAW MATERIALS

Nurtdinov R.M., Mukhachev S.G., Valeeva R.T., Emelyanov V.M., Kharina M.V.,

Kazan State Technological University, K. Marks Street, 68, Kazan, 420015, Russia

Over the past few years in the Russian Federation origin of raw materials for biotechnology has shifted from non-renewable sources (paraffin, oil, gas, synthetic alcohols and organic acids) to renewable sources.

Lack of mineral raw materials was the main reason for losing of competitive ability of existing technologies and discontinuation of production of enzymes, amino acids, antibiotics and other products of large-scale biotechnology.

In recent years, Russia, possessing the second largest after the U.S. area of fat lands, increased the yield of crops, and so material resources have been obtained for the new stage of development of industrial biotechnology.

For the study of complicated biotechnological processes there have been created united technological

and research facility with computer control systems consisting of: laboratory mill for grinding raw materials, installation for preparation of hydrolyzing agents, installation for studying of low temperature acid hydrolysis of plant raw materials, installation for studying kinetics of high temperature hydrolysis of plant raw materials, installation for studying kinetics of enzymatic hydrolysis of plant raw materials.

In the installation for studying of low temperature acid hydrolysis of plant raw materials the processes of hydrolysis can be carried out under excess pressure up to 0.35 MPa and temperatures up to 145 °C. In the installation for studying kinetics of high temperature hydrolysis of plant raw materials processes of chemical hydrolysis are carried out in the temperature range from 100 °C to 180 °C under excessive pressure of 0 - 1 MPa.

The created biotechnological complex enables carrying out research work on intensification of a number of biotechnological processes, including ethanol production in technology of complex processing of raw grain, straw and other agricultural waste.

ВЫСОКОЭФФЕКТИВНЫЙ КОМПЛЕКС ЦЕЛЛЮЛАЗ РЕКОМБИНАНТНЫХ ШТАММОВ МИКРОМИЦЕТА *PENICILLIUM SP.* ДЛЯ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГИДРОЛИЗА БАГАССЫ

Осипов Д.О.², Рожкова А.М.², Зоров И.Н.^{1,2}, Синицын А. П.^{1,2}

¹ Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

² Институт Биохимии им. А.Н.Баха РАН, Москва, Россия

Перспективным видом углеводсодержащего сырья является отход переработки сахарного тростника – багасса. Багасса является дешевым и возобновляемым источником сырья для биотехнологической промышленности, объем которого растет совместно с ростом производства сахарного тростника. В состав багассы входит 50% целлюлозы и до 25% гемицеллюлозы.

На основе рекомбинантных штаммов гриба *Penicillium sp.* были получены ферментные препараты, содержащие гетерологичный ген эндоглюканазы IV (EGIV) *Trichoderma sp.*

Ферментный препарат эндоглюканазы IV обладал следующими свойствами (данные приведены для активности, определенной по гидролизу карбоксиметилцеллюлозы):

- температурный оптимум при 60°C (T_{50%} от 43 до 76°C);
- pH-оптимум при 4 (pH_{50%} от 2,5 до 5,9);
- стабилен более 3 часов при 50°C и 90 минут при 60°C;

Было проведено исследование осахаривающей способности целлюлазных ферментных препаратов, содержащих гетерологичный ген эндоглюканазы IV (EGIV) *Trichoderma sp.* В результате было установлено, что при гидролитическом расщеплении измельченной багассы полученные препараты обеспечивают выход глюкозы и других сахаров на 20-25% выше, чем контрольные ферменты исходного штамма гриба *Penicillium sp.*

HIGH PERFORMANCE CELLULOLYTIC COMPLEX OF RECOMBINANT MICROMYCETE *PENICILLIUM SP.* FOR ENZYMATIC HYDROLYSIS OF BAGASSE

Osipov D.O.², Sinitsyn A.P.^{1,2}, Rozkova A.M.², Zorov I.N.^{1,2}

¹ Chemical Department, M.V.Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

² A.N. Bach Institute of Biochemistry RAS, Moscow, Russia

A promising type of carbohydrate-containing raw material is sugar cane by-product - bagasse. Bagasse is a cheap and renewable source of raw materials for the biotechnology industry, its volume is growing with the increasing of sugar cane production. The composition of preprocessed bagasse includes 50% of cellulose and up to 25% hemicellulose.

Enzyme preparations containing the heterologous gene of endoglucanase IV (*EGIV*) *Trichoderma sp.* were obtained on the basis of recombinant strains of the fungus *Penicillium sp.*

Preparation had the following properties (data are for the activity, determined by the hydrolysis of carboxymethylcellulose):

- temperature optimum at 60°C ($T_{50\%}$ from 43 to 76°C);
- pH optimum at 4 ($pH_{50\%}$ from 2,5 to 5,9);
- stable for more than 3 hours at 50°C and for 90 minutes at 60°C.

A study of saccharification ability of cellulase enzyme preparations containing a heterologous gene of endoglucanase IV (*EGIV*) *Trichoderma sp.* was conducted. As a result, it was found that the hydrolytic cleavage of bagasse by obtained enzyme preparations provides a yield of glucose and other sugars 20 - 25% higher than the control enzymes of the parental strain *Penicillium sp.*

ГЛУБОКАЯ ПЕРЕРАБОТКА ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР В РЕСПУБЛИКЕ КАЗАХСТАН

Оспанкулова Г.Х.,

и.о. зав. лаборатории «Биопереработки сельскохозяйственных культур» ТОО «Казахский научно-исследовательский институт переработки сельскохозяйственной продукции» г.Астана

Государственная агропродовольственная политика Казахстана направлена на развитие производства зерна, перерабатывающей отрасли и производства продукции с высокой добавленной стоимостью, что будет способствовать постепенному переходу страны от экспорта сырья к экспорту продуктов глубокой переработки. Зерновые культуры являются превосходным сырьем для получения крахмала и крахмалосодержащих продуктов, которые могут в дальнейшем использоваться для производства так же и молочной кислоты. Следовательно, одним из возможных путей создания высокоэффективных и ресурсосберегающих технологий производства молочной кислоты является расширение сырьевой базы для молочнокислой ферментации с целью замены дорогостоящих и дефицитных источников углеводов более доступным зерновым сырьем. Согласно структуре переработки зерна в Казахстане, на долю выработки муки приходится 80%, крупы – 2-3%, спирта – 3-4%, комбикорма – 9%. Производство молочной кислоты в Казахстане отсутствует. Вместе с тем в Республике имеется достаточная сырьевая база для производства примерно 50-100 тонн в год пищевой молочной кислоты. Производство экологически чистой молочной кислоты и лактатов, полученных ферментацией крахмалсодержащего сырья, является альтернативой химическому способу ее производства.

Цель этапа работы - получение молочной кислоты из крахмала различного зернового сырья.

Задачи исследований:

- разработка эффективного способа получения молочной кислоты из крахмала, выработанного из зернового сырья.

- Изучение способов получения ферментов для наиболее эффективного гидролиза крахмала, выработанного из зернового сырья.

Объекты исследования: **крахмал, полученный из зерна восьми сортов пшеницы и двух сортов ячменя Казахстанской селекции, штаммы *Aspergillus niger* 78/494, *Bac. subtilis* 137/1 M₉, *Bac. subtilis* 124/1 M₉, *L. delbrückii* 1/3 предоставленные коллекцией микроорганизмов лаборатории микробиологии КазНИИПСХП.**

На основании экспериментальных данных было установлено, что среди бактерий рабочей коллекции штаммы *Bac. subtilis* 137/1 M₉ и *Bac. subtilis* 124/1 M₉ обладали наиболее высокой амилалитической активностью. Амилалитические ферменты указанных штаммов полностью осахаривали крахмал до глюкозы, которую в дальнейшем использовали в целях получения молочной кислоты.

Молочную кислоту получали глубинным способом с помощью молочно-кислых бактерий *L. delbrückii*. В качестве основного сырья использовали крахмал, полученный из зерна пшеницы и ячменя Казахстанской селекции. Среди исследованных сортов пшеницы наибольший выход крахмала отмечался при использовании зерна сорта Ырым и ячменя сорта Сауле 2. Количество углеводов в зерне этих сортов составило 68,7% и 65,8% соответственно. Полученная молочная кислота соответствовала органолептическим и физико-химическим показателям согласно ГОСТ 490-2006. Было установлено, что молочная кислота, полученная при использовании крахмала, выработанного из зерна ячменя сорта Сауле 2, уступала по физико-химическим показателям молочной кислоте, полученной на основе крахмала, выработанного из зерна сорта пшеницы Ырым.

Следовательно, высокой амилалитической активностью обладали микробиологические ферменты штаммов *Bac. subtilis* 137/1 M₉ и *Bac. subtilis* 124/1 M₉. Для получения молочной кислоты эффективнее использовать крахмал, выработанный из зерна пшеницы сорта Ырым.

ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ НА ПРОДУКЦИЮ И СОСТАВ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДА ОБЛИГАТНОЙ МЕТИЛОТРОФНОЙ БАКТЕРИИ *METHYLOPHILUS QUAYLEI*

Отман С.А.М., Пшеничникова А.Б., Швец В.И.

Московская государственная академия тонкой химической технологии
им. М.В. Ломоносова, 119571, Москва, пр-т Вернадского, 86

Необходимость расширения сырьевой базы для получения микробных экзополисахаридов (ЭПС) стимулировала поиск продуцентов, способных утилизировать непищевое сырье. Особое значение имеют метилотрофные бактерии – продуценты ЭПС, использующие в качестве источника углерода метанол. Новая облигатная метилотрофная бактерия *Methylophilus quaylei* продуцирует экзополисахариды, образующие вязкие растворы. В стандартных, оптимальных для роста условиях, в составе ЭПС присутствует основная фракция (70%) с молекулярной массой $6,8 \cdot 10^5$ – $7,9 \cdot 10^7$. Свободные жирные кислоты C₁₆–C₁₈ являются ростовыми факторами и адаптогенами облигатной метилотрофной бактерии *M. quaylei* [1]. Целью настоящей работы было изучение структуры и выхода ЭПС в стандартных условиях и в присутствии экзогенных жирных кислот C₁₆–C₁₈ – пальмитиновой, олеиновой и стеариновой.

В присутствии жирных кислот в концентрации 0 – $1,0 \cdot 10^{-3}$ М выход ЭПС дозозависимо увеличивался, наибольшим эффектом обладала олеиновая кислота (ОК). Увеличение концентрации

ОК с 0 до $1.0 \cdot 10^{-4}$ М увеличивало выход ЭПС с 0.21 до 0.31 гЭПС/л. Для определения углеводного состава ЭПС дезацилировали, гидролизovali в 2 н растворе трифторуксусной кислоты, восстанавливали и ацетиловали. Методом хроматомасс-спектрометрии ацетатов полиолов было установлено, что в составе ЭПС присутствуют остатки глюкозы. В продуктах дезацилирования идентифицированы жирные кислоты C_{10} - C_{20} , состав которых и степень дезацилирования зависит от природы экзогенно добавленной жирной кислоты.

1. Терехова Е.А., Степичева Н.А., Пшеничникова А.Б., Швеи В.И. Метилловый эфир стеариновой кислоты – новый внеклеточный метаболит облигатной метилотрофной бактерии *Methylophilus quaylei*. Прикладная биохимия и микробиология. 2010. Т.46. №2. С.180-186.

INFLUENCE OF EXOGENOUS FATTY ACIDS ON PRODUCTION AND COMPOSITION OF EXOPOLYSACCHARIDE OF OBLIGATE METHYLOTROPHIC BACTERIUM *METHYLOPHILUS QUAYLEI*

Othman C. A. M., Pshenichnikova A. B., Shvets V. I.

*M. V. Lomonosov Moscow State Academy of Fine Chemical Technology,
86, Vernadskogo ave., Moscow, 119571*

The necessity of development of the raw material base for production of microbial exopolysaccharides (EPS) stimulated search for producers able to utilize inedible raw material. Of special significance are methylotrophic bacteria - EPS producers using methanol as carbon source. New obligate methylotrophic bacterium *Methylophilus quaylei* produces exopolysaccharides generating viscous solutions. In standard, optimum growth conditions in EPS composition there is base fraction (70%) with molecular weight $6.8 \cdot 10^5$ – $7.9 \cdot 10^7$. Free fatty acids C_{16} - C_{18} are growth factors and adaptogens of obligate methylotrophic bacterium *M. quaylei* [1]. The goal of this work was to study EPS structure and outlet in standard conditions and in presence of exogenous fatty acids C_{16} - C_{18} – palmitic, oleic and stearic.

In presence of fatty acids in concentration 0 - $1.0 \cdot 10^{-3}$ M EPS outlet was increasing dose-dependently and oleic acid (OA) had the greatest effect. Densification of OA from 0 to $1.0 \cdot 10^{-4}$ M increased EPS outlet from 0.21 to 0.31 EPSg/l. For determination of carbohydrate composition EPS was deacylated, hydrolyzed in 2 n trifluoroacetic acid solution, it was restored and acetylated. By method of chromatography-mass spectrometry of polyols acetates it was determined that in EPS composition there were glucose remains. In deacylation products there were identified fatty acids C_{10} - C_{20} the composition of which and deacylation degree depend on the nature of exogenously added fatty acid.

1. Terekhova E. A., Stepicheva N. A., Pshenichnikova A. B., Shvets V. I. Stearic acid methyl ester: a new extracellular metabolite of the obligate methylotrophic bacterium *Methylophilus quaylei*. Applied biochemistry and microbiology. 2010. Volume 46. No. 2, P. 180-186.

МАТЕРИАЛ НА ОСНОВЕ МОДИФИЦИРОВАННОГО БИОРАЗЛАГАЕМОГО ПОЛИЭТИЛЕНА

Панина Т.В., Сдобникова О.А., Самойлова Л.Г.

ГОУ «Московский государственный университет прикладной биотехнологии»

109316 г. Москва, ул. Талалихина, д. 33

Проблема загрязнения окружающей среды приобретает глобальный характер. Создание биоразлагаемых высокомолекулярных соединений является приоритетным направлением разработок, которое позволит решить данную проблему.

Одним из направлений создания биоразлагаемых материалов, является совмещение природных и синтетически полимеров с использованием ПАВ, который является инициатором биоразложения и одновременно увеличивает совместимость полимеров.

Работа посвящена созданию биоразлагаемой композиции и ее модификации для улучшения технологических свойств. Состав композиции: полиэтилен, кукурузный крахмал. В качестве модификаторов использовались ПАВ АЛМ-7 (неионогенное поверхностно-активное вещество) и краситель ОК-150 (олигомерный краситель), который обладает слабой светостойкостью, что инициирует процесс биоразложения.

Реологические свойства многокомпонентной смесевой композиции определялись с помощью капиллярного вискозиметра в широком диапазоне скоростей и напряжений сдвига.

Степень биодеструкции композиционных материалов оценивалась с использованием модифицированного экспресс-метода Штурма.

На основе проведенных исследований выбрано оптимальное соотношение компонентов композиции с хорошими технологическими параметрами и высокой скоростью биоразложения.

A MATERIAL BASED ON MODIFIED BIO-DEGRADABLE POLYETHYLENE

Panina T.V., Sdobnikova O.A., Samoilova L.G.

GOU "Moscow state university of applied biotechnology"

109316, Moscow, Talalikhina 33

The problem of environment pollution is becoming a global challenge. The development of biodegradable high molecular compounds is a prioritized direction of the work that will allow solving this problem.

One of the trends of creation of biodegradable materials is the combination of natural and synthetic polymers with the use of SAS which is an initiator of biodegradation and at the same time is increasing compatibility of polymers.

The work deals with the development of biodegradable composition and its modification for the improvement of technological properties. The composition comprises: polyethylene, maize starch. As modifiers were used: SAS - ALM-7 (non-ionic surface active substance) and a colorant OK-150 (oligomeric colorant) possessing weak light stability which is initiating the process of biodegradation.

Rheological properties of multi-component mix composition were determined with the use of capillary rheometer in the wide range of velocities and shear stresses.

The degree of biological destruction of the composition materials was assessed with the use of modified express-method of Sturm.

On the basis of the carried out investigations an optimum ratio of components of the composition with good technological parameters and high biodegradation velocity was chosen.

ТЕПЛОФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ВЛАГООБМЕН ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ СТАРЕНИИ

Поляков Н.А., Дубинская В.А., Быков В.А.

ГНУ ВИЛАР Россия, 123056, Москва, Красина 2.

Изучение гидратации и теплофизических характеристик вспомогательных веществ, используемых при таблетировании, и изменения этих параметров в процессе «экспериментального старения» является актуальной проблемой в связи с отсутствием или противоречивостью литературных данных. В качестве материалов исследования использовали вспомогательные вещества (22 образца). Использовали следующие методы исследования: количественное определение воды методом Фишера, потеря массы при высушивании, метод построения изотерм сорбции паров воды, дифференциально-сканирующую калориметрию, ИК-спектроскопия и метод ускоренного старения. Полученные данные свидетельствуют, что вспомогательные вещества различаются по всем изученным параметрам и имеют индивидуальные как теплофизические характеристики, так и показатели влагосодержания и сорбционной способности. Например, температурные параметры тепловых эффектов производных известного вспомогательного вещества α -лактозы: лактозы-таблетозы 80 и лактозы 80 (mersh) отличаются между собой и не соответствуют тепловым эффектам, характерным для α -лактозы. Из всех исследованных вспомогательных веществ только на термограмме лактозы 80 (mersh) после выдерживания образца в атмосфере с относительной влажностью >90% фиксируется два дополнительных тепловых эффекта, вероятно, характеризующие переход α -лактозы 80 (mersh) из моногидратной в дигидратную форму. Три образца полимерного соединения поливинилпирролидона (коллидон CL, коллидон 25, коллидон SR) по своей структуре отличаются от кристаллических вспомогательных веществ и являются аморфными. Экспериментальное старение, эквивалентное 2-м годам хранения, приводит к изменению влагосодержания, сорбционной емкости, иногда к полиморфному превращению вспомогательных веществ (лактоза). Изученные параметры влияют на растворимость, биодоступность, скорость физиологического всасывания и пр. лекарственных веществ и на сохранность препаратов в целом.

THERMAL PROPERTIES AND MOISTURE EXCHANGE OF EXCEPIENTS IN THE COURSE OF EXPERIMENTAL AGEING

N. A. Polyakov V. A. Dubinskaya, V. A. Bykov

Russian Science Research Institution for Medicinal and Aromatic Plants (VILAR) Moscow, Krasina 2, 123056 (Russia)

Investigation of hydration and thermal characteristics of the excepients that are used in the tableting of medicinal drugs, and change of these parametres in process of “experimental ageing» is an actual problem in connection with absence of published data about state of water and hygroscopicity condition, temperature ranges of drying and decomposition, influencing periods of storage excepients and medical products.

22 excepients were used in the course of experiments. For investigation of thermal and hydration parametres of studied substances the complex of chemical and physical-chemical methods was applied, such as Fisher’s method, isothermic vapor sorbtion method at the relative humidity range from 3 to 98%, differential scanning calorimetry, IR-spectroscopy and method of the accelerated ageing.

Experimental data suggested that excepients differ in all studied parametres and have individual thermal, water content and water sorption characteristics. For example, temperature parametres of thermal

effects of α -lactose derivatives: lactose-tabletosa 80 and lactose 80 (mersh) differ among themselves and mismatch thermal effects, characteristic for α -lactoses. It is possible to explain discrepancy of temperature parametres of thermal effects influence of a way of technological processing of raw materials. From all investigated excepients only on thermogram of lactose 80 (mersh) after keeping of the sample in atmosphere with relative humidity $> 90\%$ are fixed two additional thermal effects, possibly, characterising transition α -lactose 80 (mersh) from monohydrate in dihydrate the form. Three samples of polymeric compound polyvinylpyrrolidone (kollidone CL, kollidone 25, kollidone SR) due amorphous form it have various sorption and thermal characteristics. The experimental ageing equivalent to 2nd years of storage leads to change water content and water sorption, sometimes to polymorphic transformation of excepients (lactose, stearate magnesium). The studied parametres influence solubility, bioavailability, dissolution rate medicinal substances and on safety of preparations in general.

ПОЛУЧЕНИЕ БИОДИЗЕЛЬНОГО ТОПЛИВА С ПОМОЩЬЮ ГЕТЕРОГЕННЫХ КАТАЛИЗАТОРОВ

Помешалкин Е.И., Гарабаджиу А.В., Козлов Г.В.

Санкт-Петербургский государственный технологический институт (Технический университет), 190013, Санкт-Петербург, Московский пр., д.26

Проблема катализа реакции переэтерификации триглицеридов является одной из ключевых в производстве биодизельного топлива. Существуют несколько групп катализаторов переэтерификации триглицеридов (гомогенные основные, гетерогенные основные, гомогенные кислотные, гетерогенные кислотные и ферментативные). Однако наиболее широко применяются гомогенные основные катализаторы. Реакция при гомогенном щелочном катализе протекает быстро, катализатор дешев, однако основной проблемой процесса является отделение катализатора от реакционной смеси, которая решается промывкой водой, что приводит к образованию стоков и необходимости последующей осушки продукта.

Несмотря на то, что гомогенный катализ является на данный момент основным методом производства биодизеля, экологическое (и технологическое) несовершенство щелочного катализа требует развития других типов катализаторов, в частности – гетерогенных, которые имеют ряд преимуществ. С гетерогенными катализаторами намного проще обеспечить непрерывный процесс производства, решается ряд проблем, связанных с коррозией оборудования, благодаря уходу от агрессивных сред, что удешевляет производство. К тому же, при использовании гетерогенного катализатора не происходит образования мыла или омыления триглицеридов. Реакция переэтерификации триглицеридов может быть катализирована цеолитами, гидротальцитами, оксидами, металлическими солями аминокислот, солями щелочных металлов на носителях, гетерополикислотами, сульфатированными оксидами.

Нами обобщена информация об исследованиях в области гетерогенного катализа процесса переэтерификации, подробно рассмотрены различные группы гетерогенных катализаторов, дана их сравнительная характеристика с гомогенными и биокатализаторами. Рассмотрены способы подготовки катализаторов, влияние состава сырья и условий реакции на выход продукта в реакции переэтерификации триглицеридов.

PRODUCTION OF BIODIESEL FUEL USING HETEROGENEOUS CATALYSTS

E.I. Pomeshalkin, A.V. Garabadzhiu, G.V. Kozlov

*The St.-Petersburg state institute of technology (technical university),
190013, SPb, Moskovsky prospect, 26*

The problem of catalysis transesterification reaction of triglycerides is a major in the production of biodiesel. There are several groups of catalysts for transesterification of triglycerides (a homogeneous base, heterogeneous base, homogeneous acid, heterogeneous acid and enzymatic). However, the most widely used homogeneous base catalysts. Reaction in homogeneous base catalysis proceeds rapidly, the catalyst is cheap, but the main problem is the separation of catalyst from the reaction mixture, which is solved by washing with water, which leads to the formation of runoff and the need for subsequent drying of the product.

Despite the fact that homogeneous catalysis is currently the main method of biodiesel production, the environmental (and technology), the imperfection of base catalysis requires the development of other types of catalysts, in particular - heterogeneous, which have several advantages. With heterogeneous catalysts are much easier to ensure a continuous production process solved a number of problems associated with corrosion of equipment due to care from aggressive environments, which reduces the cost of production. In addition, when using a heterogeneous catalyst is no formation of soap or saponification of triglycerides. The reaction of transesterification of triglycerides can be catalyzed by zeolites, hydrotalcites, oxides, metal salts of amino acids, salts of alkali metals on the supports, heteropolyacids, sulfated oxides.

We have compiled information on research in the field of heterogeneous catalysis transesterification process, detail the various groups of heterogeneous catalysts, given their comparative characteristics of homogeneous and biocatalysts. The methods of preparing catalysts, the influence of raw materials and reaction conditions on product yield in the reaction of transesterification of triglycerides.

АППАРАТНАЯ СИСТЕМА УПРАВЛЕНИЯ В ОБЛАСТИ ПРОЦЕССОВ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГИДРОЛИЗА

Понкратов А.С., Нуртдинов Р.М., Емельянов В.М., Понкратова С.А.

*Казанский государственный технологический университет,
420015 г. Казань, ул. Карла Маркса, д.68*

Продолжающееся истощение резервов ископаемых видов топлива и последовательная эскалация цен на него простимулировали исследования, направленные на поиск альтернативных технологий получения энергии. В качестве источников возобновляемой энергии предлагалось использовать солнечную энергию, энергию ветра, геотермальные источники. Но данные способы получения энергии географически обособлены, немобильны и неприемлемы для широкомасштабного использования. Наиболее перспективным источником энергии является топливо, получаемое биоконверсией возобновляемого сырья. Ключевой и наиболее дорогой стадией процесса биоконверсии является ферментативный гидролиз целлюлозы до глюкозы, которая, в свою очередь, может быть превращена в этанол, бутанол и ацетон, а также другие продукты микробиологического синтеза с помощью дрожжей или бактерий. Разработана компьютерная система управления для оснащения технологического персонала современными средствами проведения экспериментальных исследований в области процессов ферментативного гидролиза, а именно, обеспечение возможности управления процессом ферментации с количественной оценкой параметров процесса. Программное обеспечение, реализованное в SCADA-системе GENIE 3.04, позволяет управлять температурным режимом и pH.

A HARDWARE CONTROL SYSTEM FOR PROCESSES OF ENZYMOLYSIS

Ponkratov A.S., Nurtdinov R.M., Emelyanov V.M., Ponkratova S.A.

Kazan State Technological University,

K. Marks Street, 68, Kazan, 420015, Russia

Exhausting of stocks of fossil fuels and successive escalation of its cost stimulated research aimed at finding alternative energy sources. Solar energy, wind energy and geothermal sources were proposed to use as a sources of renewable energy. But these ways of obtaining energy are geographically isolated, immobile and unacceptable for large scale use. The most promising energy source is a fuel produced by bioconversion of renewable raw materials. The key and most expensive stage in the process of bioconversion is enzymolysis of cellulose to glucose. Glucose in turn can be converted into ethanol, butanol, acetone and other products of microbiological synthesis with the help of yeast or bacteria. Computer control system is developed to equip technologists with modern facilities for carrying out experimental research in the field of enzymolysis, namely, the possibility of controlling the enzymolysis with a quantitative evaluation of process parameters. Software, based on SCADA-system GENIE 3.04, enables controlling temperature and pH.

ПОЛУЧЕНИЕ ОПТИМАЛЬНОГО ГИДРОЛИТИЧЕСКОГО КОМПЛЕКСА НА ОСНОВЕ ЦЕЛЛЮЛАЗ *PENICILLIUM SP.* И β -ГЛЮКОЗИДАЗЫ *ASPERGILLUS JAPONICUS* ДЛЯ ЭФФЕКТИВНОГО ОСАХАРИВАНИЯ ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗНОГО СЫРЬЯ

Правильников А.Г.¹, Проскурина О.В.², Синицын А. П.^{1,2}

¹ *Институт Биохимии им. А.Н.Баха РАН, Москва, Россия*

² *Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

Глубокая деструкция лигноцеллюлозного сырья с образованием растворимых сахаров осуществляется под действием мультиферментной системы, включающей целлобиогидролазы, эндоглюканызы, β -глюкозидазы и геммицеллюлазы. Эффективность процесса получения сахаров в значительной степени зависит от состава комплекса ферментов, взаимодействия индивидуальных ферментов комплекса, а также ингибирующего влияния продуктов гидролиза на активность базовых целлюлаз. Одними из ключевых ферментов целлюлолитического комплекса являются β -глюкозидазы, которые осуществляют гидролиз до глюкозы промежуточного продукта – целлобиозы, являющейся ингибитором целлобиогидролаз и эндоглюканыз. Таким образом, β -глюкозидазы способны не только производить глюкозу в качестве конечного продукта гидролиза, но и повышать эффективность деструкции целлюлозы.

Нами с помощью ионообменной хроматографии на носителе Source 15Q из препарата F10, содержащего 80% β -глюкозидазы *A.japonicus* от общего секретируемого белка, была получена β -глюкозидаза в гомогенном виде (активность по целлобиозе составила 120 ед/мг белка). Выделенная β -глюкозидаза была использована в качестве добавки к целлюлазному ферментному препарату *Penicillium sp.* 221-151 так, чтобы ее содержание от общего белка смеси составляло 0, 5, 8, 10, 12, 15 и 20%. Такие смеси ферментов использовали для гидролиза различных целлюлозосодержащих субстратов (предобработанных измельчением сосны, осины и багассы). Эксперименты по осахариванию проводились в термостатируемых ячейках при 50°C, концентрация субстрата – 50 г/л, концентрация ферментного комплекса – 5 мг белка/г субстрата.

Результаты гидролитического осахаривания целлюлозосодержащих субстратов показали, что к образованию наибольшего количества восстанавливающих сахаров и глюкозы приводят ферментные смеси, содержащие более 12% β -глюкозидазы.

CREATION OF AN OPTIMAL HYDROLYTIC COMPLEX BASED ON *PENICILLIUM SP.* CELLULASES AND B-GLUCOSIDASE *ASPERGILUS JAPONICUS* FOR EFFECTIVE HYDROLYSIS OF LIGNOCELLULOSIC FEEDSTOCKS

Pravilnikov A.G., Proskurina O.V., Sinitsyn A.P.

¹*A.N.Bach Institute of Biochemistry RAS, Moscow, Russia*

²*M.V. Lomonosov Moscow State University, Chemical Department Moscow, Russia*

Deep destruction of lignocellulosic feedstocks with formation of soluble sugars is carried by multienzymatic complexes of endoglucanases, cellobiohydrolases, β -glucosidases and hemicellulases. Efficiency of sugars production process very much depends on composition of enzymatic complex, interaction of individual enzymes and inhibitory action of hydrolysis products. β -Glucosidases are the key enzymes of cellulolytic complex, these enzymes carry out the hydrolysis to glucose of an intermediate product – cellobiose, inhibiting cellobiohydrolases and endoglucanases. Thus, β -glucosidases are capable not only to produce glucose as a hydrolysis end-product, but also to increase efficiency of catalytic destruction of cellulose.

Purified *A.japonicus* β -glucosidase has been obtained from crude enzyme preparation F10 (containing 80 % of β -glucosidase) using ion-exchange chromatography (cellobiase activity of β -glucosidase was 120 U/mg of protein). Purified pure β -glucosidase was used as additive to crude cellulase preparation *Penicillium sp.* 221-151 in 0, 5, 8, 10, 12, 15 and 20 % of the total protein content. Obtained enzyme mixtures were used for saccharification of different lignocellulosic feedstocks (pretreated by milling pine wood, aspen wood and bagasse). Saccharification experiments were carried out in shaker at 50°C, concentration of lignocellulosic substrates – 50 g/l, concentration of a enzyme mixtures – 5 mg/g of substrate.

Results of hydrolytic saccharification shown that the maximal concentration of reducing sugars and glucose formed by the enzyme mixtures with the content of β -glucosidase higher than 12%.

ВЛИЯНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ОРГАНИЧЕСКОГО РАСТВОРИТЕЛЯ И УСЛОВИЙ, НА СОХРАНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ПОЛИФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ В ТЕЧЕНИЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ПЕРИОДА ВРЕМЕНИ

Белов А. А., Марквичев Н.С., Россинец Е.А., Мышенков Н.П.¹

РХТУ им. Д.И.Менделеева, каф. биотехнологии;

¹*ГУП «Тепличный», г. Владимир, E-mail: ABelov2004@ yandex.ru*

Ферменты – относительно неустойчивые вещества, при неблагоприятных условиях они легко денатурируют и инактивируются. При обработке растворами ферментов биологических объектов, помимо защитной реакции последнего (выделение ингибиторов, или иных инактиваторов энзима), инактивация раствора фермента может происходить в процессе эксплуатации вследствие различных воздействий (температура, pH, различные вещества и т.п.). Многоатомные спирты и полисахариды обычно стабилизируют растворы ферментов в процессе эксплуатации и хранения. Нами было изучено влияние водных растворов глицерина (Гл) и диметилсульфоксида (ДМСО) на сохранение ферментативной активности (ФА) по азоколлу полиферментных препаратов: ПК - протеолитический комплекс из гепатопанкреаса краба НПО «Биопрогресс», г. Щелково МО; ЛА – лизоамидаза продуцируемая бактериальной культурой из семейства *Pseudomonodaceae*, производства института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К.Скрябина (г. Пущино, МО).

Эффективные константы скорости термоинактивации (k_i) растворов ЛА при 25°C составляют

при содержании Гл в растворе 0 %масс 0,0016ч⁻¹, для 2 и 5 % 0,0009 и 0,0008ч⁻¹ соответственно. При увеличении температуры до 37°C k_i увеличивается соответственно 0,0079; 0,0077; 0,0064 ч⁻¹, увеличение температуры до 37°C нивелирует защитное действие Гл. При добавлении 2% раствора ДМСО в вышеперечисленные растворы дает следующие k_i (при 25°C) 0,0024; 0,0006; 0,0006 ч⁻¹.

Как нами было установлено ранее, исследованные полиферментные системы обладают значительной устойчивостью при высушивании водных растворов на воздухе, выдерживают несколько циклов высушивания. Содержимое огуречных листов, как было установлено в специально проведенных опытах, не оказывает влияние на ФА исследованных полиферментных систем, и не обладает собственной активностью по отношению в азоколлу в условиях эксперимента.

INFLUENCE OF THE MAINTENANCE OF ORGANIC SOLVENT AND CONDITIONS, ON PRESERVATION OF ACTIVITY OF POLYFERMENTAL PREPARATIONS DURING THE LONG PERIOD OF TIME

A.A.Belov, N.S.Markvicev, E.A. Rossinets, N.P. Myshenkov.

RCTU him. D.I.Mendeleeva, ch. Biotechnologies.

E-mail: ABelov2004@yandex.ru

Enzymes – rather unstable substances, under adverse conditions they easily denature and are inactivated. At processing by solutions of enzymes of biological objects, besides protective reaction of the last (secretion of inhibitors, or others inactivator of the enzyme), the inactivation of a solution of enzyme can occur while in service owing to various influences (temperature, pH, various substances, etc.). Multinuclear spir and polysaccharides usually stabilize solutions of enzymes in process eks-pluatatsii and storages. We had been studied influence of water solutions of glycerin (Gl) and a dimethyl sulfoxide (DMSO) on preservation enzymatic activity (EA) on azokoll polyfermental preparations: PC - a proteolytic complex from hepatopancreas of crab NPU “Bioprogress”, Shchelkovo MR; LA – лизоамидаза produced by bacterial culture from family Pseudomonodaceae, manufacture of institute of biochemistry and physiology of microorganisms of G.K.Skrjabina (Pushchino, MR).

Effective constants of speed of a thermoinactivation (k_i) solutions LA at 25°C make at the maintenance of Gl in a solution 0%mass 0,0016ч⁻¹, for 2 и 5 % 0,0009 and 0,0008ч⁻¹ accordingly. At increase in temperature to 37°C k_i increases accordingly 0,0079; 0,0077; 0,0064 ч⁻¹, the increase in temperature to 37°C levels protective action of Gl. At addition of solution DMSO of 2 % in the solutions set forth above gives the following k_i (at 25°C) 0,0024; 0,0006; 0,0006 ч⁻¹.

As by us it has been established earlier, investigated polyfermental siste possess considerable stability at drying of water solutions on air, maintain some cycles of drying. Contents of sheets of cucumber as it has been established in specially spent experiences, not influence on EA the investigated polyfermental systems, and don't possess personal activity under the relation in azokoll in experimental conditions.

ИССЛЕДОВАНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГИДРОЛИЗА БЕЛКОВ МОЛОЧНОЙ СЫВОРОТКИ

Рытченкова О.В., Красноштанова А.А.

*Российский Химико-Технологический Университет имени Д.И. Менделеева,
125047 г. Москва, Миусская пл., д.9. РХТУ имени Д.И. Менделеева, кафедра биотехнологии.*

В настоящее время в питании людей с пищевой непереносимостью к белкам молока широко применяются продукты, созданные на основе гидролизатов. Белки, содержащиеся в молочной сыворотке и сывороточных белковых концентратах, обладают ценнейшими биологическими свойствами. Они содержат оптимальный набор жизненно необходимых аминокислот и с точки зрения физиологии питания относятся к «идеальным» белкам, в которых соотношение аминокислот соответствует потребностям организма. Существует много способов проведения гидролиза, однако наибольший интерес вызывает ферментативный гидролиз, не требующий жестких условий проведения процесса и позволяющий получить препараты с заданными свойствами. Поэтому, целью данной работы являлось исследование процесса гидролиза белков молочной сыворотки с помощью различных препаратов протеолитических ферментов.

Объектом исследования являлась фракция, полученная при ультрафильтрации молочной сыворотки и содержащая главные сывороточные белки: α -лактоальбумин и β -лактоглобулин. Для проведения гидролиза были использованы ферменты трипсин, химотрипсин, а также комплексные ферментные препараты химопсин и панкреатин. Исследованы зависимости степени гидролиза от начальной концентрации белка в растворе (диапазон концентраций 10-40 г/л) и соотношения фермент-субстрат (диапазон соотношения $E/S = 0,5-3\%$). Степень гидролиза оценивали по увеличению содержания низкомолекулярной пептидной фракции, не осаждаемой трихлоруксусной кислотой. Было установлено, что наибольшая степень гидролиза 72% достигается при действии химопсина в количестве 3% в течение 3 часов. В случае дробной загрузки ферментного препарата химопсина (1% каждый час) наблюдалось увеличение степени гидролиза до 87%. Дальнейшие исследования направлены на изучение состава и свойств полученных белковых гидролизатов.

RESEARCH OF ENZYMATIC HYDROLYSIS OF WHEY PROTEINS

Rytchenkova O.V., Krasnoshtanova A.A.

*Mendeleyev's Russian Chemico-Technological University,
125047, Moscow, Miussky square, 9, department of biotechnology*

Today the products created on the basis of hydrolysates are widely applied for the people with milk protein intolerance. The proteins containing in dairy whey and whey protein concentrates, possess the most valuable biological properties. The whey proteins contain vital amino acids and are considered as ideal proteins in which the amino acids ratio corresponds to requirements of an human organism from the point of view of food physiology. There are many ways of hydrolysis however the enzymatic hydrolysis causes greatest interest. It is not require of cruel conditions and allow to obtain of preparations with the desirable properties. Therefore, the purpose of the given work was research of process of hydrolysis of the whey proteins by means of various proteolytic enzymes.

Object of research was the fraction obtained after a ultrafiltration of dairy whey. This fraction contains major whey proteins: α -lactalbumin and β -lactoglobulin. The enzymes trypsin, chymotrypsin, chymopsin and pancreatin have been used for hydrolysis. Dependences of degree of hydrolysis on initial protein

concentration (range 10-40 g/l) and enzyme/substrate ratio (range 0,5-3%) were investigated. The hydrolysis degree was calculated, it depends on an amount of low-molecular peptide fraction which are not precipitated by trichloroacetic acid. It has been established that the greatest degree of hydrolysis 72 % is reached at next conditions: enzymatic preparate – chymopsin, enzyme/substrate ratio = 3 % and time = 3 hours. The increase in degree of hydrolysis to 87 % was established in a case of fractional loading of a chymopsin (1 % each hour). The further researches are directed on studying of structure and properties of the given whey protein hydrolysates.

ИЗУЧЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

Сажина Н.Н.¹, Мисин В.М.¹, Короткова Е.И.²

¹Институт биохимической физики им Н.М. Эмануэля РАН,
119334, Москва, ул. Косыгина, 4.

²Томский политехнический университет, 634050, Томск, пр. Ленина, 30.

В настоящее время разработано множество различных методов определения содержания антиоксидантов (АО) в пищевых продуктах, биологически активных добавках, лекарственных растениях и препаратах, биологических жидкостях и других объектах, а также их активности в отношении свободных радикалов. Однако сравнивать данные, полученные разными методами, порой весьма затруднительно, так как методы основаны на различных принципах измерения, модельных системах и имеют разную размерность антиоксидантной активности. В таком случае целесообразно провести корреляцию между результатами, полученными разными методами. Одними из наиболее простых и оперативных методов анализа антиоксидантных свойств биологических объектов являются электрохимические, в частности, амперометрический и вольтамперометрический методы. Амперометрический метод позволяет определить суммарное содержание АО фенольного типа в исследуемых образцах. В вольтамперометрическом методе в качестве модельной реакции используется процесс электровосстановления кислорода (ЭВ O_2), а за критерий антиоксидантной активности исследуемых веществ принимается кинетический критерий, отражающий количество кислорода и его активных радикалов, прореагировавших с АО (или смесью АО) за единицу времени. В настоящей работе этими методами проведен сравнительный анализ содержания АО и их активности по отношению к кислороду и его радикалам в соках и экстрактах лекарственных растений, настояках чая и растительных добавок, а также в плазме крови человека. Оперативность методов позволила также изучить динамику изменения содержания антиоксидантов и их активности в разных объектах в течение времени. Наблюдается неплохая корреляция между суммарным содержанием фенольных АО в изученных образцах и значениями кинетического критерия: для плазмы крови, например, коэффициент корреляции составил $r=0,81$, а для соков некоторых лекарственных растений – $r=0,96$.

STUDY OF BIOLOGICAL OBJECTS ANTIOXIDANT PROPERTIES BY ELECTROCHEMICAL METHODS

Sazhina N.N.¹, Misin V.M.¹, Korotkova E.I.²

¹*Emanuel Institute of biochemical physics, RAS, 119334, Moscow, Kosygin str. 4;*

²*Tomsk Polytechnic University, 634050, Tomsk, Lenin str. 30*

At present, there are a large number of various methods for determining the antioxidants (AOs) content in foodstuffs, dietary supplements, drugs, biological liquids and other system, as well as the activity of AOs with respect to free radicals. However, it is impossible to compare the results obtained by different methods, since they are based on different principles of measurements, different model systems, and have different dimensions of the antioxidant activity index. In such cases, it is unreasonable to compare numerical values, but it is possible to establish a correlation between results obtained by different methods. One of the most simple and operative methods of the antioxidant properties analysis of biological objects are electrochemical, in particular, amperometric and voltammetric methods. The amperometric method allows defining the total phenol antioxidants content in investigated samples. The voltammetric method uses the process of oxygen electroreduction ($ER\ O_2$) as modeling reaction. Kinetic criterion K is used as an antioxidant activity criterion of investigated substances. It reflects quantity of oxygen and its active radicals which have reacted with AOs (or their mixes) in a time unit. In the present work we performed a comparative analysis of the total phenol antioxidants content and their activity with respect to oxygen and its radicals in juice and extracts of herbs, extracts of tea and vegetative additives, and also in plasma of human blood. Efficiency of methods has allowed studying also dynamics of antioxidants content and activity change in different objects during time. Good correlation between the total phenol antioxidants content in the studied samples and values of kinetic criterion is observed: for blood plasma, for example, the correlation factor has made $r=0,81$, and for juice of some herbs – $r=0,96$.

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ КОМПЛЕКС ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ АЭРОБНЫХ ПРОЦЕССОВ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО СИНТЕЗА

Шавалиев М.Ф., Мухачев С.Г., Емельянов В.М., Валеева Р.Т., Шагивалеев И.В.

Казанский государственный технологический университет,

420015 г. Казань, ул. Карла Маркса, д.68

Проектное двухуровневое образование и инновационная направленность технологических исследований требуют соответствующего аппаратного оснащения. В соответствии с концепцией исследовательского университета и формированием перспективных направлений научно-исследовательских работ (ПНР) спроектирован и создан трехреакторный биотехнологический комплекс в составе: установка непрерывной стерилизации питательных сред производительностью до 60 л/час; инокулятор колонного типа непрерывного действия с мембранным устройством подвода кислорода, рециркуляцией культуральной жидкости при полном соблюдении асептических требований; универсальный биореактор интенсивного действия объемом 10 л, обеспечивающий реализацию экспериментов с плотными культурами аэробных дрожжей и бактерий в периодическом, доливном и непрерывном режимах; биореактор пилотный продуктовый объемом 120 л.

Комплекс может быть легко модифицирован под использование в промышленных условиях для генерации чистых культур промышленных штаммов аэробных и условно-анаэробных дрожжей и бактерий.

Архитектура комплекса позволяет включать дополнительные средства измерения параметров технологического процесса, например газоанализаторы кислорода и углекислого газа, необходимые для расчета материальных балансов и стехиометрии исследуемых процессов биосинтеза в режиме on-line.

Разработанный комплекс успешно применяется в лабораторной практике студентов старших курсов, при выполнении дипломных работ и диссертационных исследований, госбюджетных и хозяйственных НИР.

Отдельные элементы и системы комплекса могут производиться малыми партиями для сторонних потребителей. Например, инокулятор, блок перистальтических дозаторов оригинальной конструкции, расходомер малых потоков газа и др.

BIOTECHNOLOGICAL COMPLEX FOR STUDYING AEROBIC PROCESSES OF MICROBIOLOGICAL SYNTHESIS

Shavaliyev M.F., Mukhachev S.G., Emeliyanov V.M., Valeeva R.T., Shagivaleev I.V.

*Kazan State Technological University,
420015, Kazan, K. Marks st., 68*

Design a two-tier education and innovative focus of technological research require appropriate apparatus equipment. In accordance with the concept of a research university and the formation of promising areas of scientific and research works was designed and created three-reactor biotechnological complex consisting of: plant of a continuous sterilization of culture media capacity of up to 60 l/h; inoculator column type continuous with the membrane device for oxygen inlet, recycling culture fluid in full compliance with aseptic requirements; integrated arrangement bioreactor intense action volume of 10 liters that ensures the realization of experiments with dense cultures of aerobic yeast and bacteria in a periodical, refill and continuous cycle; bioreactor pilot product capacity of 120 liters.

Complex can be easily modified for use in an industrial conditions for the generation of pure cultures of industrial strains of aerobic and anaerobic suspended yeast and bacteria.

Architecture of the complex allows to include additional means for measuring process parameters, such as gas analyzers of oxygen and carbon dioxide necessary for the calculation of material balances and stoichiometry of the processes of biosynthesis in the on-line model.

Designed complex has been successfully used in the laboratory practice of senior students, making the graduation works and dissertations, government budget and economic contracts of research.

Individual elements and complex systems can be made in small fabricators to outside consumers.

For example, inoculator, unit of peristaltic dosers of original design, flow detector of small gas flows, etc.

МЕМБРАННЫЙ ИНОКУЛЯТОР СО СПИРАЛЬНЫМ КАНАЛОМ ДЛЯ АЭРОБНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ДРОЖЖЕЙ

Шеремук М.А., Шавалиев М.Ф., Мухачев С.Г., Буйлин А.М.

*Казанский государственный технологический университет,
420015 г. Казань, ул. Карла Маркса, д.68*

Создан лабораторный биореактор вытеснения с мембранным устройством подвода кислорода. Варианты конструкции биореактора отличаются направлением потока культуральной жидкости: обтекание вдоль и поперек трубчатых мембран.

Выбран и проверен вариант размещения мембран устройства подвода кислорода в лабораторном биореакторе вытеснения. Достигнута величина удельной поверхности $155 \text{ м}^2/\text{м}^3$. Деформация мембран измерена в диапазоне давлений 0,1 – 0,25 МПа. Выполнена оценка массообменных характеристик лабораторных биореакторов перемешивания и вытеснения с мембранными устройствами подвода газового питания. Сульфитные числа при подаче технического кислорода под давлением 0,25 МПа в полости мембранных устройств соответственно равны: 0,6 и 0,9 г/л.час.

Проведенные гидродинамические испытания инокулятора со спиральным каналом показали, что в случае маловязких сред гидродинамика аппарата удовлетворительно описывается однопараметрической диффузионной моделью. Неравномерность температурного поля в радиальном направлении не превышает 5°C . Сульфитное число, как и в иных конструкциях аппаратов с мембранным подводом газового питания, определяется величиной удельной поверхности мембраны.

MEMBRANE INOCULATOR WITH A SPIRAL CHANNEL FOR AEROBIC CULTIVATION OF YEAST

Sheremuk M.A., Shavaliyev M.F., Mukhachev S.G., Builin A.M.

Kazan State Technological University, K. Marks Street, 68, Kazan, 420015, Russia

A laboratory displacement bioreactor with membrane device for oxygen feeding is created. Design options of bioreactor differs by direction of flow of culture liquid: flow along or across the tubular membrane.

Design of allocation of membrane device for oxygen feeding into a laboratory displacement bioreactor is selected and tested. Specific surface area reaches the value of $155 \text{ м}^2/\text{м}^3$. Deformation of the membrane was measured in the pressure range of 0.1 – 0.25 MPa. Mass transfer characteristics of a laboratory mixing bioreactor and a laboratory displacement bioreactor with membrane devices for gas feeding are estimated. Sulfite numbers when supplying technical oxygen under the pressure of 0.25 MPa into the cavity of membrane devices are 0.6 g/liter·hour and 0.9 g/liter·hour respectively.

Hydrodynamic tests of inoculator with a spiral channel showed that in the case of low-viscosity media hydrodynamics of the apparatus can be described satisfactorily by a one-parameter diffusion model. Nonuniformity of temperature field in radial direction does not exceed 5°C . Sulfite number, as in other designs of apparatus with membrane gas feeding, is determined by specific surface of the membrane.

НОВЫЕ КАТАЛИЗАТОРЫ НА ОСНОВЕ ИММОБИЛИЗОВАННОЙ ПЕРОКСИДАЗЫ ХРЕНА ДЛЯ СИНТЕЗА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Шиманская Е.И., Долуда В.Ю.

ГОУ ВПО «Тверской государственный технический университет»,
170026, г. Тверь, набережная Афанасия Никитина, д. 22

Одной из главных проблем, возникающих при создании ферментсодержащих каталитических систем для многократного использования, является выбор носителя для иммобилизации фермента, который обеспечит его лучшую стабилизацию. Пероксидаза хрена обладает высоким потенциалом как очень эффективный катализатор окисления, однако она все еще не нашла применения в промышленном производстве важных химических веществ. Ферментативное окисление 2,3,6-триметилфенола и метил- α -нафтола пероксидом водорода в присутствии катализатора пероксидазы хрена может быть возможной альтернативой для химических процессов окисления в витамине Е и синтезе K_4 . Иммобилизация фермента с формированием ковалентных связей происходит на поверхности хитозана, нанесенного на кремниевые и алюминиевые подложки и в макропорах используемых коммерческих органических полимеров. В работе описаны каталитическая активность и селективность катализаторов по отношению к формированию 2,3,5-триметилгидрохинона и метилнафтогидрохинона в различных условиях реакции. Наибольшей активностью обладала пероксидаза хрена, иммобилизованная на модифицированном оксиде кремния. Селективность формирования целевого продукта в этой системе составила 99.8 % при 99%-ой конверсии субстрата и активности катализатора, вычисленной как 2.61 г (субстрат).г⁻¹ (катализатор).с⁻¹ для процесса окисления 2,3,6-триметилфенола и 0.63 г (субстрат).г⁻¹ (катализатор).с⁻¹ для процесса окисления метилнафтола. Синтезированные биокатализаторы на окиси кремния и алюминия показали дезактивацию в повторных экспериментах, в то время как коммерческие образцы MN-100 и Sepabeads EC NA фактически не показали дезактивации.

NOVEL CATALYSTS ON A BASIS OF IMMOBILIZED HORSE RADISH PEROXIDASE FOR BIOLOGY ACTIVE SUBSTANCES SYNTHESIS

Shimanskaya E.I., Doluda V.Y.

Tver state technical university, 170026 Tver, Nab. A.Nikitina 22, Russia

While creating the reusable catalytic systems on the basis of enzymes one of the main problems is the choice of the carrier for immobilization of enzyme, which will provide its best stabilization and the method of immobilization. Horseradish peroxidase (EC 1.11.1.7, HRP) is one of the most frequently studied enzymes and it is widely used as liquid clinical chemistry reagent, dry powder reagent and test strip, it is also used for labeling in immunoassay, in blotting and histochemistry. In spite of HRP high potential as very efficient oxidation catalyst it is still didn't found application in industrial production of value chemical substances. Enzymatic oxidation of 2,3,6-trimethylphenol and methyl- α -naphthol by HRP can be possible alternative for chemical reagent oxidation processes in vitamin E and K_4 synthesis.

The immobilization of enzyme with formation of covalent bonds occurs on the surface of chitosan incorporated over silica, alumina supports and in macropores of used commercial organic polymers. Catalytic activity and selectivity of the catalysts towards the formation of 2,3,5 – trimethylhydroquinone and methylnaphthohydroquinone under a wide variety of reaction conditions are described. The most active catalyst was found to contain HRP immobilized over modified silica the selectivity of target products

formation on this system was 99.8% at 99% substrates conversion and the activity of the catalyst calculated as 2.61 g(substrate).g⁻¹(catalyst).s⁻¹ for 2,3,6-trimethyphenol oxidation process and 0.63 g(substrate).g⁻¹(catalyst).s⁻¹ for methylnaphthol oxidation process. Synthesized silica and alumina based biocatalysts showed deactivation in repeated experiments while commercial samples MN-100 and Sepabeads EC HA samples practically did not show any deactivation. The high catalytic stability is attributed to the high sorption capacity of commercial samples MN-100 and Sepabeads EC HA samples and formation of strong covalent bonds between enzyme and carrier.

АУКСОТРОФНОСТЬ ПРОМЫШЛЕННЫХ ПРОДУЦЕНТОВ ЛИЗИНА

Андрияш А.С., Бейко Н.Е., Заболотная Г.М., Тигунова Е.А., Ткаченко А.Ф., Шульга С.М.
 ГП «Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины» (ИПБГ),
 ул. Осиповского, 2а, 04123, г. Киев-123, Украина

Большинство промышленных штаммов-продуцентов это ауксотрофные мутанты по одной или нескольким аминокислотам. Это их свойство связано с изменениями в соответствующих генах, кодирующих ферменты, которые регулируют биосинтез лизина по принципу обратной связи.

Исследованы штаммы-продуценты лизина: *Brevibacterium* sp. 90, *Brevibacterium* sp. 90H, *Brevibacterium* sp. Xitl из «Коллекции штаммов микроорганизмов и линий растений для пищевой и сельскохозяйственной биотехнологии ИПБГ».

Изучена ауксотрофность всех клонов *Brevibacterium* sp. на твердых минимальных средах в отношении 16 аминокислот. Проверена ауксотрофность клонов к аминокислотам аспарагинового семейства на жидких минимальных средах с количественной оценкой продуктивности лизина.

При расщепе продуцентов на отдельные колонии все три штамма давали расщепление колоний на два типа: пигментированные (желтые) и безпигментные (бело-серые). Клоны из отдельных колоний оценивали по продуктивности лизина в периодических условиях культивирования и в условиях оптимального обеспечения культуры кислородом.

Установлено, что все клоны ауксотрофы по лейцину, некоторые из них имеют зависимость по треонину и метионину с блокированием гомосериндегидрогеназы (ген *hom*) и изменениями аспараткиназы (ген *lysC*).

Показано, что выбранные клоны *Brevibacterium* sp. генетически неоднородные.

THE AUXOTROPHY OF INDUSTRIAL PRODUCER STRAINS

**Andriyash A.S., Beyko N.E., Zabolotna G.M., Tigunova E.A., Tkachenko A.F.,
 Shulga S.M.**

*Institute for Food Biotechnology and Genomics, National Academy of Science of Ukraine (IFBG), 2a,
 Osypovskogo str., 04123, Kyiv-123, Ukraine*

The most of industrial producer strains are auxotrophic mutants by one or more amino acids. This property is connected with changes in the corresponding genes encoding enzymes that regulate the biosynthesis of lysine by the feedback principle.

The following Lysine producing strains have been studied: *Brevibacterium* sp. 90, *Brevibacterium* sp. 90H, *Brevibacterium* sp. X_{itl} from the Collections of microbial strains and plant lines for Food and

Agricultural Biotechnology of IFBG.

Auxotrophy of all clones of *Brevibacterium sp.* on solid minimal media has been studied for 16 amino acids. Auxotrophy of the clones to amino acids of aspartic family has been tested in liquid minimal media with a quantitative assessment of the productivity of lysine.

When screening the producer strains to individual colonies all three strains gave the splitting of colonies into two types: pigmented (yellow) and pigment-free (white and grey). Clones from individual colonies were evaluated by productivity of lysine in periodic cultivation conditions and under conditions, optimal to supply culture with oxygen. It was found that all the clones are Leucine auxotrophs, some of them are dependent on threonine and methionine with blocking of Homoserine dehydrogenase (gene *hom*) and changes of *Aspartate kinase* (gene *lysC*).

It was shown that the chosen clones *Brevibacterium sp.* are genetically heterogeneous.

ВЛИЯНИЕ КОМПОНЕНТОВ ФЕРМЕНТАЦИОННОЙ СРЕДЫ НА БИОСИНТЕЗ ТРИПТОФАНА

Шульга С.М., Ткаченко А.Ф., Тигунова Е.А., Бейко Н.Е., Хоменко А.И.

ГУ «Институт пищевой биотехнологии и геномики» НАН Украины,

04123 г. Киев-123, ул. Осиповского, 2а

тел/факс: +38 (044) 434 45 77, e-mail: Shulga5@i.ua

Одним из наиболее перспективных методов получения аминокислот является трансформация химических синтезов предшественников в аминокислоты с помощью микроорганизмов. Таким способом получено аминокислоты, синтез которых из предшественников является экономично выгодным (аспарагиновая кислота из фумарата), а так же аминокислоты, выделение которых из-за отсутствия предшественников у природных микроорганизмов не наблюдается. Проведено исследование по поиску штамма-продуцента триптофана среди бактериальных культур.

Промежуточными продуктами биосинтеза триптофана является анраниловая кислота, её риболентид и дезоксириболентид, 3-индолейглицерофосфат или свободный индол и серин (или цистеин), из которых в результате реакции b-замещения образуется триптофан. Рассмотрено участие некоторых предшественников триптофана: индола, индолпировиноградной кислоты, индолмолочной кислоты; смесей: индол + L-серин, индол + L-цистеин, индол + DL-аланин в его биосинтезе.

Проверено влияние различных источников углерода на биосинтез триптофана. Для оптимизации процесса биосинтеза необходимо было подобрать определенный источник углерода. При культивировании бактерии на различных углеводах определили, что при оптимальных условиях выращивания накопление биомассы и синтез триптофана находятся в прямой зависимости, несмотря на используемый источник углевода. Максимальное накопление биомассы и триптофана наблюдалось на среде с мелассой, наименьшие показатели накопления биомассы и синтеза триптофана – на среде с глюкозой.

EFFECT OF COMPONENTS OF FERMENTATION MEDIUM ON THE BIOSYNTHESIS OF TRYPTOPHAN

Shulga S.M., Tkachenko A.F., Tigonova E.A., Beyko N.E., Khomenko A.I.

*SE "Institute of Food Biotechnology and Genomics" of the National Academy of Science of Ukraine, Osypovskogo str., 2a, 04123, Kyiv-123, Ukraine
tel/fax: +38 (044) 434 45 77, e-mail: Shulga5@i.ua*

One of the most promising methods of getting amino acids is the transformation of the chemical syntheses of the precursors into amino acids by microorganisms. Some amino acids have been obtained in this way whose synthesis of the precursors is economically sound (aspartic acid from fumarate), as well as amino acids, whose release isn't observed in natural microorganisms because of lack of precursors. An investigation have been conducted to find a producer strain of tryptophan among bacterial cultures

Intermediates in the biosynthesis of tryptophan is an anthranilic acid and its ribolentid and deoxyribolentid, 3-indoleglycerophosphate or free indole and serine (or cysteine) of which tryptophan is produced by the reaction of b-substitution. The involvement of some precursors of tryptophan is studied: indole, indolepyruvic acid, indolelactic acid, and mixtures: indole + L-serine, indole + L-cysteine, indole + DL-alanine in its biosynthesis.

The effect of various carbon sources on the tryptophan biosynthesis is checked. To optimize the process of biosynthesis was necessary to pick a particular source of carbon. By culturing the bacteria on different carbohydrates it was determined that, under optimal growth conditions the accumulation of biomass and tryptophan synthesis are directly related, despite of the used source of carbohydrate. The maximum biomass accumulation and tryptophan synthesis were observed in medium with molasses, the lowest rates of biomass accumulation and synthesis of tryptophan in medium with glucose.

ИССЛЕДОВАНИЕ PTS-НЕЗАВИСИМОГО ТРАНСПОРТА ГЛЮКОЗЫ ВНУТРЬ КЛЕТОК E. COLI С ПРИМЕНЕНИЕМ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО АНАЛОГА D-ГЛЮКОЗЫ

Сливинская Е. А., Ямпольская Т. А., Рыбак К.В.

Научно-исследовательский институт «Аджиномото-Генетика»

Одной из задач биотехнологии является создание штаммов-продуцентов, эффективно конвертирующих глюкозу в целевые продукты биосинтеза. В связи с этим целесообразно использовать PTS-независимые системы транспорта глюкозы, позволяющие экономить фосфоенолпируват для синтеза тех соединений, непосредственным предшественником которых он является.

Нами было обнаружено, что конститутивная экспрессия низкоафинных H^+ -симпортеров D-ксилозы (XylE) или L-фукозы (FucP), а также транспортеров D-арабинозы (AraFGH) и D-аллозы (AlsABC), относящихся к ABC-семейству, обеспечивает эффективный рост клеток штамма *E. coli* MG1655 $\Delta ptsHIcrr$ на минимальной среде с D-глюкозой. Вероятной причиной этого является способность названных транспортных систем к переносу D-глюкозы, что было подтверждено прямым измерением транспорта её флуоресцентного аналога - 2-NBDG (Рис.1). Во всех случаях имело место снижение скорости поглощения 2-NBDG клетками *E. coli* в присутствии D-глюкозы, вероятно, вследствие конкурирования двух субстратов за связывание с общим белком-транспортером, при этом L-форма глюкозы не влияла на поглощение аналога. К подобному эффекту приводило и добавление в реакционную смесь сахаров, специфических для исследуемых транспортеров.

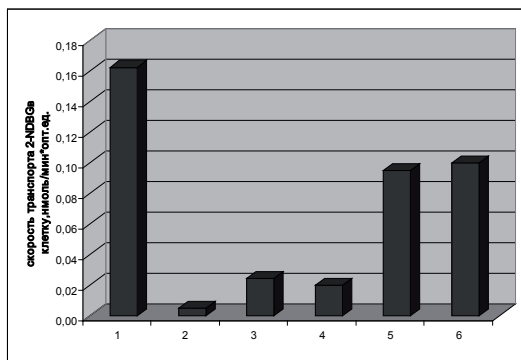


Рис.1 Скорость поглощения 2-NBDG клетками PTS-минус штамма *E.coli* с конститутивной экспрессией генов некоторых PTS-независимых транспортеров
1- MG1655 (PTS+), 2-MGΔptsHICrr (PTS-), 3-xylE, 4-fucP, 5- araFGH, 6- alsABC

Таким образом, выявлена способность транспортных систем XylE, FucP, AraFGH, AlsABC к PTS-независимому переносу D-глюкозы внутрь клетки *E.coli*, что может быть использовано при создании штаммов-продуцентов аминокислот.

THE INVESTIGATION OF NON-PTS D-GLUCOSE TRANSPORT INTO *E. COLI* CELLS WITH FLUORESCENT ANALOG OF GLUCOSE

Slivinskaya E.A. Yampolskaya T.A, Rybak K.V.

Research Institute «Ajinomoto-Genetika»

In *E.coli* the passage of glucose through the cell membrane proceeds via the phosphotransferase system (PTS) mainly. In some biotechnological processes, where PEP is a precursor of desired product, there is considerable interest in creation of *E.coli* strains that can transport glucose efficiently by an alternative non-PTS pathway.

Nine non-PTS transport systems, accounted for uptake of L-arabinose (AraE, AraFGH), D-xylose (XylE, XylFGH), L-fucose (FucP), L-rhamnose (RhaT), D-allose (AlsABC) and D-ribose (RibABC), were studied. as the sole carbon source was studied. It was found out that constitutive expression of the xylE, fucP, alsABC or araFGH genes improves the growth of PTS-deficient strain in minimal medium supplemented with glucose.

To measure the rate of glucose uptake through these transport systems the experiments with fluorescent analogue of D-glucose, 2-NBDG, were carried out. The results were shown in Fig.1.

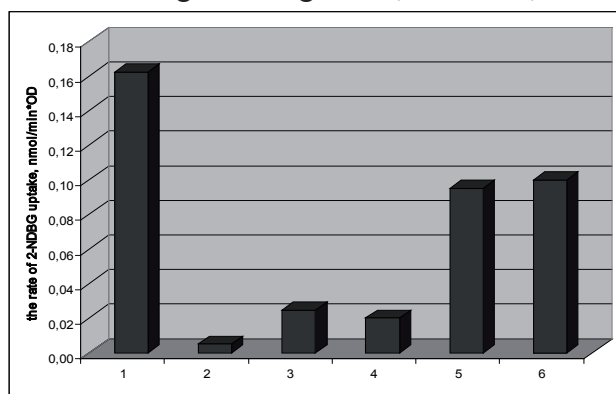


Fig.1 The rate of 2-NBDG consumption by *E.coli* PTS-deficient strain with constitutive expression of some non-PTS sugar transporters genes
1- MG1655 (PTS+), 2-MGΔptsHICrr (PTS-), 3-xylE, 4-fucP, 5- araFGH, 6-alsABC

Introduction of D-glucose into the medium decreased the rate of 2-NBDG uptake, indicating that both substances use the same way to pass the cell membrane. Moreover, the effect found to be a stereo specific, because L-glucose had no effect on 2-NBDG uptake into *E. coli* cells. The similar experiments were carried out with native substrates of the sugar transporters. It was shown that in all cases the rate of 2-NBDG uptake was notably decreased when appropriate sugar was added in the medium.

Summarizing the results listed above it possible to conclude that the XylE, FucP, AlsABC and AraFGH are able to provide non-PTS transport of D-glucose into *E. coli* cells.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА ВЫДЕЛЕНИЯ КАРОТИНОИДОВ ИЗ ГАЛОФИЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ *HALOBACTERIUM HALOBIVM*

Тимошенко К.А., Красноштанова А.А.

Российский химико-технологический университет имени Д. И. Менделеева 125047, г. Москва, Миусская пл., д. 9.

В настоящее время растет интерес к получению производных нуклеиновых кислот из природного сырья, среди которого наиболее перспективным является биомасса бактерий. При микробиологическом производстве после выделения первичных и вторичных метаболитов отработанная биомасса бактерий является крупнотоннажным трудноутилизируемым отходом. Однако она содержит значительное количество ценных химических соединений, на основе которых можно получить ценную конкурентоспособную продукцию технического, пищевого и медицинского назначения. К таким соединениям относятся, например, пигменты, липиды, белки и нуклеиновые кислоты.

В последнее время производные нуклеиновых кислот все больше применяются в медицине, не только в качестве составляющих лекарственных препаратов, но и как биологически активные добавки и диагностические тест системы.

В процессе выделения нуклеиновые кислоты способны образовывать устойчивые комплексы с другими метаболитами бактериальных клеток, что затрудняет процесс их очистки. Поэтому на первом этапе получения нуклеиновых кислот бактериальная биомасса должна быть максимально очищена от сопутствующих соединений.

В соответствии с вышеизложенным, в настоящей работе был исследован процесс выделения каротиноидов из галофильных бактерий *Halobacterium halobium*, а также проведен их фракционный анализ методом колончатой хроматографии.

В качестве объектов исследования были выбраны: суспензия бактериальной биомассы в питательной среде, влажная бактериальная биомасса, отмытая от питательной среды, сухая неизмельченная бактериальная биомасса и сухая измельченная бактериальная биомасса.

Для выделения каротиноидов в качестве экстрагентов использовали ацетон и изопропиловый спирт. Так же было проведено исследование влияния температуры на процесс экстракции каротиноидов из бактериальной биомассы.

Из полученных экстрактов каротиноидов были отогнаны органические растворители, после чего экстракты упаривали досуха. Сухой остаток каротиноидов был растворен в этиловом спирте. Полученный спиртовой раствор был проанализирован методами тонкослойной и колончатой хроматографии. В результате был определен фракционный состав каротиноидов галофильных бактерий.

Полученная биомасса практически не содержит пигментов и может быть использована для получения нуклеиновых кислот.

RESEARCH OF PROCESS OF EXTRACTION OF CAROTINOIDS FROM HALOPHILIC BACTERIA *HALOBACTERIUM HALOBIUM*

Timoshenko K.A., Krasnoshtanova A.A.

*D.I. Mendeleev University of Chemical Technology of Russia
125047, Moscow, Miussky square 9.*

Now interest to reception of derivative nucleic acids from natural raw materials among which the most perspective is the biomass of bacteria grows. By microbiological manufacture after allocation of primary and secondary metabolites the fulfilled biomass of bacteria is large-capacity difficult to extraction a withdrawal. However it contains a significant amount of valuable chemical compounds on which basis it is possible to receive valuable competitive production of technical, alimentary and medical appointment. Pigments, lipids concern such bonds, fibers and nucleic acids, for example.

Recently derivatives of nucleic acids are more and more applied in medicine, not only as making medicinal preparations, but also as biologically active additives and diagnostic test systems.

In the course of extraction nucleic acids are capable to form steady complexes with other metabolites of bacterial cells that complicates process of their clearing. Therefore at the first stage of reception of nucleic acids the bacterial biomass should be as much as possible cleared of accompanying bonds.

According to the above-stated, in the present work process of allocation of carotinoids from halophilic bacteria *Halobacterium halobium* has been investigated, and also their fractional analysis by a method columnar chromatography is carried out.

As objects of research have been chosen: suspension of a bacterial biomass in a nutrient medium, the wet bacterial biomass washed from a nutrient medium, the dry not crushed bacterial biomass and the dry crushed bacterial biomass.

For extraction of carotinoids in quality extracting liquids used acetone and isopropyl alcohol. As research of influence of temperature on process of an ex-traction of carotinoids of a bacteriemic biomass has been conducted.

From the received extracts of carotinoids organic dissolvent, then extracts have been steamed dry. The dry rest of carotinoids has been dissolved in ethyl alcohol. The received spirituous solution has been analyzed by methods thin-layer and columnar chromatography. The fractional structure of carotinoids halophilic bacteria was as a result certain.

The received biomass practically doesn't contain pigments and can be used for reception of nucleic acids.

ПОЛУЧЕНИЕ ТРОМБОЛИТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ИЗ ГРИБА РОДА *COPRINUS*, ИССЛЕДОВАНИЕ ЕГО АКТИВНОСТИ

Тозик Е.В., Шамцян М.М.

*Санкт-Петербургский государственный технологический институт (Технический университет),
190013, Санкт-Петербург, Московский пр., д.26*

Уже несколько десятков лет одно из центральных мест в вопросах медицины занимает проблема лечения сердечно-сосудистых заболеваний, одной из причин которых является тромбообразование (образование фибриновых сгустков) в кровеносных сосудах. Следствием тромбообразования могут стать инсульты, ишемия миокарда, тромбоэмболии, облитерирующий эндартериит и другие патологические состояния. В связи с этим актуальным является вопрос о усовершенствовании

имеющихся и разработке новых методов фибринолитической терапии. Одним из основных направлений в разработке лекарственных средств является получение препаратов на основе фибринолитических и тромболитических ферментов. Перспективным оказывается получение препаратов на основе ферментов высших грибов.

Объектом наших исследований в результате скрининга был выбран гриб рода *Coprinus*. Процесс получения тромболитического препарата из гриба включает в себя четыре основные технологические стадии: а) культивирование штамма гриба глубинным способом; б) отделение биомассы от нативного раствора культуральной жидкости; в) ультрафильтрацию нативного раствора; г) лиофильную сушку частично очищенного концентрата.

В результате исследований фибринолитической активности гриба, были подобраны условия культивирования, позволившие повысить активность получаемого препарата в три раза.

Изучение фибринолитической активности проводили на каждой технологической стадии *in vitro*, определяя активность активатора плазминогена в пробе. Изучение тромболитической активности сухих препаратов проводили *in vivo* на крысах-самцах линии Вистар. Активность препаратов определялась методом образования и последующего расщепления тромба в венах и артериях животных. Вводимые препараты в опытах тромбоза в венах способствовали уменьшению тромба в среднем на 75%. В опытах тромбоза в артериях – лизису пристеночного тромба и восстановлению кровотока в среднем до 95%, после полной его остановки.

Исследования активности *in vivo* позволили заключить то, что препарат оказывает фибринолитическое действие в первые сутки после образования тромба.

PRODUCTION OF THROMBOLYTIC AGENT OF THE FUNGUS GENUS COPRINUS, AND STUDY OF ITS ACTIVITY

E.V. Tozik, M.M. Shamtsyan

The St.-Petersburg state institute of technology (technical university), 190013, SPb, Moskovsky prospect, 26

For decades, a central place in medical issues is the problem of treatment of cardiovascular disease, one of the reasons is that blood clots (fibrin's clot formation) in blood vessels. The consequence of thrombosis can be stroke, ischemia of myocardium, thromboembolism, endarteritis obliterans and other pathological conditions. In connection with this important question is about the improvement of existing and developing new methods of fibrinolytic therapy. One of the main trends in drug development is to obtain drugs on the basis of fibrinolytic and thrombolytic enzymes. Promising is obtaining drugs on the enzymes of higher fungi.

The object of our research as a result of screening was chosen mushroom genus *Coprinus*. The process of obtaining thrombolytic agent from the fungus comprises four main process steps: a) deep culturing the strain of the fungus; b) separating the biomass from the native solution culture fluid; c) ultrafiltration of the native solution; d) freeze-dried partially purified concentrate.

As a result of studies of fibrinolytic activity of the fungus, were selected culture conditions, allowed to increase the activity of receiving the drug three times.

Study of fibrinolytic activity was carried out at each technological stage *in vitro*, to determine the activity of plasminogen activator in the sample. The study of thrombolytic activity of dry preparations were carried out *in vivo* in male rats Wistar. Activity of the preparations was determined by the formation and subsequent splitting of a blood clot in the veins and arteries of the animals. Administered drugs in experiments thrombolysis in the veins helped reduce blood clot in an average of 75%. In the experiments

of thrombolysis in the arteries - a blood clot lysis of membrane and restore blood flow to an average of 95%, after a full stop it.

Research activity *in vivo* led to the conclusion that the drug has fibrinolytic effect on the first day after the formation of thrombus.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ NAD

Цыренов В.Ж., Санданов А.А., Островский Д.Н.¹, Козин В.А.

*Восточно – Сибирский Государственный Технологический Университет,
г. Улан-Удэ, 60013, ул. Ключевская 40-а;*

¹*Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН,
г. Москва, 119071, Ленинский проспект, 33*

В докладе приведены сравнительные исследования 4 штаммов продуцентов нуклеотидов из группы коринеподобных бактерий и 5 типовых культур из этой группы на способность синтезировать NAD (никотинамидадениндинуклеотид) из предшественников аденина и никотинамида. Микробиологический синтез НАД проводился в специально разработанных условиях ферментации. Установлено, что наибольший выход целевого продукта (5 мг/мл) наблюдается при использовании *Corynebacterium ammoniagenes* ВСТИ 403.

Исследованы изменения активности ферментов salvage синтеза никотинамидных коферментов – аденилаткиназы и никотинатфосфорибозилтрансферазы в процессе биосинтеза НАД. Показано ингибирующее действие конечных продуктов биосинтеза – НАД и НАДФ на эффективность исследуемого процесса микробиологического синтеза.

PRODUCING OF NAD BY MICROBIOLOGICAL SYNTHESIS

Tsyrenov V.Zh., Sandanov A.A., Ostrovsky D.N.¹, Kozin V.A.

*East – Siberian State Technology University,
Ulan-Ude, Russia, 670013, Kluchevskaya st. 40a;*

¹*A.N. Bach Institute of Biochemistry,
Moscow, 119071, Leninsky prospect – 33.*

In this report comparative study of 4 corynform nucleotide – producer strains and 5 typical coryneform cultures, for NAD (nicotinamide adenine dinucleotide) producing ability from adenine and nicotinamide as precursors was provided. specially developed fermentation conditions for microbiological synthesis of NAD was applied. It was determined that maximal end product output (5 mg/ml) can be reached while using *Corynebacterium ammoniagenes* VSTI 403.

Adenylate kinase and nicotinate phosphoribosyltransferase enzymes activity changes during biosynthesis process was researched. Inhibition by NAD and NADP as end products of investigated process was shown.

ПОВЕРХНОСТНОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ГРИБА *METARHIZIUM ANISOPLIA*

Васильева А.В., Марквичёв Н.С.

*Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева,
125047 г. Москва, Миусская пл., 9*

Поверхностное культивирование грибов несправедливо забыто. Культивирование грибов на твердых средах имеет большое практическое и научное значение. С физиологической точки зрения развитие микроорганизма на поверхности наиболее близко к развитию его в природных условиях. Изучение роста грибов на твердых средах позволяет выявить общие закономерности управляемого твердофазного культивирования. Целью данной работы является изучение динамики роста и физиологии развития гриба *M. anisoplia* на твердых средах с различными источниками углерода и при различных концентрациях субстрата.

Эксперименты по твердофазному культивированию на различных субстратах показали, что гриб *M. anisoplia* метаболизирует глюкозу, подсолнечное масло и глицерин. При изменении субстрата менялась радиальная скорость гриба, образование вторичных метаболитов и общая физиология развития гриба.

Эксперименты по твердофазному культивированию с различными концентрациями глюкозы показали различие в радиальной скорости роста и в физиологии развития гриба. Можно выделить три области концентрации глюкозы, где кинетические и физиологические параметры гриба *M. anisoplia* практически не менялись. Первая область от 0 до 0,1 г/л глюкозы гриб *M. anisoplia* не вырабатывает вторичные метаболиты, снижается радиальная скорость роста и изменяется физиология развития. Вторая область от 0,1 до 40 г/л гриб *M. anisoplia* развивается в благоприятных условиях, наблюдается равномерный рост со всеми морфо-физиологическими особенностями, скорость роста практически не меняется в данном интервале концентраций глюкозы. Третья область от 40 до 150 г/л снижается радиальная скорость роста гриба *M. anisoplia* и изменяется физиология его развития.

Таким образом, изменение субстрата и его концентрации является фактором управления процессом культивированием гриба *M. anisopliae*.

SOLID-STATE FERMENTATION OF FUNGI *METARHISIMUM ANISOPLIA*

Vasil'eva A.V., Markvichev N.S.

D. Mendeleyev University of Chemical Technology of Russia, Moscow, Miusskaya sq.,9

Solid-state fermentation of fungus is unfairly forgotten. Solid-state fermentation of fungi has the big practical and scientific value. From the physiological point of view microorganism development on a surface is the closest to its development naturally. Studying of growth of fungus on solid mediums allows to reveal the general laws management of solid-state fermentation. The purpose of the given work is studying of dynamics of growth and physiology of development of fungi *M. anisoplia* on solid mediums with various sources of substratum and at various concentrations of a substratum.

Experiments on solid-state fermentation on various substrata have shown that fungi *M. anisoplia* use glucose, a sunflowerseed oil and glycerine. Radial growth rate of the fungi, formation of secondary metabolites and general physiology of development of the fungi varied at substratum change.

Experiments on solid-state fermentation with various concentrations of glucose have shown difference in radial growth rate and in physiology of development of the fungi. It is possible to gate out three ranges of concentration of glucose where kinetic and physiological parameters of fungi *M. anisoplia* practically

did not vary. The first range from 0 to 0,1 g/l glucose. *M. anisoplia* does not produce secondary metabolites, radial growth rate decreases and the development physiology varies. The second range from 0,1 to 40 g/l. *M. anisoplia* educes in favorable conditions, uniform growth with all physiology features is observed, growth rate practically does not vary in the given interval of concentrations of glucose. The third range from 40 to 150 g/l. Radial growth rate of fungi *M. anisoplia* decreases, the physiology of its development also varies.

Thus change of a substratum and its concentration is the factor of management solid-state fermentation of fungi *M. anisopliae*.

РАЗРАБОТКА НОВЫХ ЭНЕРГОЭКОНОМНЫХ МАССООБМЕННЫХ УСТРОЙСТВ ДЛЯ ПРОМЫШЛЕННЫХ АЭРОТЕНКОВ

Винаров А.Ю., Соколов Д.П., Смирнов В.Н., Шитиков Е.С.

ОАО «ГосНИИИсинтезбелок», лаборатория «Технологии промышленного биосинтеза».

109004, Москва, А.Солженицина, 27. Vinarov@hotmail.com

Проблема очистки сточных вод от производственных предприятий и агрокомплексов является на сегодня важной и актуальной природоохранной задачей. Существенным фактором создания оптимальных технических решений при этом, является снижение затрат на процессы утилизации загрязнений при достижении регламентных показателей. Основным технологическим энергопотребляющим аппаратом в системе очистки сточных вод является аэротенк, где необходимые затраты эл.энергии связаны с обеспечением массопередачи O_2 в жидкость и перемешиванием по объему аэротенка. Анализ различных конструкций аэротенков и устройств для аэрации (пропеллерные перфорированные трубы, дисковые мембранные) показал, что критерий $N_{уд.O_2}$, эквивалентный затратам на уд.загрязнения (БПК) составляет 0,2-0,4 квтч/кг O_2 . Техническая суть нашей разработки состоит в создании такой конструкции массообменного устройства, которая обеспечит минимальные энергозатраты на 1кг переданного в жидкость O_2 при определенной (требуемой для процесса биоокисления) скорости транспорта O_2 в среду.

Нами с целью снижения энергетических затрат на аэротенках разрабатывается новое газожидкостное массообменное устройство роторного типа, обеспечивающее минимальные энергозатраты ($N_{уд.O_2} = 0,05-0,07$ квтч/кг O_2) и необходимую циркуляцию жидкостного потока. При этом, размер газовых пузырьков диспергируемых в жидкость составляет 200-400мкм, что обеспечивает высокую степень использования O_2 и скорость транспорта кислорода.

Расчеты показывают, что окупаемость затрат на оборудование этими устройствами промышленного аэротенка не превысят ~ 4мес, при экономии в 2,5-3,5 раза расхода эл.энергии. Таким образом, обеспечивается энергоэкономное решение актуальной экологической проблемы.

DEVELOPMENT OF NEW ENERGY- EFFICIENT MASS-TRANSFER DEVICES FOR INDUSTRIAL BIOLOGICAL AIR-TANK FOR TREATMENT OF LIQUID WASTE

A.Vinarov, D.Sokolov, V.Smirnov, E. Shitikov

*The Scientific-Institute of protein biosynthesis. The laboratory "Technology of industrial biosynthesis".
109004, Moscow, A.Soljenitsin str., A.Solenicina, 27 Vinarov@hotmail.com*

The problem of sewage of industrial enterprises and agro-complexes is today an important and urgent environmental task. A significant factor in creating the optimal technical solution for this is reducing the cost of pollution recycling processes while achieving regulatory indicators.

The basic technological energy-consumption device in sewage treatment system is air tank where necessary energy expenses are connected with maintenance of oxygen mass transfer in a liquid and it mixing into apparatus volume.

The analysis of various designs of air-tanks and devices for aeration (air screw, propeller, punched pipes, membrane disk, etc.) has shown that criterion $N_{sp.O_2}$, which is correlated to expenses on pollutions makes value about 0,2-0,4 kwt h/ kgO₂.

By us for the purpose of decrease in power expenses for air-tanks it is developed a new gaz-liquid mass-transferring device, providing the minimum power inputs

($N_{sp.O_2} = 0,05-0,07$ kwt h/kgO₂) and necessary circulation of a liquid stream.

Thus, the size of gas bubbles in a liquid makes 200-400mkm that provides high degree of use O₂ and speed of transport of oxygen. Calculations show that an economic return on the equipment these devices in industrial air tank will not exceed ~ 4monthes, at **economy in 2,5-3,5 times** of the electric energy.

This ensures energy efficient resolving of actual environmental problem.

ПОЛУЧЕНИЕ ОПТИМАЛЬНОГО ФЕРМЕНТАТИВНОГО КОМПЛЕКСА ЦЕЛЛЮЛОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ ДЛЯ ОСАХАРИВАНИЯ ИЗМЕЛЬЧЕННОЙ ОСИНОВОЙ ДРЕВЕСИНЫ

Волков П.В.¹, Рожкова А.М.¹, Сеницын А.П.^{1,2}

¹ *Институт Биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва, Россия;*

² *Химический факультет МГУ имени. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

Важной стадией биоконверсии лигноцеллюлозного сырья является ферментативный гидролиз полисахаридов клеточной стенки растений до сбраживаемых сахаров. Эффективность этого процесса зависит, прежде всего, от сбалансированности комплекса гидролитических ферментов. Для определения оптимального соотношения основных ферментов карбогидразного комплекса - эндоглюканаз (ЭГ) и целлобиогидролаз (ЦБГИ и ЦБГП), используя методы генетической инженерии, были созданы продуценты этих ферментов на основе рекомбинантного лабораторного штамма-реципиента микромицетного гриба *Penicillium canescens*. Далее, на основе новых продуцентов, были получены сухие ферментные препараты и проведен гидролиз измельченной осиновой древесины как дешевого возобновляемого растительного сырья на территории Российской Федерации.

Результаты экспериментов по осахариванию осиновой древесины показали, что оптимальным является соотношение 2:8 (эндоглюканаз : целлобиогидролаз), по содержанию белка в ферментных препаратах. При таком соотношении ферментных препаратов выход восстанавливающих сахаров и глюкозы был максимальным и составлял 50 и 30 г/л соответственно, что в 10 раз больше, чем после обработки контрольным препаратом, полученным лиофильным высушиванием культуральной

жидкости исходного штамма *Penicillium canescens*.

Используя методы белковой хроматографии, был определён компонентный состав полученных ферментных препаратов, выделены ключевые белки – целлобиогидролаза I, II и эндоглюканаза II и исследованы их энзимологические свойства.

OBTAINING OF THE OPTIMAL CELLULASE COMPLEX FOR SACCHARIFICATION OF THE PRETREATED ASPEN WOOD

Volkov P.V.¹, Rozhkova A.M.², Sinitsyn A.P.³

^{1,2}A.N. Bach Institute of Biochemistry, Russian Academy of Sciences,
Leninsky prospekt, 33, bldg. 2, Moscow, 119071, Russia;

³Chemical Department, M.V. Moscow State University,
Leninskiye Gory, 1-3, GSP-1, Moscow, 119991, Russia

The important step of the lignocellulose feedstock bioconversion is fermentative hydrolysis of cellular wall polysaccharides of plants to fermentable sugars. First of all the efficiency of this process depends on ratio of hydrolytic enzymes in the cellulolytic complex. Applying methods of genetic engineering, strain-producers of these enzymes with using of the recombinant laboratory strain-recipient filamentous fungi *Penicillium canescens* have been obtained for definition of an optimal ration of the major enzymes cellulase complex - endoglucanase (EG) and cellobiohydrolase (CBHI and CBHII). Using strain-producers enzymes preparations have been received and hydrolysis of the pretreated milling aspen wood was carried out as an example of cheap renewed plant feedstocks on the Russian Federation territory.

Results of saccharification experiments on aspen wood have shown that the ratio 2:8 (EG: CBH) is optimal considering total content of protein. At such ratio yield of reducing sugars and glucose was 10-fold more than by using of control enzyme preparation obtained by lyophilization drying of initial recombinant strain *Penicillium canescens* cultural medium and made 50 and 30 g/l respectively.

The component content of obtained enzyme preparations has been defined using methods of protein chromatography, “keys” enzymes – cellobiohydrolase I and endoglucanase II have been isolated and biochemical properties have been studied.

СТРУКТУРНО-МЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КРАХМАЛА, ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ ГЕННО-МОДИФИЦИРОВАННОГО КАРТОФЕЛЯ

Вассерман Л. А. ¹, Васильев В.Г. ², Канарский А.В. ³, Каминская А.М. ⁴

¹Учреждение Российской академии наук Институт биохимической физики
им. Н.М. Эмануэля РАН, 119334 Москва, ул. Косыгина, 4; e-mail: lwasserma@mail.ru

²Учреждение Российской академии наук Институт элементоорганических соединений
им. А.Н. Несмеянова РАН

³Казанский государственный технологический университет

⁴Учреждение Российской академии наук Центр «Биоинженерия» РАН

Генно-модифицированные растения все больше проникают в нашу жизнь. В настоящее время в мире широко применяются методы генной инженерии позволяющие улучшать агротехнические

характеристики растений. Одним из объектов генной инженерии является картофель, поэтому изучение генно-модифицированного картофеля и крахмала, выделяемого из него, необходимо, особенно относительно его безопасности и структурно-механических свойств.

В данной работе исследованы структурные и реологические свойства крахмала, выделяемого из генно-модифицированного картофеля сорта Луговской плюс, прошедшего государственную регистрацию, внесенного в государственный реестр и разрешенного для изготовления на территории РФ, ввоза на территорию РФ и оборота. Термодинамические и реологические характеристики крахмала из ГМ картофеля позволяют прогнозировать его применение при изготовлении термостабильных и прочных полимерных материалов.

STRUCTURAL-MECHANICAL PROPERTIES OF STARCH, EXTRACTED FROM GENE MODIFIED POTATO

L. A. Wasserman¹, V.G. Vasil'ev², A.V. Kanarskiy³, A.M. Kamionskaya⁴

¹ N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics RAS, 4, Kosygina str., 119334 Moscow, e-mail: lwasserman@mail.ru

² A.N. Nesmeyanov Institute of Organoelement compounds RAS

³ Kazan State Technological University

⁴ Center of Bioengineering of RAS

The gene modified (GM) plants enjoy of growing up applications in our day-to-day life. Nowadays, the methods of genetic engineering are used widely to improve agrotechnical characteristics of plants. Potato is one of the subject for genetic engineering. Research starch, extracted from GM potato, is of great necessity especially for safety and structural-mechanical properties.

Structural and rheological properties of starch, extracted from GM potato varieties *Lugovskoi plus* were investigated in this study. It is worth while, that *Variety Lugovskoi plus* has state registration of Russia, this variety there is in the list of national registry of plants complement for production in Russian Federation. Thermodynamic and rheological properties of starch extracted from GM potato allow for prediction its application for production of thermostable and reliable polymeric materials.

КОЛЛАГЕНОЛИТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ, СЕКРЕТИРУЕМЫЕ НЕКОТОРЫМИ ВИДАМИ ДЕЙТЕРОМИЦЕТОВ

Яковлева М.Б., Никитина З.К., Сухосырова Е.А., Быков В.А.

ГНУ ВИЛАР Россельхозакадемия. 117216, г. Москва ул. Грина, 7

Исследована способность лизировать коллаген у 15 видов дейтеромицетов, относящихся к родам *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Phialophora* при поверхностном культивировании. Для выявления лизиса коллагена скрининг методом была предложена модифицированная среда. Чапка с заменой 2 % сахарозы на равное количество коллагена. Чашечным методом на основании определения скорости роста колоний, зон лизиса коллагена и вычисления величин индексов лизиса было отобрано 3 представителя дейтеромицетов *A.flavus*, *P.chrysogenum* и *P.griseoroseum*. При глубинном культивировании выявлено, что наиболее высокой ферментативной активностью обладает *A.flavus*. Установлено, что коллаген индуцирует синтез коллагенолитических ферментов у *A.flavus*

Увеличение числа пассажей на среде с коллагеном приводит к возрастанию коллагенолитической активности от пассажа к пассажу. Внесение в жидкую питательную среду коллагена (1,5%) в качестве индуктора коллагеназ сокращает время культивирования на 4 суток и увеличивает выход экскретируемых ферментов в 7,5 раз. Для выделения и очистки ферментных препаратов из фильтрата культуральной жидкости *A.flavus* использовали последовательно гель-фильтрацию и аффинную хроматографию на коллаген-сефарозе. В результате выделено 2 электрофоретически гомогенных препарата с молекулярной массой 21кДа и 24кДа и степенью очистки в 39 и 69 раз соответственно. На основании исследований физических и биохимических свойств полученных ферментов с использованием различных ингибиторов и синтетических дипептидов установлено, что один из них (24кДа) является термолабильной металлопротеиназой с оптимумом pH в области нейтрального значения, а другой (21кДа) - относится к классу сериновых протеиназ. Таким образом, установлена возможность использования *A.flavus* в качестве продуцента протеиназ и коллагеназ для биотехнологических целей.

COLLAGENOLYTIC ENZYMES SECRETION BY SOME SPECIES OF DEUTEROMYCETES

Yakovleva M.B., Nikitina Z.K., Suhosyova E.A., Bykov V.A.

VILAR, 117216, Moscow, Green st., 7

The capability of lysing collagen was studied in 15 species of deuteromycetes of the genera *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium* and *Phialophora* by surface cultivation. The specific medium was developed for determining lysis of collagen by screening method on base medium Chapec with substitute 2% sucrose on equivalent quantitative of collagen. 3 species of deuteromycetes: *A. flavus*, *P. chrysogenum* and *P. griseoroseum* was take in base the growth rate, zone of lysis and index of lysis was determine in plate methods. The fastest was demonstrated by *A. flavus* under enzyme of activity into submerge cultivation. The collagen was induction synthesis of collagenolytic enzymes by *A. flavus*. The biosynthesis of collagenase by *A. flavus* was induces by addition collagen to cultivation medium. The increase passage on medium with collagen was more collagenolytic activity from passage to passage. The collagen (1,5%) as inductor of collagenase was more short time cultivation from 7 days to 3 days and increase extracellular collagenolytic activity in 7,5 time in cultivation to liquid medium. Method of isolation and purification of collagenolytic enzymes secreted by *A. flavus* was developed gel filtration and affinity chromatography with collagen-sepharose. That allowed to receive 2 electroforetically homogeneous enzymatic preparation with the molecular weight of 21 kDa and 24 kDa and degree purification of 39 and 69 time correspondingly. On the basis of investigation physical, chemical and biochemical properties of obtained enzymes with use different inhibitor and synthetic dipeptide was determine by one of them (24 kDa) was termolabile metalloproteinase with optimum pH in region neutral, but another (21 kDa) - allowed in class serine proteinase. So, *A.flavus* was producing proteinase and collagenase for biotechnical purposes.

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ КИНЕТИКИ НАКОПЛЕНИЯ О-АНТИГЕНА В ХОДЕ ГЛУБИННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ХОЛЕРНОГО ВИБРИОНА

Ульянов А.Ю., Никифоров А.К., Комиссаров А.В., Еремин С.А.

ФГУЗ Роспотребнадзора, Российский научно-исследовательский противочумный институт "Микроб", 410005 г. Саратов, ул. Университетская, д. 46

Рассмотрен вариант, когда скорость роста клеток не лимитируется концентрацией углеродного субстрата (глюкозы) и определяется содержанием в среде растворенного кислорода. Модель кинетики процесса была сформирована исходя из условий идеального смешения в реакторе. Система дифференциальных уравнений выглядит следующим образом:

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dX}{dt} = \mu \cdot X \\ \frac{dC}{dt} = K_L a \cdot (C^* - C_L) - q_C \cdot X \\ \left\{ \begin{array}{l} 0, \text{ если } 0 \leq t \leq 3 \\ \frac{X^2}{(K_p + X)} = -K_{TP} \cdot X^2, \text{ если } t \geq 3 \end{array} \right. \end{array} \right.$$

где K_p , K_{ip} – кинетические константы, г/л; q_C – скорость потребления кислорода клетками, 1/ч; q_{Pmax} – удельная максимальная скорость образования О-антигена, 1/ч; X – концентрация биомассы, г/л; C^* – равновесная концентрация кислорода при парциальном давлении, г/л; коэффициент массопередачи кислорода $K_L a$, ч⁻¹.

Была проведена идентификация параметров математической модели и найдены значения кинетических констант и коэффициентов при следующих начальных условиях $K_L a = 220$ ч⁻¹, $X = 0,8 \times 10^{-3}$ г/л, $C^* = 7,8 \times 10^{-3}$ г/л, $P = 0$ г/л.

Разработанная математическая модель позволяет определять максимальный выход О-антигена при различных режимах работы реакторов и уточнять параметры ведения процесса при различных начальных условиях.

MATHEMATICAL MODEL OF KINETICS OF O-ANTIGEN ACCUMULATION IN THE COURSE OF SUBMERGED CULTIVATION OF *VIBRIO CHOLERAE*

Ul'yanov A. Y., Nikiforov A. K., Komissarov A. V., Eremin S. A.

Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 410005 Saratov, Universitetskaya St., 46

Considered was the variant, when cell growth rate was not limited by the concentration of carbon substrates (glucose) and was determined by dissolved oxygen content in the medium. The model of kinetics of the process was formed coming from conditions of the ideal mixing in the reactor. The system of the differential equations looks as follows:

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dX}{dt} = \mu \cdot X \\ \frac{dC}{dt} = K_L a \cdot (C^* - C_L) - q_C \cdot X \\ \left\{ \begin{array}{l} 0, \text{ if } 0 \leq t \leq 3 \\ \frac{X^2}{(K_p + X)} = -K_{TP} \cdot X^2, \text{ if } t \geq 3 \end{array} \right. \end{array} \right.$$

where K_p , K_{ip} – kinetic constants, gram/litre; q_C – a velocity of oxygen consumption by the cells, hour⁻¹; q_{pmax} – a specific maximum velocity of the O-antigen formation, hour⁻¹; X – a concentration of the biomass, gram/litre; C^* – equal weight concentration of oxygen at partial pressure, gram/litre; index of oxygen mass transfer $K_L a$, hour⁻¹.

The parameters of the mathematical model were identified. Found were kinetic constants and indices values at the following initial conditions: $K_L a = 220$ hour⁻¹, $X = 0.8 \times 10^{-3}$ gram/litre, $C^* = 7.8 \times 10^{-3}$ gram/litre, $P = 0$ gram/litre.

The developed mathematical model allows to define maximum output of the O-antigen under different modes of the reactor work and to elaborate the parameters of the process performing under different initial conditions.

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ *RIBA*, *RIBG* РИБОФЛАВИНОВОГО ОПЕРОНА *BACILLUS SUBTILIS* В УСЛОВИЯХ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА

Якутик И.А.¹, Филиппенков И.Б.¹, Белодед А.В.¹, Склярова С.А.², Миронов А.С.², Кузнецов А.Е.¹

¹Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, 125047, Москва, Миусская пл., д. 9

²Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов, 117545, Москва, 1-й Дорожный пр-д, д. 1

Для защиты от окислительного стресса (ОС) клетка использует целый ряд антиоксидантных факторов, ферментов и систем репарации. При воздействии супероксидного анион-радикала и пероксида водорода индуцируется экспрессия многих белков, что зависит, в основном, от функционирования двух сенсорно-регуляторных систем: SoxR/S и OxyR. Ранее было показано, что ген *ribA* *Escherichia coli*, кодирующий GTP циклогидролазу II – первый фермент пути биосинтеза рибофлавина, является членом SoxR/S регулона. Уровень экспрессии гена возрастал в 8 раз в

условиях ОС [1].

Целью настоящего исследования являлось изучение влияния ОС на экспрессию некоторых генов рибофлавинового оперона (*rib*-оперона) *Bacillus subtilis*. В работе использовались 4 штамма *B. subtilis* (*ribA*::Mutin2 (№ 32), *ribG*::Mutin2 (№ 9), *ribC₁**ribA*::Mutin2 (№ 7), *ribC₁**ribG*::Mutin2 (№ 11)). Штаммы несут конструкции, построенные таким образом, что ген β-галактозидазы попадает под контроль промотора (промотор-подобных структур) генов *rib*-оперона. ОС моделировали с помощью внесения пероксида водорода. Уровень экспрессии генов *rib*-оперона определяли по активности β-галактозидазы соответствующего штамма.

У штаммов № 7 и № 32 наблюдалось воспроизводимое увеличение экспрессии β-галактозидазы в условиях ОС в среднем на 10% и 25% соответственно при культивировании как на богатой питательной среде LB, так и на минимальной среде Spizizen. Штаммы № 9 и № 11 либо не демонстрировали увеличения β-галактозидазной активности в условиях ОС, либо даже снижали ее. Это может свидетельствовать о чувствительности (хотя и существенно меньшей, чем у *E. coli*) промотор-подобной структуры, расположенной перед геном *ribA* в *rib*-опероне *B. subtilis*, к одной из регуляторных систем ответа клетки на ОС.

1. Koh Y.S. et al. Regulation of the *ribA* gene encoding GTP cyclohydrolase II by the *soxRS* locus in *Escherichia coli*. Mol. Gen. Genet. – 1996. – V. 251. – № 5. – P. 591-8

THE INFLUENCE OF OXIDATIVE STRESS ON THE EXPRESSION OF *RIBA* AND *RIBG* GENES OF RIBOFLAVIN OPERON OF *BACILLUS SUBTILIS*

Yakutik I. A.¹, Filipenkov I. B.¹, Beloded A. V.¹, Sklyarova S.A.², Mironov A. S.², Kusnetzov A. E.¹

¹ D. Mendeleyev University of Chemical Technology of Russia, 9 Miusskaya sq., Moscow 125074

² Scientific Center of Russian Federation Research Institute for Genetics and Selection of Industrial Microorganisms, 1-st Dorozhniy pr., 1, Moscow 117545

In order to protect themselves from the oxidative stress, cells use a number of antioxidant factors, enzymes and reparation systems. Under the influence of superoxide-generating agents an expression of various enzymes was inducted. This process is controlled by two regulatory systems: SoxR/S and OxyR. It is known that the *ribA* gene, encoding GTP cyclohydrolase II in *Escherichia coli*, is a member of SoxR/S regulon. The expression of corresponding gene in oxidative stress conditions was about 8 times higher than under normal conditions [1].

The main goal of this research was to investigate the influence of the oxidative stress on the expression of some genes of riboflavin operon (*rib*-operon) of *B. subtilis*. Four strains of *B. subtilis* was used in this research (*ribA*::Mutin2 (№ 32), *ribG*::Mutin2 (№ 9), *ribC₁**ribA*::Mutin2 (№ 7), *ribC₁**ribG*::Mutin2 (№ 11)). These strains contain special genetic constructions where *lacZ* gene, encoding β-galactosidase, is under the control of the promoters of corresponding genes of *rib*-operon. Oxidative stress was simulated by the exposure to hydrogen peroxide. The expression of *rib*-operon genes was determined by the β-galactosidase activity of corresponding strain.

It was found that with the exposure to hydrogen peroxide the expression of β-galactosidase was about 10% and 25% higher in strains №7 and №32 correspondingly. The increase of activity was observed both during the growth in Luria-Bertani medium and in Spizizen medium. Strains №9 and №11 didn't show any increase of activity of β-galactosidase under oxidative stress conditions, and in some cases they even demonstrated the decrease. This can serve as a proof to that the promoter-like structure, located before the *ribA* gene in the *rib*-operon of *B. subtilis*, is sensitive (not as much as in *E. coli*) to one of the antioxidant control systems.

1. Koh Y.S. et al. Regulation of the *ribA* gene encoding GTP cyclohydrolase II by the *soxRS* locus in *Escherichia coli*. Mol. Gen. Genet. – 1996. – V. 251. – № 5. – P. 591-8

БИОКОСМЕТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ФУНКЦИЙ КОЖИ: ИННОВАЦИОННЫЕ ПРОДУКТЫ, ЭКОКОНЦЕПТУАЛЬНЫЙ ПОДХОД

Ермолова Л.С., Ермолов И.А.

ООО Фирма «ЛИК Сервис», Россия, 355040, г. Ставрополь, ул. Доваторцев, д. 52А

Разработаны рецептуры, включающие комплексы биологически активных веществ животного и растительного происхождения, геоминеральные ингредиенты. Основу композиций составляют запатентованные инновационные продукты: ланохолестероловая фракция (ЛХФ) ланолина из шерстного жира мериносов (идентична эпидермальным липидам человека, в России никем больше не производится, в рецептурах обеспечивает множественный эффект) и не имеющий мировых аналогов мультиметаболический продукт Барометс™ из содержимого рубца карачаевских овец (представляет собой эволюционно сбалансированный набор веществ для полноценного обеспечения обменных и энергетических процессов в клетке). Экоконтцептуальность препаратов заключается в реализации принципа естественного, соответствующего экологии кожи восстановления ее синтетических функций и эффекторной стимуляции за счет нормализации состояния клеточных мембран (и, как следствие, опосредованных ими процессов) с помощью ЛХФ в сочетании с полноценным обеспечением пластическими и энергетическими субстратами, микро- и макроэлементами, витаминами, биофлавоноидами, антиоксидантами и т.д. Кроме того, при введении в рецептуру ЛХФ без химических эмульгаторов достигается стабильность и легкость текстур благодаря их нанодисперсности, а доставка ингредиентов в клетку осуществляется без применения поверхностно-активных веществ, которые, как известно, нарушают целостность мембраны с драматическими последствиями для клетки. Для увеличения сроков хранения применяются природные бактериостатики и антиоксиданты. Использование специальных мягких приемов обработки сырья, полученного в экологически чистых условиях, позволяет сохранять природные свойства биологически активных компонентов. В сочетании с высокой эффективностью внутриклеточной доставки веществ это обеспечивает снижение их действующих доз («капельная косметика»). Такой экофизиологический подход дает не кратковременную видимость результата, а длительный, естественный терапевтический и омолаживающий эффект, который усиливается по мере пользования косметическим средством.

REVITALIZING BIOCOSMETICS: INNOVATIVE PRODUCTS AND ECOCONCEPTUAL APPROACH

Yermolova L.S., Yermolov I.A.

LIK Service Ltd., 52A Dovatorstev str., Stavropol 355040, Russia

Formulations have been developed, including complexes of biologically active substances of animal and vegetable origin, geomineal ingredients Two patented innovative products make a basis for the compositions: lanocholesterol fraction (LChF) from the fat of merino sheep wool (identical to the human epidermal lipids, in the formulations provides multiple effects, in Russia is manufactured by our company only) and multimetabolic product, the Baromets™, from the content of the rumen of Karachai sheep (an evolutionarily balanced set of compounds necessary to support the synthetic processes and energy exchange in the cell, has no analogues in the world). According to the ecoconceptual principle, realized in our biocosmetics, all processes must be effected in complete accordance with ecology of skin. Our formulations provide restoring natural synthetic functions and effector stimulation of skin, appropriate to its nature, due to the

normalization of cell membranes (and, hence, of processes mediated by them) by LChF in combination with supplying with plastic and energetic substrates, micro- and microelements, vitamins, bioflavonoids, antioxidants, etc. Regeneration of native structure and functions of cell membranes and natural biosynthetic and metabolic processes in cells lead to the endogenous regeneration of the skin and restoring the youthful appearance. LChF provides repairing cell membranes, promotes the penetration of nutrients, plastic and energetic substrates, micro- and macroelements, vitamins, antioxidants etc. and also acts as an emulating agent. Due to LChF the delivery of ingredients into the cell is carried out without the use of surface-active substances which are known to affect the integrity of the membrane with dramatic consequences for the cell, and stable easy emulsion is maintained without adding chemical emulators for the perfect texture of our preparations. To increase the shelf life, we apply natural bacteriostatics and antioxidants. The use of special soft methods for preparation of ingredients from raw materials, obtained in environmentally friendly conditions, allows to save the natural properties of biologically active components. The high bioactivity in combination with high efficiency of intracellular delivery of substances reduces their doses («drip cosmetics»). Such ecophysiological approach gives no short-term visible results but natural, long lasting, therapeutic and rejuvenating effect, which increases as use of cosmetics.

РАЗРАБОТКА БИОСЕНСОРОВ НА ОСНОВЕ ДРОЖЖЕВОЙ АЛКОГОЛЬОКСИДАЗЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ НИЗШИХ СПИРТОВ

Зайцев М.Г.¹, Решетилов А.Н.², Алферов В.А.¹

¹ГОУ ВПО «Тульский государственный университет», 300600, г.Тула, пр. Ленина 92;

²УРАН ИБФМ им. Г.К.Скрябина, г.Пушино, пр. Науки, 5

При разработке экспрессных методов контроля содержания короткоцепочечных спиртов линейного строения применяют биосенсорные системы, которые характеризуются, простотой аппаратного и методического оформления, достаточными уровнями чувствительности и избирательности, экспрессностью и экономичностью. При разработке биосенсоров для мониторинга спиртов в биотехнологических процессах перспективным является использование фермента алкогольоксидазы в сочетании с электрохимическими преобразователями как на основе кислородного электрода, так и с применением электродов, полученных методом трафаретной печати (screen-printed электроды). Для биосенсоров на основе кислородного электрода проведен сравнительный анализ аналитических и метрологических характеристик систем кюветного и проточно-инжекционного типа с биораспознающими мембранами на основе алкогольоксидазы, выделенной нами из метилотрофных дрожжей *Hansenula polymorpha* NCYC 495 In. Пределы обнаружения спирта биосенсорами проточного и кюветного типа составляют 0.014 – 0.015 мМ. Получен стабильно работающий макет амперометрического биосенсора на основе печатных электродов (ООО «Русенс»), модифицированных алкогольоксидазой. Экспериментально рассчитаны значения констант Михаэлиса для исследованных субстратов, значения совпадают с литературными данными. С помощью макета биосенсорной установки проведен анализ содержания этанола в винах, полученные данные хорошо согласуются с референтным методом. Преимущества рассматриваемой технологии состоит в миниатюрности создаваемых датчиков, их многофункциональности, низкой себестоимости и, следовательно, возможности их одноразового применения.

Работа выполнена при поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» (2009-2013 г.), госконтракт № 02.740.11.0296 и № П551

DEVELOPMENT OF YEAST ALCOHOL OXIDASE BASED BIOSENSORS FOR THE DETERMINATION OF LOWER ALCOHOLS

Zaytsev M.G.¹, Reshetilov A.N.², Alferov V.A.¹

¹ Tula State University 300600 Tula, Pr. Lenina 92

² G.K. Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms RAS, 142290, Pushchino, Moscow region, Pr Nauki 5, Russia

Biosensors, which are characterized by high availability, simple equipment and operating instructions, sufficient levels of sensitivity and selectivity, analysis rapidity and profitability, are often used for the development of express methods of determination of lower alcohols. Application of the alcohol oxidase in conjunction with electrochemical transducers both basis on the oxygen electrode and the application screen-printed electrodes is perspective in the development of biosensors for monitoring of alcohols in biotechnological processes. A comparative analysis of analytical and metrological characteristics of cuvette and flow-injection type systems with alcohol oxidase, isolated from *Hansenula polymorpha* NCYC 495 In, was carried out for the biosensors based on oxygen electrode. The detection limits of methanol concentration are 0.014 - 0.015 mM for the both systems. A stably working model of amperometric biosensor based on the screen - printed electrodes, modified alcohol oxidase, was developed. Values of Michaelis constants for the investigated substrates were experimentally calculated and these values agree with published data. Ethanol content in wines was determined by development biosensor model. Obtained data agree well with the reference method. The advantages of the considered technology are created miniature sensors, their versatility, low cost and possibility of their disposable.

The current study was carried out with grant support from government contract № 02.740.11.0296 and government contract № P551.

АКТИВНОСТЬ И КИНЕТИКА КАТАЛИТИЧЕСКОГО СУБСТРАТА НА ОСНОВЕ ИНУЛАЗЫ, ИММОБИЛИЗОВАННОЙ НА НАНОТРУБКАХ ИЗ ДВУОКИСИ ТИТАНА

Голубев В.Н., Тереза Бланко Адварадо, Жидков А.И.

Universitat de Girona, Spain, Московский Государственный Университет Технологий и Управления, 109004, Москва, ул. Земляной вал, д. 73

В последнее время особую актуальность приобрело использование наноматериалов для создания функциональных материалов и биореакторов нового поколения. Иммунизация, как метод закрепления биоагентов на неподвижной матрице, широко используется в науке и технологии для создания высокочувствительных сенсоров и промышленных катализаторов.

В Центре биотехнологических исследований университета было изучено поведение нанокаталитического субстрата, сформированного из инулазы (2,1-бэта-Д-фруктан-фруктаногидролазы) гриба *Aspergillus candidus*, иммобилизованной на нанотрубках из двуокиси титана. Назначение субстрата – ферментативный гидролиз инулина до фруктозы в промышленном реакторе колоночного типа. Данная разновидность инулазы специфически гидролизует бэта-2,1- связи инулина до фруктозы в более мягких условиях по сравнению с кислотным гидролизом, требующим значительной концентрации ионов водорода, высокой температуры и применения кислотоустойчивого оборудования. Нанотрубки из двуокиси титана формировались продолжительным анодированием в слабых растворах плавиковой кислоты под воздействием переменного напряжения на предварительно выращенных на подложке из титана пленок двуокиси.

Оптимальной основой для иммобилизованной инулазы являлись трубчатые наноструктуры с диаметром нанотрубок 50-100 нм. Этот размер нанотрубок оказался наиболее оптимальным для реализации нанобиотехнологического процесса как в плане иммобилизации фермента, так и на его содержании в субстрате и каталитической активности.

Нами установлено, что термостабильность иммобилизованной инулазы как при применении нанотрубок, так и на обычных носителях, значительно выше по сравнению со свободной. При этом максимум каталитической активности (80-85%) проявляется в более широком температурном интервале, в частности, лежит в пределах 75-80 °С.

Зависимость от pH активности инулазы, иммобилизованной на нанотрубках и на обычных носителях, отличается еще более существенно. максимумы каталитической активности шире в 3-4 раза и сдвинуты в сторону более высоких значений pH. Это объясняется тем, что структурные нанотрубки катализатора имеют более избыточный поверхностный химический потенциал по сравнению с плоской поверхностью обычного носителя, в результате чего снижается энергия активации каталитических реакций.

Установлено, что каталитическая активность субстрата при использовании в реакторе колонного типа практически не меняется при 70-кратном периодическом проведении биотехнологического процесса, что делает легко осуществимой автоматизацию технологического процесса.

С помощью преобразования кривых зависимости скорости реакций от концентрации субстрата были определены кажущиеся значения константы Михаэлиса K_m и максимальной скорости V_{max} реакции гидролиза инулина для исследуемых субстратов инулазы, иммобилизованной на нанотрубках двуокиси титана. Иммобилизация в этом случае, как и следовало ожидать, приводит к увеличению значений константы Михаэлиса и уменьшению максимальной скорости реакции по сравнению с нативным ферментом. Однако по чисто кинетическим показателям биотехнологического процесса наносубстрат намного ближе к нативной инулазе, чем не нонокаталитические материалы.

Таким образом, сравнительный анализ значений активности и кинетических параметров субстратов полученных путем иммобилизации инулазы на нанотрубках из двуокиси титана, показывают их преимущество как с точки зрения активности, кинетических параметров, срока службы и иных эксплуатационных характеристик нанобиореакторов.

ACTIVITY AND KINETICS OF CATALYST SUBSTRATE ON BASIS OF INULASE IMMOBILIZED ON TITANIUM DIOXIDE NANOTUBES

Golubev V.N., Teresa Blanco Advarado, Zhidkov A.I.

Universitat de Girona, Spain, Moscow State University for Technology and Management, 109004, Moscow, Zemlyanoy val str., building 73

In these latter days use of nanomaterials in production of advanced functional materials and fermenters is of great urgency. Immobilization as technique for fixing biological agents on stationary matrix is widely used in science and technologies to develop sophisticated sensors and industrial catalysts.

In Biotechnological Research Centre of the University study of behavior of nanocatalyst substrate composed of inulase (2,1-β-D-fructan-fructanohydrolase) of *Aspergillus candidus* fungi immobilized on titanium dioxide nanotubes was held. Function of the substrate is to perform enzymatic hydrolysis of inuline into fructose in production reactor of columnar type. This type of inulase hydrolyzes β-2,1- bonds of inuline to fructose inherently in more mild conditions than in acid hydrolysis that requires considerable concentration of hydronium, high temperature and acid-resistant facilities. Titanium dioxide nanotubes

were formed by continuous anodizing process in dilute solution of fluohydric acid under alternating voltage on dioxide films fore-grown on titanium carrying base. Tube nanostructures of nanotube diameter 50-100 nm were the optimum base for immobilized inulase. Such dimensions of nanotubes appeared to be the most optimum to perform nanobiotechnological process in terms of enzyme immobilization as well as enzyme concentration in substrate and catalytic activity.

It was found that heat stability of immobilized inulase both with use of nanotubes and usual carrying agents is considerably higher as compared to that free. In addition, catalytic activity maximum point (80-85%) occurs in wider temperature range, particularly in range of 75-80 °C.

Characteristics of activity of inulase immobilized on nanotubes and usual carrying agents in relation to pH is significantly different. Maximum peaks of catalytic activity are 3-4 times wider and is offset to the side of higher pH values. This is because structural nanotubes of catalyst have more excessive surface chemical potential than flat surface of usual carrying agent whereby activation energy of catalytic reactions decreases.

It is found that catalytic activity of substrate used in reactor of columnar type does not change practically in 70-times repeated biotechnological process that makes possible to perform technological-process automation easily.

By transforming the reaction rate-substrate concentration curve the apparent values of Michaelis constant K_m and maximum rate V_{max} of inuline hydrolytic splitting reaction were defined for the studied substrates of inulase immobilized on titanium dioxide nanotubes. In this case immobilization expectedly leads to increase of Michaelis constant value and decrease of maximum rate of reaction by contrast to native enzyme. However, according to kinetic factors of biotechnological process the nanosubstrate is closer to native inulase than non-nanocatalytic materials.

Accordingly, comparative analysis of values of activity and kinetic parameters of substrates prepared through immobilization of inulase on titanium dioxide nanotubes shows its benefits on grounds of activity, kinetic parameters, life-span and other performance characteristics of nanobioreactors.

РАЗРАБОТКА БЕЗОТХОДНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В ПРОИЗВОДСТВЕ ГЕТЕРОЛОГИЧНОГО АНТИРАБИЧЕСКОГО ИММУНОГЛОБУЛИНА

Жулидов И.М., Никифоров А.К., Абрамова Е.Г., Еремин С.А, Антонычева М.В., Белоусов А.Д., Киреев М.Н., Шульгина И.В., Лобовикова О.А., Аленкина Т.В., Базлов Г.В, Васин Ю.Г.

ФГУЗ Роспотребнадзора, Российский научно-исследовательский противочумный институт "Микроб",

410005 г. Саратов, ул. Университетская, д. 46

Согласно биотехнологической схеме получения гетерологичного антирабического иммуноглобулина (АИГ), на различных этапах производства образуются отходы - эритроцитарная масса, фибрин и спиртосодержащий сток, являющиеся по своей сути ценными возвратными отходами и вторсырьем.

Предложенный нами комплексный подход к утилизации отходов производства АИГ включает в себя как их переработку, так и дальнейшее использование продуктов переработки в производстве препарата.

Эритроцитарную массу перерабатывали в качественную сухую белковую подкормку для лошадей-продуцентов методом конвекционного высушивания, а также использовали в качестве дополнительного источника получения специфического иммуноглобулина методом десорбции.

Фибрин подвергали ферментализу поджелудочной железой крупного рогатого скота и

полученный гидролизат использовали в качестве белковой основы питательных сред для культивирования возбудителей особо опасных инфекций. В целях ресурсосбережения провели конвекционную сушку гидролизата фибрина.

Спиртосодержащий сток, образующийся после осаждения гамма-глобулина 96 % этиловым спиртом, обрабатывали на регенерационной установке. Объемная доля этилового спирта после процесса регенерации составила (93 ± 1) %.

Таким образом, разработаны схемы переработки отходов производства АИГ - эритроцитарной массы, фибрина и спиртосодержащих стоков. Показано, что продукты переработки отходов могут быть включены в биотехнологическую схему производства АИГ, а также служить сырьем для производства питательных сред. Помимо экономических приоритетов, настоящие разработки имеют и значимые экологические аспекты, поскольку ведут к снижению экологической нагрузки на окружающую среду.

DEVELOPMENT OF NON-WASTE TECHNOLOGIES IN HETEROLOGOUS ANTI-RABIES IMMUNOGLOBULIN PRODUCTION

Zhulidov I.M., Nikiforov A.K., Abramova E.G., Eremin S.A., Antonycheva M.V., Belousov A.D., Kireev M.N., Shulgina I.V., Lobovikova O.A., Alenkina T.V., Bazlov G.V., Vassin Yu.G.

FSOH "Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe" of the Rospotrebnadzor, 410005, Saratov, Universitetskaya St., 46

Erythrocytic mass, fibrin and alcohol-containing effluents generated as wastes at different stages of heterologous anti-rabies immunoglobulin (ARI) production according to the biotechnological scheme, appear to be valuable reusable materials.

We propose an integrated approach for utilization of the ARI production wastes that includes their recycling and further application of the recycled products in the production of the preparation.

Erythrocytic mass was reprocessed into high quality dry protein feeding for equine producers, by means of convection drying, and also used as supplementary source to obtain specific immunoglobulin by means of desorption.

Fibrin was fermented using bovine pancreas, and the obtained hydrolyzate was used as protein basis of nutrient media for particularly dangerous infections agents' growth. Fibrin hydrolyzate was subjected to convection drying with the aim to save resources.

Alcohol-containing effluent generated after gamma-globulin precipitation with 96% ethanol, was processed at the regenerating apparatus. The volume content of the ethanol after regeneration was equal to (93 ± 1) %.

Thus, developed were the schemes of recycling of the ARI production wastes – erythrocytic mass, fibrin and alcohol-containing effluents. It was demonstrated that products of wastes recycling could be included into biotechnological scheme of the ARI production and serve as raw material for nutrient media production. Besides economical priorities, these developments are of significant ecological value as they permit to decrease ecological burden upon the environment.

СПОСОБ ИДЕНТИФИКАЦИИ БУТИРИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ ИЗ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЛОШАДИ

Жуковский Ю. Г., Кузнецова Л. П., Никитина Е.Р., Сочилина Е. Е.

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН

При промышленном производстве различных холинэстераз и в лабораторной практике иногда возникает необходимость в идентификации этих ферментов. Это может быть связано с нарушениями маркировки в процессе производства ферментов, а также при контроле и хранении готовой продукции.

В работе описан способ идентификации бутирилхолинэстеразы из сыворотки крови лошади от холинэстераз, выпускаемых промышленным способом из других биологических источников. Способ основан на различиях в чувствительности этих ферментов к обратимому ингибирующему действию фосфониевых соединений $(C_6H_5)_3P^+-CH_3 \cdot I^-$ (ингибитор 1) и $(C_6H_5)_3P^+-CH_2CH_2CH_3 \cdot Br^-$ (ингибитор 2). Идентификацию бутирилхолинэстеразы из сыворотки крови лошади (БуХЭЛ) от бутирилхолинэстеразы голубя (БуХЭГ), бутирилхолинэстеразы мозговой ткани (БуХЭБг), пропионилхолинэстеразы из мозговой ткани (ПХЭ №1) и из сыворотки крови (ПХЭ №2) осуществляют путём сравнения чувствительности этих ферментов к ингибитору 1 и к ингибитору 2. С этой целью для каждого фермента подбирают такую концентрацию ингибитора (C_1 – для ингибитора 1 и C_2 – для ингибитора 2), которая уменьшает ферментативную активность вдвое (I_{50}). Затем вычисляют величину отношения C_1/C_2 и в том случае, если эта величина больше, чем 4, делают заключение, что идентифицируемым ферментом является БуХЭЛ. Полученные результаты представлены в табл. 1 и 2.

Т а б л и ц а 1. Величины I_{50} . (Погрешность 10 %; $n = 5$; $P = 0,95$)

Ингибитор	I_{50} , мкМ				
	БуХЭЛ	БуХЭГ	БуХЭБг	ПХЭ №1	ПХЭ №2
$(C_6H_5)_3P^+-CH_3 \cdot I^-$ (1)	380	430	1200	430	380
$(C_6H_5)_3P^+-CH_2CH_2CH_3 \cdot Br^-$ (2)	40	280	1200	600	280

Т а б л и ц а 2. Величина C_1/C_2

Фермент	БуХЭЛ	БуХЭГ	БуХЭБг	ПХЭ №1	ПХЭ №2
C_1/C_2	9,5	1,5	1,0	0,7	1,4

Из данных табл. 2 следует, что из пяти испытанных холинэстераз только у БуХЭЛ величина C_1/C_2 равна 9,5, т.е. больше, чем 4. Для других холинэстераз величина C_1/C_2 меньше, чем 4 (от 0,7 до 1,5). Таким образом, предложенный способ позволяет надёжно идентифицировать бутирилхолинэстеразу из сыворотки крови лошади от других холинэстераз, выпускаемых производством из иных биологических источников.

THE METHOD FOR IDENTIFICATION OF HORSE SERUM BUTYRYLCHOLINESTERASE

Zhukovskii Yu.G., Kuznetsova L.P., Nikitina E.R., Sochilina E.E.

Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of RAS

In industrial cholinesterase production and in lab practice sometimes there is a necessity in identification of these enzymes. This could be connected with marking failure during the enzymes production process or on the stage of control and finished production storage. In the present work the way of identification of a horse serum butyrylcholinesterase from cholinesterases let out in the industrial way from other biological sources (butyrylcholinesterase, propionylcholinesterase) is described. The method is based on different sensitivity of these enzymes to reversible inhibition action of phosphonium compounds $(C_6H_5)_3P^+-CH_3 \cdot I^-$ (inhibitor **1**) and $(C_6H_5)_3P^+-CH_2CH_2CH_3 \cdot Br^-$ (inhibitor **2**). The identification of horse serum butyrylcholinesterase (BuChEH) from pigeon butyrylcholinesterase (BuChEP), brain tissue butyrylcholinesterase (BuChEBg), brain tissue propionylcholinesterases (PrChE №1) and serum blood propionylcholinesterases (PrChE №2) carry out by comparison of sensitivity of these enzymes to inhibitor **1** and to inhibitor **2**. For this purpose they find inhibitor concentration (C_1 for inhibitor **1** and C_2 for inhibitor **2**) that decreases enzyme potency of each cholinesterase twofold (I_{50}). Then calculate size of relation C_1/C_2 and in the event that this size more than 4, do the conclusion, that identified enzyme is BuChH. The received results represented in the table 1 and 2.

Table 1. Inhibitor concentration I_{50} . (Measure of inaccuracy 10%; $n=5$; $P=0,95$)

Inhibitor	I_{50} , mM				
	BuChEH	BuChEP	BuChEBg	PrChE №1	PrChE №2
$(C_6H_5)_3P^+-CH_3 \cdot I^-$ (1)	380	430	1200	430	380
$(C_6H_5)_3P^+-CH_2CH_2CH_3 \cdot Br^-$ (2)	40	280	1200	600	280

Table 2. Size of relation C_1/C_2

Enzyme	BuChEH	BuChEP	BuChEBg	PrChE №1	PrChE №2
C_1/C_2	9,5	1,5	1,0	0,7	1,4

From given tabl.2 follows, that from five tested cholinesterases only at BuChEH size C_1/C_2 is equal 9,5, i.e. more than 4. For others cholinesterases size C_1/C_2 is less than 4 (from 0,7 to 1,5). Thus, the offered way allows to identify reliably horse serum butyrylcholinesterase from others cholinesterases, let out by manufacture from other biological sources.

ПРИМЕНЕНИЕ БУТИРИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МИКРОКОЛИЧЕСТВ ЦЕТИЛТРИМЕТИЛАММОНИЯ

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

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН

Катионный азотсодержащий детергент цетилтриметиламмоний (ЦТА) представляет собой поверхностно-активное вещество (ПАВ). ЦТА широко используется для исследовательских целей, применяется в современной косметологии и медицине, входит в состав лечебных препаратов. Это соединение относительно безвредно для теплокровных животных и человека, однако в некоторых случаях может служить причиной сильных аллергических реакций. В связи с этим определение микроконцентраций ЦТА является актуальной задачей. Существующие экстракционно-фотометрические методы количественного определения ПАВ требуют сложной подготовки пробы и дорогостоящего оборудования. Нами предложен метод определения микроколичеств ЦТА основанный на его способности влиять на реакционную способность фермента бутирилхолинэстеразы сыворотки крови лошади (БуХЭ).

Как и все ПАВ, ЦТА при высоких концентрациях в растворах образует мицеллы. Однако, при концентрациях ниже 10^{-4} М, он образует истинные растворы и взаимодействует с холинэстеразами как обратимый эффектор. Нами было показано, что ЦТА при низких концентрациях является сильным обратимым ингибитором БуХЭ-гидролиза тиохолиновых субстратов, таких как бутирилтиохолин или ацетилтиохолин (АТХ), но активирует БуХЭ-гидролиз субстрата α -тионафтилацетата (ТНА). Обнаруженные эффекты позволяют использовать БуХЭ в качестве аналитического реагента для определения ЦТА. С этой целью в присутствии ЦТА измеряли степень угнетения БуХЭ-гидролиза АТХ или степень активации БуХЭ-гидролиза ТНА. Холинэстеразную активность определяли методом Элмана. Полученные данные представлены в таблице. По результатам таких измерений строили калибровочные кривые зависимости степени наблюдаемого эффекта (угнетения или активации) от концентрации ЦТА. Искомую концентрацию ЦТА определяли с помощью любой из двух калибровочных кривых. Предел обнаружения ЦТА по эффекту ингибирования АТХ составляет $1 \cdot 10^{-6}$ М, а по эффекту активирования ТНА – $5 \cdot 10^{-7}$ М.

Т а б л и ц а. Зависимость скорости БуХЭ-гидролиза АТХ и ТНА от концентрации ЦТА
0,05 М фосфатный буфер; [АТХ] = $1 \cdot 10^{-4}$ М; [ТНА] = $1 \cdot 10^{-4}$ М;
[реактив Элмана] = $2 \cdot 10^{-4}$ М; погрешность 10 %; n = 7, P = 0,95.

[ЦТА], 10^{-6} М	АТХ		ТНА	
	v , мкМ·мин ⁻¹	угнетение, %	v , мкМ·мин ⁻¹	активация, %
0,0	17,2	0,0	2,4	0,0
1,0	14,9	21,8	3,6	45,8
5,0	8,5	52,2	8,0	233,3
10,0	0,5	97,1	15,7	554,1

APPLICATION OF BUTYRYLCHOLINESTERASE FOR EVALUATION OF MICROCONCENTRATION OF CETYLTRIMETHYLAMMONIUM

Zhukovskii Yu.G., Zhukovskaya V.A., Kuznetzova L.P., Nikitina E.R., Sochilina E.E.

Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of RAS

Cationic nitrogen-containing detergent cetyltrimethylammonium (CTA) is a surface active agent (SAA). CTA is widely used for research needs. It is applied in up-to-date cosmetology and medicine and is a part of drugs. This chemical compound is comparatively harmless for hematothermal animals and people but in some cases it could be the cause of strong allergic reactions. That is why evaluation of microconcentration of CTA is an important objection. Current extraction-photometrical methods of SAA amount evaluation require complicated sample preparation and expensive equipment. We introduce a method of CTA microconcentration evaluation that is based on the CTA capability to influence on the reactivity of horse serum butyrylcholinesterase (BuChE). CTA as well as all SAA in high concentrations in solutions form micelles. But in concentrations lower than 10^{-4}M , it interact with enzyme as reversible effector. We have displayed that CTA in low concentrations is a strong reversible inhibitor of hydrolysis of thiocholine substrate such as butyrylthiocholine or acetylthiocholine (ATCh) under the action of BuChE. At the same time CTA activates α -thionaphthylacetate (TNA) hydrolysis under the action of this enzyme. Revealed effects make it possible to use BuChE as an analytical reagent for determination of CTA. For this purpose inhibition degree butyrylcholinesterase hydrolysis of ATCh or activation degree butyrylcholinesterase hydrolysis of TNA in the presence of CTA was evaluated. Cholinesterase activity was estimated by Ellman method. The obtained data is represented in the table.

Table. Dependence of speed of BuChE-hydrolysis from CTA concentration.

0,05 M phosphate buffer; $[\text{ATCh}] = 1 \cdot 10^{-4}\text{ M}$; $[\text{TNA}] = 1 \cdot 10^{-4}\text{ M}$;
 $[\text{DTNB}] = 2 \cdot 10^{-4}\text{ M}$; (measure of inaccuracy 10 %; $n = 7$, $P = 0,95$).

[CTA], 10^{-6} M	ATCh		TNA	
	v , $\text{mM} \cdot \text{min}^{-1}$	inhibition, %	v , $\text{mM} \cdot \text{min}^{-1}$	activation, %
0,0	17,2	0,0	2,4	0,0
1,0	14,9	21,8	3,6	45,8
5,0	8,5	52,2	8,0	233,3
10,0	0,5	97,1	15,7	554,1

On the ground of these estimations calibration graphs were created. They show the dependence of apparent effect degree (activation or suppression) from CTA concentration. Required CTA concentration was estimated with the help of any of two calibration graphs. CTA detection limit through ATCh inhibition effect amounts to $1 \cdot 10^{-6}\text{M}$ and through TNA activation effect this limit equals $5 \cdot 10^{-7}\text{M}$.

СЕКЦИЯ 4.1. «ПРОЕКТНЫЕ, ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ И АППАРАТНЫЕ РЕШЕНИЯ ПРИ МОДЕРНИЗАЦИИ СУЩЕСТВУЮЩИХ И ПРОЕКТИРОВАНИИ НОВЫХ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ И БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДСТВ»

SECTION 4.1. “PROJECT, TECHNOLOGICAL AND HARDWARE SOLUTIONS IN MODERNIZATION OF CURRENT AND DESIGN OF NEW BIOTECHNOLOGICAL AND BIOPHARMACEUTICAL PRODUCTION”

При поддержке www.fermenter.ru
Support: www.fermenter.ru

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ ORAL REPORTS

ЭЛЕКТРООПТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ И ОСМОТИЧЕСКИХ СОБЫТИЙ В БАКТЕРИЯХ

Angersbach A., Bunin V. EloSystems GbR, Germany
Berlin, Alt-Reinikendorf 28 3, 13407, Germany

Определение состояния клеток в режиме реального времени является основой оптимизации, стандартизации и валидации множества биотехнологических процессов. Применение электрооптического метода предоставляет широкие возможности для решения этих задач за счет определения нескольких важных физических параметров суспендированных клеток, которые тесно связаны с процессами клеточного метаболизма.

Коротко об электрооптическом методе анализа суспендированных клеток. Он включает в себя использование нескольких физических феноменов: воздействие на клетки переменного электрического поля, появление индуцированных зарядов на границах клеточных структур, изменение ориентации клеток и оптическую регистрацию этих изменений. Таким образом, абсолютная величина индуцированного заряда является с одной стороны регистрируемым параметром, а с другой стороны функцией отношения электрических параметров соприкасающихся клеточных структур. Например, ими могут быть электропроводности и диэлектрические параметры цитоплазмы и мембраны. Поэтому, выбор определенных частот электрического позволяет измерить по стационарной величине полученного электрооптического сигнала электропроводность цитоплазмы и рассчитать электропроводность клеточной мембраны. Измерение релаксационной части электрооптического сигнала позволяет определить средний размер клеток и при необходимости найти распределение их размеров. Расчет изменений электропроводности мембраны позволяет оценить интенсивность ионного транспорта через мембрану.

В силу пропорциональности величин удельной электропроводности цитоплазмы, ионной силы цитоплазмы и внутриклеточного pH, электрооптические измерения позволяют определить временную зависимость или профиль абсолютных величин этих параметров и выявить основные события клеточного метаболизма. К этим событиям можно отнести:

- интенсивность потребления энергетических субстратов и появление токсичных метаболитов;
- Пассивный и активный транспорт метаболитов;
- Время появления и существования активного транспорта;

Точки переключения внутриклеточных биохимических процессов или другими словами метаболические ключи при росте как дикого штамма, так и рекомбинантных клеток;

Коррекцию концентрации токсичных метаболитов с помощью изменения количества воды внутри клеток.

Все эти параметры при электрооптических измерениях оказываются доступными в режиме реального времени. Кроме этого можно идентифицировать и далее поддерживать известными средствами оптимальный уровень клеточной активности, найти время генерации клеток и предсказать пригодность клеток для применения в последующих процессах.

Полная автоматизация процесса измерения, получение экспериментальных и расчетных данных в течение 8-10 мин от отбора пробы позволяет осуществлять процессы по оптимальному профилю и осознанно с быстрым ответом проводить их коррекцию.

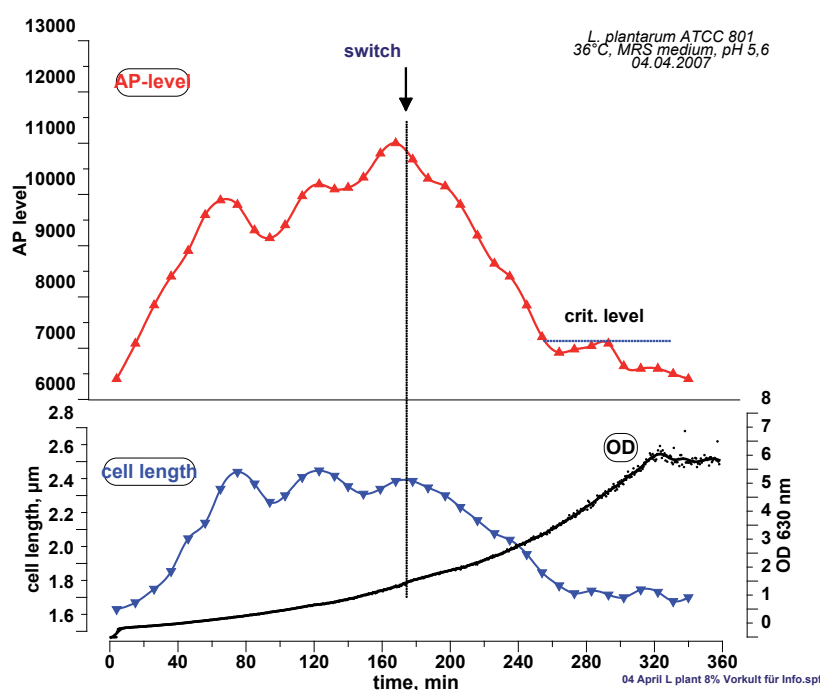
ПРАКТИКА ЭЛЕКТРООПТИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА И ОПТИМИЗАЦИИ ПРОЦЕССОВ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ БАКТЕРИЙ

Angersbach A., Bunin V., EloSystems GbR, Germany
 Berlin, Alt-Reinikendorf 28 3, 13407, Germany

Электрооптический анализ клеток из культуральной жидкости позволяет измерить электрические параметры клеточных структур, найти размер клеток, их эксцентриситет и при необходимости рассчитать распределение размеров клеток.

Непрерывное измерение электропроводностей цитоплазмы и мембраны клеток по стационарной величине электрооптического сигнала и определение среднего размера клеток по его релаксационной части предоставляет достаточный объем информации для идентификации, оптимизации и коррекции процесса культивирования клеток в режиме реального времени

На рисунке представлены профили изменения электропроводности цитоплазмы σ_c , которая линейно связана на выбранной частоте электрического поля с поляризуемостью клеток, изменение размера и оптической плотности



Анализ данных и идентификация процесса производится по следующим параметрам:

- Наклон профиля изменения σ_c на начальном участке кривой роста;
- Точки перегиба σ_c как точки изменения метаболизма клеток;
- Абсолютная величина σ_c как показатель накопления токсичных метаболитов;
- Наличие колебательного процесса в середине кривой роста как показатель избытка питательных субстратов на начальной стадии процесса культивирования;
- Уровень σ_c на завершающем участке кривой роста;
- Изменение среднего размера клеток;
- Кинетика совместного изменения σ_c и среднего размера на стационарной фазе культивирования.

Применение стандартных методов управления процессом (дробная подача субстратов, подбор оптимальных добавок, изменение pH и т.д.) позволяет на основе полученных параметров получить оптимальный и воспроизводимый профиль роста микроорганизмов. Кроме этого он позволяет предсказать качество продукта на основе живых клеток. Полученные данные применимы как при культивировании диких штаммов так и в технологических процессах с генетически модифицированными штаммами.

ТЕХНОЛОГИЯ ПРОМЫШЛЕННОЙ ОЧИСТКИ ВАКЦИН: ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ И ТЕХНИКО-ЭКОНОМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ МЕТОДОВ ХРОМАТОГРАФИИ И УЛЬТРАЦЕНТРИФУГИРОВАНИЯ ДЛЯ ОЧИСТКИ И КОНЦЕНТРИРОВАНИЯ ВАКЦИН

Троицкий Е.Н., к.т.н., консультант-референт

При производстве вакцин медицинского назначения, как культуральных так и эмбриональных, большое значение имеет этап концентрирования и очистки вирусного компонента, от результативности которого зависит реактогенность и эффективность препаратов. Основная цель данного технологического этапа заключается в наиболее эффективном отделении вируса от других компонентов аллантоисной, амниотической или культуральной жидкости, клеток млекопитающих и т.д. Кроме яичного белка доказанными причинами повышенной реактогенности препарата могут являться эндотоксины, протеазы и другие контаминанты вирусного и клеточного происхождения. Исходя из сказанного, можно сделать заключение, что метод очистки вируса направлен на освобождение вирусного материала от балластных белков, включающих различные ингибиторы, интерферон, протеазы, а также от контаминантов вирусного и клеточного происхождения, которые могут вызывать серьезные осложнения при вакцинации.

В результате анализа данных, касающихся современных технологий очистки и концентрирования вирусов, установлено, что применяющиеся в настоящее время технологические схемы включают комбинации нескольких методов, которые позволяют добиваться максимальной очистки вакцины от яичного белка и различных компонентов клеток. Основным критерием пригодности и эффективности той или иной схемы очистки и концентрирования является степень чистоты и концентрирования вирусного антигена. Об эффективности метода судят по выходу вируса, выраженному по проценту удаления балластных белков и нуклеиновых кислот. После осуществления манипуляций по очистке и концентрированию препарата вирусный компонент должен сохранять и более того повышать свои антигенные свойства, т.е. биологическую, иммуногенную, гемагглютинирующую, нейраминидазную активность, а также быть максимально свободным от балластных белков системы культивирования.

Таким образом, применение наиболее оптимального методического и технического решения для концентрирования и очистки вируса (антигена) от контаминантов систем культивирования и других технологических процессов позволяет исключить механические повреждающие

воздействия на вирус, повысить эффективность очистки и выход продукта, снизить реактогенность биопрепарата, уменьшить этапоемкость и продолжительность процесса, использовать возможности масштабирования и преимущества модульности технологии и т.д.

Обобщение и анализ имеющихся данных о способах очистки и концентрирования вирусов показал, что в современных промышленных технологиях наибольшее применение нашли методы ультрафильтрации, ультрацентрифугирования и хроматографии, позволяющие обрабатывать большие объемы вирусного антигена, добиваться максимальной очистки от балластных белков и достаточной для полуфабриката вакцины концентрации.

СЕКЦИЯ 5. «НАНОБИОТЕХНОЛОГИЯ» SECTION 5. "NANOBIOTECHNOLOGY"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ ORAL REPORTS

ВЛИЯНИЕ НАНО- И МИКРОЧАСТИЦ НА ФАЗОВОЕ РАЗДЕЛЕНИЕ И СТРУКТУРУ ПОЛУРАЗБАВЛЕННЫХ БИОПОЛИМЕРНЫХ СМЕСЕЙ

Антонов Ю.А.¹, Молденаэр Р.²

¹Институт Биохимической физики им. Н.М. Эмануэля, Российской академии наук,
ул. Косыгина. 4. 119334 Москва, Российская Федерация

²Католический Университет Левена, Департамент Химической инженерии,
Вильям де Кройлан 46 В-3001 Левен, Бельгия

Использование нано- и микрочастиц для влияния на фазовое разделение и морфологию (био) полимерных смесей представляет большой научный и технологический интерес. Задача данного исследования установить, могут ли малые объемные доли нано- и микрочастиц индуцировать фазовое разделение в полуразбавленных биополимерных смесях. С этой целью были определены фазовые диаграммы и получены изображения с электронного микроскопа для водной полразбавленной и слабоструктурированной системы казеин-альгинат-декстран сульфат натрия (ДС) в присутствии ряда заряженных микрочастиц с диаметром меньше, больше, и сравнимом с размером отверстий комплексной сетки казеин-ДС (2-3 μm). Мы показали¹ что 3 μm частицы (как позитивно так и негативно заряженные) инициируют фазовое разделение, и усиливают вязкоупругие свойства эмульсии, в то время как большие по размеру частицы действуют противоположным образом, а наночастицы (210 nm and 910 nm в диаметре) заметно не влияют на фазовое разделение и реологию системы. Экспериментальные наблюдения предполагают что доминирующий механизм ответственный за уменьшение термодинамической совместимости в такой системе является встраивание 3 μm частиц в отверстия (2-3 μm in diameter) комплексной сетки и усиление этой сетки. Уменьшение совместимости и возрастание вязкоупругости наиболее выражено при использовании сильно заряженных гидрофобных частиц. Таким образом, оптимизируя размеры и степень гидрофобности частиц можно влиять на фазовое разделение в биополимерных системах.

¹Y.A.Antonov, P. Moldenaers. Particle-destabilized semidilute biopolymer mixtures. *Soft Matter*, 2011 (accepted, in press).

THE EFFECT OF NANO- AND MICROPARTICLES ON PHASE SEPARATION AND THE STRUCTURE OF SEMIDILUTE BIOPOLYMER MIXTURES

Antonov Y.A.¹, Moldenaers²

¹*N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences,
Kosigin Str. 4, 119334 Moscow, Russian Federation*

²*K.U. Leuven, Department of Chemical Engineering,
Willem de Croylaan 46 B-3001 Leuven, Belgium*

The use of nano and micro particles to affect the phase separation and morphology in (bio) polymer mixtures is a topic of great scientific and technological interest. We examine the issue of whether a low-volume fractions of nano- and microparticles can lead to phase separation in semidilute biopolymer mixtures. To this end, we determined the phase diagrams and ESEM images of aqueous semidilute and weakly structured casein-alginate-dextran sulfate (DS) systems in the presence of several charged micro particles with a diameter less, higher, and comparable with the size of the complex casein-DS network holes (2-3 μm). We demonstrated ¹ that 3 μm particles (both negatively and positively charged) help to enhance phase separation, and increase the viscoelastic properties of the emulsion, whereas the larger particles affect oppositely, and nanoparticles (210 nm and 910 nm in diameter) do not affect appreciably the phase separation and rheology. Experimental observations suggest that the dominant mechanism responsible for decreased thermodynamic compatibility in such system is build in of 3 μm particles into the holes (2-3 μm in diameter) of the complex network of and reinforcement of this network. Decrease in compatibility and increase in viscoelasticity are more pronounced by using highly charged hydrophobic latex. Hence, optimizing the sizes and degree of hydrophobicity of particles will be possible the affect on the phase separation of biopolymer systems.

¹Y.A.Antonov,P. Moldenaers. Particle-destabilized semidilute biopolymer mixtures. *Soft Matter*, 2011 (accepted, in press).

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ ОРГАНИЗАЦИИ ГЕНОМА В НАНОМЕТРОВОМ МАСШТАБЕ

Глазко В.И.

*Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева,
Москва, 127550, Тимирязевская ул., 49*

Развитие методов нанобиотехнологий – работ с последовательностями ДНК в нанометровом масштабе – позволили появиться новым направлениям, и новому взгляду на организацию генома. Геномика в наномасштабе – метод сбора данных об организации геномов. Накоплены данные о сетевых взаимоотношениях между генами, лежащими в основе формирования фенотипических признаков. Показано, что полиморфизм разных генов «регулога» может оказывать одинаковое влияние на фенотипический признак, то есть, мишенью действия отбора могут быть разные гены одной и той же генной сети. Недавно обнаружена фрактальная организация генома - образование регулярных глобулярных структур отдельными компартментами первичной последовательности. Можно ожидать, что определенный вклад в такую организацию вносят простые инвертированные повторы. Исследования распределения таких повторов позволяют оценивать особенности позиционирования нуклеотидных последовательностей, способных к участию в формировании вторичных структур ДНК, необходимых, в частности, для опознавания регуляторных сигналов.

Структурно-функциональные характеристики инвертированных повторов, их внутригеномное позиционирование будут оказывать существенное влияние и на их полиморфизм. Для того, чтобы рассмотреть такие возможные связи, нами проведены сравнения полиморфизма ряда инвертированных повторов, диспергированных в геномах различных видов. Выполнены сравнения продуктов амплификации фрагментов ДНК, фланкированных инвертированными повторами 15-ти ди- и тринуклеотидных микросателлитов (Inter-Simple Sequence Repeats – ISSR-PCR маркеры) у domesticiрованных и близкородственных диких видов полорогих. У группы domesticiрованных видов (породы крупного рогаого скота, овец, лошадей) в спектрах продуктов амплификации статистически чаще ($P < 0,05$) встречаются короткие фрагменты ДНК длиной в 0.4-1.0 тысяч пар оснований, чем у диких (зубр, бизон, снежный баран, лошадь Пржевальского, зебра Чапмана). Относительно повышенный уровень продуктов амплификации и полиморфизма обнаружилось при применении в качестве праймера участков микросателлитов с коровыми мотивами, принадлежащими к пурин/пиримидиновым последовательностям, таким как AG, GA, GAG, CTC, а также AGC. Микросателлит с коровым мотивом AGC у крупного рогаого скота и овец распространяется по геному в связи с ретротранспозоном Bov-A2 SINE.

Выполнен анализ полиморфизма фрагментов ДНК, фланкированных терминальными участками (LTR) транспозона soi SIRE-1 (номер по каталогу AF053008) у разных пород крупного рогаого скота. В спектре продуктов амплификации воспроизводится 14 фрагментов ДНК, 11 из которых не имели индивидуальной изменчивости и наблюдались у разных пород; только 3 фрагмента ДНК отличались выраженным полиморфизмом. Для того, чтобы оценить возможность локализации в геноме крупного рогаого скота участков ДНК, гомологичных LTR транспозона soi, с использованием программы BLASn выполнен соответствующий поиск в ГенБанк секвенированных последовательностей (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Участки с частичной гомологией (11 – 23 нуклеотида) обнаруживаются в 20 из 29 аутосом крупного рогаого скота, а также в хромосомах X и Y. В экспрессирующихся последовательностях участки гомологии выявляются, в основном, в мРНК факторов регуляции транскрипции, белков - структурных элементах мембран и белков-рецепторов иммунной системы, а также в ряде микроРНК. Такой же поиск в геноме крупного рогаого скота был выполнен для фрагментов ретротранспозон-подобных элементов семейства R173, типичных для генома ржи, но показавших высокий уровень полиморфизма в наших исследованиях у сортов риса и пшеницы. Обнаружено большое количество участков с частичной гомологией к этим последовательностям, как правило, локализованных в генах семейства P450 и генах, связанных с функцией иммунной системы, а также кодирующих факторы регуляции транскрипции. Анализ накопленных данных об участии транспозирующихся элементов в эволюции сегментных дупликаций и дублицированных генов, их локализации в районы генома с активной транскрипцией, корреляции между количеством встроенных провирусных транспозирующихся элементов и устойчивостью к ретровирусным инфекциям, позволяет предполагать, что источником генетической изменчивости, обеспечивающим возможности искусственного отбора и адаптивный потенциал domesticiрованных видов, является относительно повышенный репертуар патогенов, с которыми им приходится сталкиваться в процессе колонизации новых ниш обитания, по сравнению с близкородственными дикими видами.

STRUCTURAL-FUNCTIONAL ELEMENTS OF GENOME ORGANIZATION IN NANOMETER SCALE

Glazko V. I.

*Russian State Agrarian University - MTAA,
Moscow, 127550, Timirjazevsky street, 49*

Development of nanobiotechnological methods – works with the DNA sequences in nanometer scale – allowed to appear the new directions of investigation and a new view on the genome organization. Genomics in nanoscale is the methods of data gathering about the organization of different genomes. The data about network mutual relations between the genes underlying of phenotype trait formation was accumulated. It was shown that polymorphism of different genes of «regulog» could made the identical impact on phenotype trait, that is, the different genes of the same gene network could be the target of action of selection factor. The fractal genome organization – the formation of regular globular structures by separate compartments of nucleotide sequences was found out recently. It is possible to expect that the certain contribution to such organization was brought by the simple invert repeats. Researches of distribution of such repeats allowed estimating the features of nucleotide sequence positioning, which could participate in formation of secondary DNA structures, necessary, in particular, for the identification by regulatory signals. Structural-functional characteristics of the inverted repeats, their intragenomic positioning would made essential impact on their polymorphism. To consider such possible relationship, we carried out the comparisons of polymorphism of the inverted repeat dispersion in genomes of different species. We used 15 di- and three nucleotide microsatellites as primers in polymerase chain reaction (Inter-Simple Sequence Repeats – ISSR-PCR markers) on the genome DNA of domestic and close related Ungulate species. The short DNA fragments (between 0.4-1.0 thousand base pairs) meet more often ($P < 0,05$) in spectra of amplification of DNA fragments, flanking by invert repeats of microsatellites, in genomes of domestic species (breeds of cattle, sheep, horses), than in wild ones (Bison bison, Bison bonasus, Ovis canadensis, Przhevalsky horse, zebra of Chapman and some other). The high levels of amplification products and polymorphism were found out in spectra of primers with core motives belonging to purine /pyrimidine tracks, such as AG, GA, GAG, CTC, and also AGC. The microsatellite with core motive AGC in genomes of cattle and sheep extended in connection with retrotransposon Bov-A2.

The analysis of polymorphism of DNA fragments, flanking by terminal sequences (LTR) of soya transposon SIRE-1 (catalog number - AF053008) in genomes of different cattle breeds was carried out. 14 fragments of DNA in spectrums of amplification products were obtained, 11 from which had no individual variability and were observed in spectra of different breeds; polymorphism was revealed only in 3 DNA fragments. To estimate the possible genome localization of DNA sequences, homologous in cattle genome to LTR soya transposon, with use of BLASn program the corresponding search in GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) was executed. Sites with a partial homology (11 – 23 nucleotides) were found out in 20 of 29 autosomes of cattle, and also in chromosomes X and Y. The homologous sequences in expressive ones were revealed more frequently in mRNA of factors of regulation transcription, protein genes - structural elements of plasma membranes and protein - receptors of immune system, and also in a number of microRNA. The same search was carried out in cattle genome for the fragments of retrotransposon-like elements of family R173 typical for rye genome, but shown the high level of polymorphism in our researches of rice and wheat varieties. A considerable quantity of sites with the partial homology to these sequences, as a rule, localized in genes of family P450 and the genes connected with function of immune system, and also coding factors of transcription regulation was revealed. The analysis of the accumulated data about participation of transposed elements in evolution of segment duplications and duplicated genes, their localization in genome areas with an active transcription, correlations between quantity of the genome insertion of provirus transposed elements and resistance to retrovirus infections, allowed to assume that

the source of genetic variability in domestic species underlying to their possibilities to answer on artificial selection and to their adaptive potential, related with very wide pathogen repertoire which they met in the colonization ways of new niches in comparison with closely related wild species.

МОНИТОРИНГ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ЕДИНИЧНЫХ МОЛЕКУЛ ФЕРМЕНТОВ С ПОМОЩЬЮ АСМ

Иванов Ю.Д., Бухарина Н.С., Арчаков А.И.

Институт биомедицинской химии РАН

119121, Россия, Москва, ул. Погодинская, 10

АСМ-технология была использована для измерения активности единичных молекул цитохрома P450 BM3 и пероксидазы хрена. Обнаружено, что амплитуда колебания белковой глобулы единичных молекул ферментов как цитохрома P450 BM3, так и пероксидазы хрена, осуществляющих каталитический цикл, больше в 2 раза, чем амплитуда колебания тех же самых ферментов в неактивном состоянии. Было получено, что амплитуда колебания белковой глобулы цитохрома P450 BM3 зависит от температуры, причем максимум этой зависимости наблюдается при температуре 22°C. Была рассчитана активность единичной молекулы цитохрома P450 BM3 в единицах амплитуды колебания белковой глобулы, приведенной к единице времени, которая составляла $5 \pm 2 \text{ \AA/s}$.

Таким образом, из полученных данных делается вывод, что мерой каталитической активности фермента может быть амплитуда колебания белковой глобулы.

MONITORING OF THE SINGLE-MOLECULE ENZYME FUNCTIONING USING AFM

Ivanov Yu.D., Bukharina N.S., Archakov A.I.

Institute of Biomedical Chemistry of Russian Academy of Medical Sciences

119121, Russia, Moscow, Pogodinskaya St., 10

AFM was used to measure the single-molecule activity of such enzymes as cytochrome P450 BM3 and horseradish peroxidase. It was found that the height fluctuation amplitude of single-globule of enzymes cytochrome P450 BM3 and horseradish peroxidase during catalytic cycle is the double of the height fluctuation amplitude of these enzymes without substrates. It was obtained that the height fluctuation amplitude of single-globule of cytochrome P450 BM3 depends on temperature, and 22°C is a peak of this temperature profile. Activity of the single-molecule enzyme cytochrome P450 BM3 was calculated in terms of enzyme globule fluctuations in unit time, which was $5 \pm 2 \text{ \AA/s}$.

Therefore, from obtained results conclusion was made, that a measure of enzyme catalytic activity could be an amplitude of enzyme globule fluctuations.

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ НАНОЭМУЛЬСИЙ И МИЦЕЛЛЯРНЫХ РАСТВОРОВ В БИОТЕХНОЛОГИИ

Оксинойд О.Э.¹, Рылеев С.В.¹, Каплун А.П.², Швец В.И.²

¹ ЗАО «Лаборатория Низар»

² Московская государственная академия тонкой химической технологии им.

М. В. Ломоносова,

Москва, 119571, Московская государственная академия тонкой химической технологии им. М. В. Ломоносова

Рассмотрены различные аспекты получения наноэмульсий и мицеллярных растворов, исследованы их свойства как наносистем. Получены эмульсии кремнийорганических соединений типа вода/масло и масло/вода, содержащие различные биологически активные вещества, оценена их стабильность и некоторые биологические свойства. С помощью различных поверхностно-активных веществ получен большой ряд мицеллярных растворов гидрофобных веществ (масла, жирорастворимые витамины, лекарственные субстанции и т.д.), пригодных для использования во всех областях, связанных со здоровьем человека.

CURRENT STATE AND APPLICATION PROSPECTS OF NANOEMULSIONS AND MICELLAR SOLUTIONS IN BIOTECHNOLOGY

Oxinoid O. E.¹, Ryleev S.V.¹, Kaplun A.P.², Shvets V. I.²

¹ Joint-Stock Company "Laboratory Nizar"

² M.V.Lomonosov Moscow State Academy of Fine Chemical Technology

Moscow, 119571, M.V.Lomonosov Moscow State Academy of Fine Chemical Technology

Various aspects of obtaining of nanoemulsions and micellar solutions are considered, their properties as nanosystems are investigated. Emulsions of organosilicon compounds of type water/oil and oil/water containing various biologically active substances are obtained, their stability and some biological properties is estimated. By means of various surface-active substances the big number of micellar solutions of hydrophobic substances (oil, fat-soluble vitamins, medicinal substances etc.), suitable for use in all areas of health of the person is obtained.

ПОЛУЧЕНИЕ КОМПЛЕКСНОГО ПРЕПАРАТА ЛИПОСОМ

Краснопольский Ю.М.¹, Григорьева А.С.², Конахович Н.Ф.², Степанов А.Е.³, Швец В.И.³

¹ НТУ «ХПИ»,

² Ин-тут фармакологии и токсикологии АМН Украины,

³ МГА Тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова

Многие лекарственные средства плохо проникают в глазную ткань, и при этом время их воздействия крайне ограничено. В то же время исследования последних лет показали, что наночастицы, такие как липосомы (Лс) увеличивают время удержания лекарственного препарата на роговице. Лс могут служить эффективной системой доставки лекарств в офтальмологии для

липофильных препаратов.

Нами предложен препарат Липофлавон – Лс-форма биофлавоноида кверцетина (Кв). В состав препарата входят: фосфатидилхолин (ФХ), Кв и лактоза. Липофлавон в виде глазных капель применяется при поражении роговицы; кератитах различного генеза; воспалительных состояниях глаз. Действие препарата основано на противовоспалительных, ранозаживляющих, ангиопротекторных эффектах Кв в Лс-форме. По нашему мнению, несомненный интерес представляет Цитохром С (ЦС), нашедший широкое применение при дистрофии роговицы и помутнении роговицы, кератитах, оказывая антигипоксическое и трофическое действие, стимулируя процессы регенерации и являясь катализатором клеточного дыхания. Целью настоящей работы явилось создание комплексного Лс-препарата, содержащего в липидном слое Кв и внутренней полости Лс – фермент ЦС.

Лс, содержащие Кв и ЦС получали по разработанной нами схеме: 1. Получение субстанции липидов (содержание ФХ не менее 95%; индекс окисленности не более 0,3); 2. Получение субстанций: Кв (содержание - не менее 98 %) и ЦС (содержание – не менее 99,0% ($D_{v_{550}}/D_{o_{280}} \geq 1,3$; $D_{v_{550}}/D_{o_{520}} \geq 2,0$; $D_{v_{550}}/D_{o_{550}} \geq 3,4$); 3. Получение стерильных растворов субстанций в водном (ЦС) и органическом (Кв) растворителе; 4. Получение пленки липидов с гидрофобным компонентом и её гидратация; 5. Образование Лс и включение в них лекарственного средства (изучено: оптимальные соотношения между фосфолипидами и исследуемыми субстанциями, технологические параметры получения, размер частиц до лиофилизации 90-120 нм); 6. Отделение не включенной активной субстанции (гель - и ультрафильтрация, осветляющая фильтрация); 7. Стерилизующая фильтрация. 8. Лиофилизация (изучено: оптимальные режимы сублимации и содержание криопротектора); 9. Контроль готового препарата, изучение стабильности и режима хранения Лс.

Характеристика продукта: pH 5,6 – 7,2; стерилен; воды не более 4,5 %; осмоляльность около 350 мосмоль/кг; включение в Лс: не менее 80 % ЦС, 95-98 % Кв. Полученный препарат (в зависимости от состава) содержал Кв от 0,3 до 1,2 мг/мл, ЦС от 0,3 до 1,2 мг/мл, фосфолипидов от 20 до 100 мг/мл; доказана сохранность размеров Лс в нанодиапазоне после лиофилизации (120-150 нм). Изучена токсичность образцов Лс и условия регидратации Лс-препарата.

В результате проведенных исследований предложена технология получения комплексного Лс препарата, содержащего Кв и ЦС для применения в офтальмологии и изучены его свойства.

MANUFACTURE OF A COMPLEX LIPOSOME PREPARATION

Krasnopolsky Yu.M.¹, Griygorieva A.S.², Konakhovich N.F.², Stepanov A.E.³, Shvets V.I.³

¹National Technical University "Kharkov Polytechnic Institute;

²Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Medical Science of Ukraine;

³M.V. Lomonosov Moscow State Academy of Fine Chemical Technologies, Russia

Many drugs poorly penetrate into ocular tissues, and their effect is extremely time-limited. At the same time recent research has shown that nanoparticles, such as liposomes (Ls), increase drug retention time on cornea. Ls may serve as an efficient ophthalmological drug delivery system for lipophilic preparations.

We proposed Lipoflavone – an Ls form of bioflavonoid quercetine (Q). The preparation comprises phosphatidylcholine (PC), Qu and lactose. Lipoflavone in the form of eye drops is used in treatment of cornea lesions, keratitis of various geneses, inflammatory eye conditions. Its action is based in Qe anti-inflammatory, wound-healing, angioprotective properties in Ls form. We suppose that obvious interest lies in Cytochrome C (CC) that is widely used to treat cornea dystrophia and cornea dimming, keratitis, due to its angiohypoxical and trophic action, by stimulating regeneration process and catalyzing cell respiration. The aim of the present work was development of a complex Ls

preparation comprising Q in lipid phase and CC enzyme in internal cavity of Ls.

Ls with Q and CC content was obtained by our developed scheme: 1. Obtaining of Ls substance (PC content min. 95%; oxidation index max. 0,3); 2. Preparation of substances: Q (min. content 98%) and CC (min. content 99,0% ($D_{B550}/D_{O280} \geq 1,3$; $D_{B550}/D_{O520} \geq 2,0$; $D_{B550}/D_{O550} \geq 3,4$); 3. Obtaining of sterile solutions of substances in an aqueous (CC) and organic (Q) solvents; 4. Obtaining of a lipid film with a hydrophobic component and its hydration; 5. Formation of Ls and inclusion of drug therein (studied: optimal relations between phospholipids and substances under study, manufacturing process parameters, particle size before lyophilization 90-120 nm); 6. Separation of non-included active substance (gel and ultrafiltration, clarifying filtration); 7. Sterilizing filtration; 8. Lyophilization and sealing of preparation (determined: contents of cryoprotector and sublimation mode); 9. Control of ready preparation, study of Ls stability and storage prescription.

Product characteristic: pH 5,6-7,2; sterile; water max. 4,5%; osmolality circa 350 osmol/kg; included into Ls: min. 80% CC, 95-98% Q. The obtained preparation comprised Q between 0,3 and 1,2 mg/mL, CC 0,3 to 1,2 mg/mL, phospholipids 20 to 100 mg/mL; Ls size in nanorange is proven to preserve after lyophilization (120-150 nm). Toxicity and rehydration conditions of Ls preparation were studied.

As a result of performed research we proposed manufacturing process for Ls preparation comprising Q and CC, for application in ophthalmology in the form of eye drops and studied its properties.

ПОСТЕРЫ И ПУБЛИКАЦИИ POSTERS AND PUBLICATIONS

СИНТЕЗ АНАЛОГОВ ИНОЗИТСОДЕРЖАЩИХ ФОСФОЛИПИДОВ И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ЛИПОСОМАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Баранова Е. О., Шастина Н. С.

*Московская Государственная Академия Тонкой Химической Технологии им.
М.В. Ломоносова, 119571, Москва, просп. Вернадского, 86*

Все увеличивающаяся потребность в фосфолипидах отчасти обуславливается их использованием в липосомах, которые применяются в качестве носителей активных терапевтических агентов: ферментов, антибиотиков, антигенов, гормонов и противоопухолевых препаратов. Интерес к синтезу аналогов природных липидов данного класса обуславливается гетерогенностью жирнокислотных цепей, входящих в состав таких соединений, выделяемых из биологического материала, что усложняет задачу создания на их основе фармакологических препаратов. Такие аналоги способны модифицировать свойства модельных мембран и использоваться для разработки липосомальных средств доставки лекарственных веществ, что может приводить к уменьшению токсичности и повышению терапевтической эффективности этих препаратов.

Инозитсодержащие фосфолипиды, широко распространенные в природе, могут участвовать в метаболических процессах, связываться с лекарственными препаратами и проявлять антигенные свойства, что делает их перспективными соединениями для получения смешанных липосом. Поэтому нами был осуществлен синтез димерных аналогов этих анионных фосфолипидов, состоящих из двух колец мио-инозита, соединенных алкил- или арилзамещенным альдитным спейсером посредством фосфодиэфирных связей, с использованием Н-фосфонатного подхода. Исследуется возможность их использования для создания липидных наноразмерных систем доставки лекарственных препаратов, имеющих положительный заряд.

THE SYNTHESIS OF INOSITOL CONTAINING PHOSPHOLIPIDS DIMER ANALOGUES AND ITS USAGE FOR PREPARATION OF LIPOSOMAL FORMULATION

Baranova E.O., Shastina N.S.

*Lomonosov State Academy of Fine Chemical Technology,
Pr. Vernadskogo 86, Moscow, 119571 Russia*

Permanently increasing need in phospholipids is partly due to their application in the liposomes, which can be useful carriers of active therapeutical agents, enzymes, antibiotics, antigens, hormones, and anticancer drugs. The interest to the synthesis of given class lipids analogues arises from the heterogeneity in fatty acid composition of these compounds obtained from biological material. This disadvantage complicates their employment in the drug preparation. Such analogues are able to modify model membrane properties and may be applied for development of the liposomal drug delivery that may lead to a decrease in toxicity and an increase in their therapeutic efficacy.

Widely spread in nature inositol containing phospholipids can take part in the metabolic processes, bind with the drugs and reveal antigenic properties so they are promising compounds for preparing mixed liposomes. Therefore by H-phosphonate method we synthesized such anionic phospholipid dimer analogs, which consist of two *myo*-inositol rings linked with alkyl or aryl aldites via phosphordiester bonds. The possibility of their using for creating lipidic nanosized transport systems of positively charged drugs is studying.

КОМПЛЕКС ISSR-PCR МАРКЕРОВ, ДИФФЕРЕНЦИРУЮЩИХ ПОРОДЫ ЛОШАДЕЙ

Бардуков Н. В., Эркенов Т.А., Глазко В.И.

*Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева,
Москва, 127550, Тимирязевская ул., 49*

Геномное сканирование с использованием метода ISSR-PCR (Inter-Simple Sequence Repeat) позволяет получать полилокусные спектры продуктов амплификации (ампликонов) фрагментов ДНК разной длины, фланкированных инвертированными повторами микросателлитов. Такие спектры могут быть основой для поисков породоспецифичных маркеров полиморфизма геномной ДНК, в частности, у разных пород лошадей. В целях выяснения такой возможности в настоящей работе выполнена сравнительная оценка полиморфизма ISSR-PCR маркёров, полученных при использовании в качестве праймеров в PCR четырех фрагментов ди- и тринуклеотидных микросателлитов у 4-х групп спортивных рысистых лошадей (русские рысаки, американские рысаки, орловские рысаки, помеси, полученные от скрещивания русских и американских рысаков) и 2 групп лошадей алтайской породы, содержащихся в разных хозяйствах. Суммарно выявлено 48 ампликонов. По методу Нея (Nei 1972, 1978) оценены генетические расстояния и построена дендрограмма генетических взаимоотношений. Уровень гетерозиготности у обеих групп аборигенной алтайской породы оказался выше, чем у всех групп рысаков (0,329 против 0,264), породоспецифические отличия алтайских лошадей от представителей рысистых пород выявляются по спектрам ампликонов всех праймеров, но наиболее выраженные отличия обнаруживались в спектрах тринуклеотидных праймеров (GAG)₆C и (CTC)₆C. На дендрограмме обе группы алтайских лошадей оказались в отдельном кластере, что соответствует истории их происхождения. Кластеризация групп рысаков также полностью соответствовала истории выведения этих пород: все рысаки образуют общий кластер, в котором выделяются подкластеры, объединяющие группу

помесей между русскими и американскими рысаками и американским рысаком, затем с русским рысаком и, наконец, с орловским рысаком. Обнаружены породоспецифичные сочетания ампликонов, дифференцирующих генофонды исследованных пород.

COMPLEX ISSR-PCR MARKERS DIFFERENTIATING OF GENE POOLS OF HORSE BREEDS

Bardukov N. V, Erkenov T.A., Glazko V. I.

*Russian State Agrarian University - MTAA,
Moscow, 127550, Timirjazevsky street, 49*

Genomic scanning with use of ISSR-PCR method (Inter-Simple Sequence Repeat) allows to receive multiloci spectra of amplification products (amplicons) of different length fragments of DNA, flanking by the inverted repeats of microsatellites. Such spectra can be the basis for searches of breed specific markers of polymorphism in genomic DNA, in particular, in different horse breeds. With a view of finding-out of such possibility in the present work the comparative analysis of ISSR-PCR marker polymorphism received with the use as primers in PCR of four fragments of di- and threenucleotide microsatellites in 4 groups of sports horse breeds (Russian trotters, American trotters, Oryol trotters and crosses between Russian and American trotters) and 2 horse groups of Altay breed, containing in different farms was carried out. In result, 48 amplicons were revealed. Genetic distances (Nei 1972, 1978) were estimated and the dendrogramm was constructed which reflected the genetic mutual relations between horse groups. Level of heterozygosity in both groups of native Altay breed had appeared above, than in all groups of trotters (0,329 against 0,264), breed specific differences of the Altay horses from trotter breeds were revealed in amplicon spectra of all primers, but the most expressed differences were found out in spectra of threenucleotide primers (GAG)₆C and (CTC)₆C. Both groups of the Altay horses formed the separate cluster on the dendrogramm that corresponded to history of their origin. Group clustering of trotters also completely corresponded to history of these breed breeding: all trotters formed the general cluster, which divided to subclusters, uniting group of crosses between Russian and American trotters and the American trotter breed, then with Russian trotter and, at last, with the Oryol trotter. It was found out the breed specific combinations of DNA amplicons, differentiating of gene pools in investigated breeds.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА С МОЛЕКУЛАМИ ГЛЮТАТИОНА

Болтовец П.Н., Кравченко С.А., Снопко Б.А.

*Институт физики полупроводников им.В.Е.Лашкарева НАН Украины
Проспект Науки, 41, Киев, Украина 03028*

Изучение взаимодействий между биологически значимыми молекулами и наночастицами привлекает возрастающий интерес в связи с их применением в сенсорах, биосенсорах и биомедицинской диагностики. Одной из таких биологических молекул, играющей ключевую роль в функционировании живой клетки, является глутатион. Большинство работ в этом направлении связано с изучением взаимодействия молекул глутатиона с наночастицами золота, в то время, как взаимодействие глутатиона с наночастицами серебра изучено недостаточно. В эксперименте были использованы 5мМ раствор наночастиц серебра в этиленгликоле и глутатион концентрации

0,02-20мМ в карбонатном буфере (рН10,2). Спектрофотометрические исследования показывают наличие четкого пика на длине волны 405 нм, соответствующего наночастицам серебра, во всех исследуемых смесях спустя 10 минут после начала эксперимента. Более интересным представляется тот факт, что уже в это время в смеси с максимальной концентрацией глутатиона наблюдается изменение формы кривой в длинноволновой области, позволяющее сделать предположение о наличии кластеров наночастиц. Через час после начала эксперимента характерные изменения формы кривой в длинноволновой области наблюдаются уже для всех исследуемых образцов, при этом степень выраженности данного признака четко зависит от концентрации глутатиона в растворе. Интенсивность же основного пика закономерным образом уменьшается при увеличении количества кластеров. В дальнейшем происходит разрушение образовавшихся кластеров с образованием нерастворимого осадка, о чем позволяет судить сглаживание кривой на более поздних стадиях эксперимента. Полученные результаты подтверждены методом туннельной электронной микроскопии. Таким образом, результаты экспериментов позволяют сделать вывод о том, что при взаимодействии глутатиона с наночастицами серебра образуются кластеры наночастиц, которые затем разрушаются с образованием нерастворимого осадка.

INTERACTION OF ARGENTUM NANOPARTICLES WITH GLUTATHIONE MOLECULES

Boltovets P.N., Kravchenko S.A., Snopok B.A.

Institute of Semiconductor Physics, National Academy of Sciences of Ukraine

41 Prospect Nauki, 03028 Kyiv, Ukraine

Investigation of the interactions between biologically important molecules and nanoparticles attract increasing interest due to their application in sensors, biosensors and biomedical diagnostics. One of such biological molecules playing important role in functioning of the living cell is glutathione. Majority of works in this area is connected with the study of the interaction of the glutathione molecules with gold nanoparticles, whereas the interaction of the glutathione with argentum nanoparticles is not enough explored. 5mM solution of Ag nanoparticles in ethylene glycol and 0.02-20mM glutathione in carbonate buffer (pH10.2) were used in the experiment. Spectrophotometric investigations show the presence of the clear peak at 405 nm, which corresponds to Ag nanoparticles in all the mixes under investigation 10 minutes after the start of the experiment. More interesting seems the fact that in the same time in the mix with the maximal concentration of the glutathione one can see the change of the shape of the curve in the long-wavelength area, which allows to make a conclusion about the presence of the nanoparticle clusters. An hour after the start of the experiment the characteristic changes of the shape of the curve in the long-wavelength can be observed for all the samples under consideration, the level of the evidence of this feature depends clearly on the glutathione concentration in the solution. Intensity of the main peak appropriately decreases with the increase of the number of clusters. In the sequel the destruction of the formed clusters with the formation of the insoluble precipitate occurs, which confirms by the smoothing of the curve at the last stages of the experiment. Results are confirmed by TEM. Thereby the results of the experiment allows to make a conclusion about the formation of the clusters during the interaction between glutathione and Ag nanoparticles and their destruction with the formation of the insoluble precipitate.

СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ НОВЫХ ЛИПОФИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 2',3'-ДИДЕГИДРО-3'-ДЕЗОКСИТИМИДИНА ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЕГО ПЕРОРАЛЬНОЙ БИОДОСТУПНОСТИ

Дьякова Л.Н., Шастина Н. С.

Московская Государственная Академия Тонкой Химической Технологии им. М.В. Ломоносова, 119571, Москва, просп. Вернадского, 86

2',3'-Дидегидро-3'-дезокситимидин (d4T) – один из нуклеозидных аналогов, применяемых в сочетании с другими препаратами в антиретровирусной терапии СПИДа. Его активный трифосфатный метаболит ингибирует действие вирусной обратной транскриптазы, таким образом, терминируя элонгацию провирусной ДНК. Несмотря на положительный клинический эффект, d4T обладает существенными недостатками: деградацией в кислой среде желудка, первичным метаболизмом в печени, токсичностью, а также из-за своей гидрофильной природы слабым всасыванием в кишечнике и, следовательно, низкой пероральной биодоступностью.

На сегодняшний день существует несколько стратегий повышения пероральной биодоступности ингибиторов обратной транскриптазы вируса: использование мукоадгезивных наночастиц, пептидных транспортеров, ингибирование метаболизма лекарственных веществ в клетках и увеличение липофильности терапевтических агентов.

Повышение липофильности d4T с помощью создания его конъюгатов с производными 1,3-диглицеридов может улучшить его терапевтическую эффективность и снизить побочные эффекты препарата за счет биоимитации метаболизма природных липидов. При использовании модифицированных полиолов в качестве гидрофобного транспортного фрагмента есть возможность включения нескольких остатков терапевтического вещества в структуру пролекарственного соединения, что приведет к увеличению внутриклеточной концентрации и снижению дозы применяемого для лечения препарата.

В работе были разработаны синтезы новых глицеролипидных производных d4T и изучена их чувствительность к химическому и ферментативному гидролизу в условиях *in vitro*.

SYNTHESIS AND PROPERTIES STUDING OF NOVEL LIPOPHILIC DERIVATIVES OF 2',3'-DIDEHYDRO-3'-DEOXYTHYMIDINE FOR IMPROVEMENT ITS ORAL BIOAVAILABILITY

D'yakova L.N., Shastina N.S.

Lomonosov State Academy of Fine Chemical Technology, Pr. Vernadskogo 86, Moscow, 119571 Russia

2',3'-Didehydro-3'-deoxythymidine (d4T) is one of the nucleoside analogues used in combination with other antiviral agents in aids therapy. Its active triphosphate metabolite acts as inhibitor of the viral reverse transcriptase thus terminating *proviral* DNA elongation. Nonetheless positive clinical effect, d4T possesses essential disadvantages: degradation in the acidic medium of the stomach, first-pass hepatic metabolism, toxicity and also due to its hydrophilic nature suffers from the low intestinal permeability and hence poor oral bioavailability.

Nowadays there are some strategies to increase the oral bioavailability of the viral reverse transcriptase inhibitors: application of the mucoadhesive nanoparticles, peptide transporters, inhibition of the cellular drug metabolism and inhancing lipophilicity of therapeutic agents.

Inhancing d4T lipophilicity by development its conjugates with 1,3-diglyceride derivatives may

increase its therapeutic efficiency and reduce adverse drug effects account for natural lipid metabolism biomimetism approach. To use modified polyols as transport hydrophobic fragment one can include several drug residues to the structure of prodrug thus increase intracellular concentration of the substance and lower used treatment drug dose.

In this study the synthesis of novel d4T glycerolipidic derivatives was accomplished and their sensitivity to the chemical and enzymatic hydrolysis *in vitro* was determined.

РОЛЬ БРАССИНОСТЕРОИДОВ КАК ВОЗМОЖНЫХ НАНОРЕГУЛЯТОРОВ БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ

Егоров М.А.

Астраханский государственный университет

414056, г. Астрахань, ул. Татищева 20а

Роль нанотехнологии в биологии за последнее десятилетие существенно возросла. Нанобиотехнология стала самостоятельным междисциплинарным направлением. Прогнозируемый срок широкой реализации современных исследований - середина XXI века. Чрезвычайно высокая биологическая активность фитогормонов брассиностероидов привлекла к ним в настоящее время внимание ученых, занимающихся синтезом и выделением природных соединений, изучением их биологических свойств, разработкой новых препаратов для нужд сельского хозяйства. Действующими являются низкие концентрации фитогормонов (до 10^{-11} М), при этом фитогормоны вызывают различные физиологические и морфологические изменения в чувствительных к их действию клетках, системах в организме. В 1970 году появились первые сообщения о выделении из пыльцы рапса и ольхи липидной фракции, обладающей ярко выраженной росторегулирующей способностью. Активные компоненты этой фракции были названы брассинами (Khripach, Zhabinski, Malevannaya, 1997). Установление структуры фитостероида брассинолида с использованием спектральных методов и рентгеноструктурного анализа показало, что он относится к классу стероидов и имеет уникальную для этого ряда лактонную структуру цикла В, характеризуется транс-АВ-сочленением, наличием боковой цепи с 22R, 23K-диольной группировкой, а также α -цис-диольной группировкой в цикле А. Структура стерана, сложившаяся, на самых ранних этапах естественного отбора организмов, является стерически «удобным» биоорганическим каркасом для расположения на нем различных функциональных групп и радикалов, определенное сочетание и топография которых обуславливает формирование большого числа соединений с разнообразной, в частности, гормональной активностью различного типа. Брассиностероиды близки по своей структуре к стероидным гормонам животных, специфически влияют на проницаемость мембран клеток, через систему аденилатциклазы на активность определенных ферментов, регулирующих обмен веществ и функции клеток, и непосредственно на функции генома клеток (Егоров, 2007). Локализуясь в ростовой части молодых побегов большинства растений и пыльце брассиностероиды проникают в организм беспозвоночных и позвоночных животных, вызывая, различные видоспецифичные и общие протектирующие эффекты. Препараты на основе брассиностероидов обладают широким спектром стимуляторного и защитного действия, что приводит к увеличению урожайности и повышению качества сельскохозяйственной продукции. Эти эффекты достигаются путем инициирования серии биохимических превращений, таких как активация или подавление ключевых ферментативных реакций, стимулирование синтеза белка, активация фотосинтеза и др. (Малеванная, 2007). Выявленные нами за эффекты на животных, растительных организмах и микроорганизмах позволяют оценивать действие брассиностероидов как веществ, усиливающих антиоксидантные процессы в организмах разного уровня филогенеза (Егоров, 2007; Egorov, 2009).

THE ROLE OF BRASSINOSTEROIDS AS POSSIBLE NANOREGULATORS OF BIOLOGICAL SYSTEMS

M. A. Egorov

Astrakhan State University

20a Tatishchev Street Astrakhan 414056

The role of nanotechnology has significantly grown during the recent decade. Nanobiotechnology has become an independent interdisciplinary direction. Anticipated time of wide implementation of modern researches is the middle of the 21st century. Currently the brassinosteroid plant hormones has attracted attention of the scientists, who are engaged in the synthesis and extraction of natural compounds, studies of their biological properties, development of new specimens for agricultural needs, due to their extremely high biological activity. Low concentrations (lower than 10^{-11} M) of plant hormones are active, with plant hormones causing various physiological and morphological changes in the cells and systems of the organism which are sensitive to their influence. In 1970 first reports of extracting lipid fraction from the pollen of rapeseed and alder appeared; the extracted fraction possessed marked growth-regulating abilities. Active components of this fraction were called brassinosteroids (Khripach, Zhabinski, Malevannaya, 1997). The structure of brassinolide plant steroid was defined employing spectral methods and X-ray crystallographic analysis. As per the results brassinolide plant steroid belongs to the class of steroids and has a unique lactone B cycle structure, characterized by trans-AB-articulation with 22R lateral chain, 23K diol groups as well as α -cis-diol group in A cycle. The structure of sterane was formed on the early stages of natural selection of the organisms. In the steroid aspect this structure is a “comfortable” bioorganic frame for arranging different functional groups and radicals. Definite combination and topography of these groups and radicals determines the formation of a great number of compounds with various, especially, hormone activity of different types. As per their structure brassinosteroids are close to steroid hormones of animals, they have specific influence on the cell membrane permeability, due to the system of adenylate cyclasa they have impact on the activity of definite enzymes (biocatalysts, ferments), regulating the metabolic process and functions of the cells, and directly on the functions of the cells genome (Egorov, 2007). Concentrated in the growth segments of browses and pollen, brassinosteriods penetrate the organisms of invertebrates and vertebrals, causing different specific and general protective effects. Preparations on the basis of brassinosteroids possess a wide range of stimulatory and protective properties and thus increase the yield and quality of the agricultural products. These effects are accomplished by initiating a sequence of biochemical transformations, such as activation and suppression of key enzymatic reactions, stimulation of protein synthesis, activation of photosynthesis etc. (Malevannaya, 2007). We have detected some effects of brassinosteroids on animals, plant bodies and microorganisms permitting to class their impact as substances intensifying antioxidant processes in the organisms of different level of phylogenesis (Egorov, 2007; Egorov, 2009).

РАЗРАБОТКА ИММУНОФЕРМЕНТНОГО МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФУЛЛЕРЕНА C₆₀

Федюнина Н.С., Дзантиев Б.Б.

*Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН,
119071, Москва, Ленинский проспект 33*

Фуллерены – углеродные соединения, обладающие уникальной структурой, в настоящее время широко применяются в медицине и промышленности. Поэтому первоочередной интерес представляют методы оценки содержания фуллеренов и контроля их биологического действия. Перспективным подходом для детекции фуллеренов является иммунохимический анализ, сочетающий экспрессность и высокую специфичность. Цель данной работы – разработка иммуноферментного метода определения фуллерена C₆₀ как в растворах, так и в составе биопроб. Для этого были синтезированы иммуногены – конъюгаты карбоксильного производного фуллерена C₆₀ с белками, получены 3 препарата поли- и 8 клонов моноклональных антител к фуллерену. Взаимодействие фуллерен–антитело было изучено методом поверхностного плазмонного резонанса. Полученные равновесные константы ассоциации варьировали в узком диапазоне от 1×10^7 до $6 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$. Показана возможность определения методом конкурентного иммуноферментного анализа (ИФА) конъюгатов фуллерен–белок (предел обнаружения равен 0,6 нг/мл), гидроксигированных и карбоксилированных производных фуллерена (предел обнаружения – 1 нг/мл). Впервые разработан иммуноферментный метод определения свободного фуллерена C₆₀ (предел обнаружения 2 нг/мл) и показана возможность его применения для количественного определения содержания C₆₀ в гомогенатах органов крыс, подвергшихся внутрибрюшинной и внутрижелудочной экспозиции фуллереном. C₆₀ из биопроб экстрагировали толуолом с последующим переводом фуллерен-содержащего экстракта в водно-органическую смесь. Результаты определения содержания фуллерена в тканях разработанным иммуноферментным методом хорошо коррелируют с данными ВЭЖХ. Предлагаемый метод ИФА превосходит по чувствительности и производительности традиционно используемый метод ВЭЖХ, что обуславливает перспективность его использования в практике.

Работа выполнена при поддержке Федеральной целевой программы «Развитие инфраструктуры наноиндустрии в Российской Федерации на 2008-2011 годы».

DEVELOPMENT OF IMMUNOENZYME ASSAY FOR FULLERENE C₆₀

Fedyunina N.S., Dzantiev B.B.

*Institute of Biochemistry Russian Academy of Sciences,
119071 Moscow, Leninsky prospect 33*

Fullerenes are carbon compounds with unique structure that are now widely used in medicine and industry. Therefore assessment of fullerenes' content and control of their biological effects is a task of overriding interest. Immunochemical assay is very perspective method for fullerene detection due to its rapidity and high sensitivity. The aim of this work was to develop immunoenzyme assay (ELISA) of fullerene C₆₀ both in solutions and in multicomponent biological samples. For these purposes conjugates of fullerene carboxylic derivative with proteins were synthesized by carbodiimide technique and used as immunogens. Three preparations of polyclonal antibodies and eight – of monoclonal ones were yielded, and the of antibody–fullerene interactions were studied by the method of surface plasmon resonance. The obtained association constants varied within a narrow range from 1×10^7 to $6 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$. The possibility to detect soluble fullerene derivatives by competitive ELISA technique was demonstrated. The detection

limit of C_{60} in C_{60} -protein conjugates was 0.6 ng/ml. The anti-fullerene antibodies also interacted with hydroxylated and carboxylated derivatives of fullerene C_{60} . The limit of these substances detection by the developed ELISA was 1 ng/ml. The obtained results allowed applying the ELISA for revealing native, non-modified fullerene, including analyses of multicomponent biological samples (homogenates of animal tissues). ELISA for determination of free C_{60} was firstly developed and characterized by the detection limit equal to 2 ng/ml. The possibility of quantitative C_{60} determination in homogenates of rats' organs after intraperitoneal and perorally exposition by C_{60} was demonstrated. Fullerene was extracted from the biological samples by toluene with the following transfer of the fullerene-containing extract in a selected water-organic mixture. The data about C_{60} content in different tissues obtained by ELISA measurements correlate with HPLC data. The developed ELISA technique surpasses traditionally used HPLC technique in sensitivity and productivity and therefore can be considered as a perspective approach for practical applications.

The work was supported by Federal Target Program "The development of nanoindustry infrastructure in the Russian Federation in 2008-2011"

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НАНОРАЗМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ СОРБЦИИ ИЗ РАСТВОРОВ НЕКОТОРЫХ АНТИБИОТИКОВ-ПОЛИПЕПТИДОВ

Ильина М.В.^{1,4}, Тимофеева А.В.³, Иванова В.Т.⁴, Баратова Л.А.³, Градова Н.Б.¹, Катруха Г.С.²

¹ *Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, 125047, г. Москва; Миусская площадь, д. 9;*

² *Учреждение РАМН НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе РАМН, 119021, Москва, Б. Пироговская, 11;*

³ *НИИ ФХБ им. А.Н.Белозерского, МГУ им. М.В.Ломоносова, 119991, г. Москва;*

⁴ *НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН, 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, 16*

Антибиотики-полипептиды являются важнейшей группой антибактериальных препаратов. В процессе биосинтеза штамма-продуцента антибиотики образуются в незначительных количествах и находятся в многокомпонентной смеси вторичных метаболитов и питательной среды. Выделение антибиотиков из КЖ – всегда сложная аналитическая, химическая и технологическая задача, которая требует новых подходов. Настоящая работа посвящена изучению возможности использования для сорбции антибиотиков-полипептидов из растворов новых наноразмерных материалов – углеродных нанотрубок (УНТ) и нанокомпозита – УНТ-ПАН (УНТ покрытых полианилином (ПАН)). Исследование проводили с двумя известными антибиотиками-полипептидами тейкопланином А2 (Мол. масса 1875) и грамицидином S (Мол. масса 1141). В ходе работы установлена количественная зависимость полноты сорбции антибиотиков из раствора от количества взятых в опыт сорбентов, а также от времени процесса сорбции. Количество антибиотиков в растворе определяли методом ОФ-ВЭЖХ на хроматографе «Милихром А-02» до и после сорбции. Показано, что как тейкопланин А2, так и грамицидин S полностью сорбируются из раствора на исследуемые наноматериалы в течение 1-2 часов. Установлено также, что для грамицидина S сорбционная емкость нанокомпозита УНТ-ПАН меньше, чем в случае УНТ. Это связано с уменьшением гидрофобных свойств поверхности УНТ после образования композита с полианилином.

Таким образом, показана возможность применения в первую очередь УНТ в биотехнологических стадиях сорбции антибиотиков из растворов.

Авторы приносят благодарность И.Ю. Сапуриной (ИВС РАН, Санкт-Петербург) за предоставленные образцы УНТ и УНТ-ПАН.

THE USE OF NANOSCALE MATERIALS FOR THE SORPTIONS OF POLYPEPTIDE ANTIBIOTICS FROM SOLUTIONS

Ильина М.В.^{1,4}, Тимофеева А.В.³, Иванова В.Т.⁴, Баратова Л.А.³, Градова Н.Б.¹, Катрукха Г.С.²

¹*D. I. Mendeleev University of Chemical technology of Russia,
9 Miusskaya square, Moscow 125047, Russia;*

²*G.F.Gause Institute of New Antibiotics RAMS,
Moscow 119021, Russia;*

³*A.N. Belozerskii Research Institute for Physico-Chemical Biology,
M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow 119991, Russia;*

⁴*D.I. Ivanovsky Research Institute of Virology RAMS,
Gamaleya st, 16, Moscow 123098, Russia*

Polypeptide antibiotics are the important group of antibacterial preparations. Antibiotics are formed in the process of biosynthesis by producing strain in small amount and in multicomponent mixture. Their isolation from culture broth (solutions) is always a difficult task from analytical chemical and technological point of view requiring new approaches. This work concerns with feasibility study of using new nanoscale materials – carbon nanotube (CNT) and the nanocomposite – CNTs-PAN (CNT coated with polyaniline (PAN)) for the sorption of polypeptide antibiotics from solutions. The investigation was carried out with two known antibiotics: teicoplanin A2 (mol mass 1875) and gramicidin S (mol mass 1141). The dependence of the sorption completeness on the quantity of sorbent as well as on the time of sorbent contact with antibiotic solution was determined. The quantity of antibiotics in solutions before and after sorption was measured with PR-HPLC chromatograph MiliChrome A-02. It was shown that both the teicoplanin A2 and gramicidin S are completely adsorbed on investigated materials within 1-2 hours. Also it was found that the sorption capacity of CNTs-PAN is less than that in the CNTs case. It is due to decreasing hydrophobic surface of CNTs after the formation of composite with polyaniline.

Thus, the possibility of using primarily carbon nanotubes in biotechnological stage of antibiotic isolation from solutions was shown for the first time.

The authors thank I. Y. Sapurinoy (ICS, RAS., St. Petersburg) for providing the samples of CNTs and CNTs-PAN.

УЛЬТРАТОНКИЕ ПЛЕНКИ ПОЛИАНИЛИНА – КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ НАНОМАТЕРИАЛЫ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ И СЕЛЕКТИВНЫХ БИОСЕНСОРОВ НА ВИРУСЫ ГРИППА

Исакова А.А.¹, Райтман О.А.¹, Иванов В.Ф.¹, Иванова В.Т.², Ванников А.В.¹

¹*ИФХЭ РАН, 119991, Москва, Ленинский проспект д.31, Isakova_Aleks@list.ru*

²*НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН, 123098, Москва ул. Гамалеи д.16*

Одной из актуальных проблем нанобиотехнологии и медицины является поиск новых наноматериалов для создания биодатчиков, используемых в системах экспресс-диагностики биологически активных веществ (токсинов, ферментов, белков, вирусов и т.д.). Проводящие полимеры, такие как полианилин (ПАН) и сополимеры на его основе, являются перспективными материалами для использования в биотехнологии и медицине, например, в качестве различных электродов, антиоксидантов, сорбентов, чувствительных элементов сенсоров и т.п. Это обусловлено совокупностью их физико-химических свойств, доступностью сырья, простотой синтеза,

вариативностью модифицирования различных поверхностей (напыление, темплатный синтез, электрополимеризация и т.п.), низкой токсичностью. Настоящая работа посвящена изучению возможности использования пленок ПАн для создания чувствительных элементов сенсоров для определения таких биологически релевантных объектов, как вирусы гриппа, антитела к ним, а также кДНК вирусов гриппа. Для исследования сорбции вирусов пленками ПАн применяли методы атомно-силовой микроскопии, оптической микроскопии и спектроскопии поверхностного плазмонного резонанса (ППР) в комбинации с электрохимическими методами анализа. С помощью метода ППР впервые установлено, что на ультратонких (~10-15 нм) пленках интерполимерных комплексов ПАн активно иммобилизуются кДНК вирусов гриппа, антитела к вирусам гриппа А(H1N1) и В, а также вирусы гриппа А(IV-Moscow)01/09 (H1N1)_v, А/Новая Каледония/99 (H1N1) и гриппа В без потери своей реакционной способности. Полученные результаты открывают широкие перспективы использования ультратонких пленок ПАн и его комплексов для создания биофильтров, разработки новых методических подходов для определения ДНК, а также в качестве чувствительных элементов наноразмерных сенсорных систем для селективного определения вирусов гриппа.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта МНТЦ №3718

ULTRATHIN POLYANILINE FILMS AS A PERSPECTIVE NANOMATERIAL FOR DEVELOPING OF HIGHLY SENSITIVE AND SELECTIVE BIOSENSORS FOR INFLUENZA VIRUSES

Isakova A.A.¹, Raitman O.A.¹, Ivanov V.F.¹, Ivanova V.T.², Vannikov A.V.¹

¹ *A.N. Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry of RAS, Leninskii prospect 31, Moscow, 119991, Russia*

² *D.I. Ivanovsky Research Institute of Virology of RAMS, Gamaleya st 16, Moscow, 123098, Russia*

Search of new nanomaterials for development of biosensors used in quick test systems for biologically active substance (toxins, enzymes, proteins, viruses, etc.) determination is currently of great importance in nanobiotechnology and medicine. The conductive polymers, such as polyaniline (PAn) and its copolymers, are the very perspective materials for using in biotechnology and medicine, for example as electrodes, antioxidants, sorbents, sensor elements, etc., owing to their unique physicochemical properties, availability of raw materials, ease of synthesis, variability of surface modification (sputtering, template synthesis, electropolymerization, etc.), low toxicity.

In the present work the ability to use PAn films for developing of sensors for biologically relevant object such as influenza viruses, their antibodies, and influenza virus cDNA was studied. Influenza viruses adsorption at the PAn films was investigated using Atomic Force Microscopy, Optical microscopy and Surface Plasmon Resonance (SPR) spectroscopy combined with Electrochemistry. SPR measurements ascertain for the first time that ultrathin (~10-15nm) films of interpolymer complexes based on PAn are the perfect templates for immobilization of influenza viruses cDNA, influenza viruses A(H1N1) and B antibodies, and influenza viruses A(IV-Moscow)01/09 (H1N1)_v, A/New Caledonia/99 (H1N1) and B. The retention of the ability of immobilized viruses (or antibodies) to highly selective reaction «antigen-antibody» was shown. These results open new possibilities to use ultrathin films of PAn and its copolymers for design of bio-filters, for developing of new methods for DNA determination, and as sensor elements for selective detection of influenza viruses.

This study is partially supported by ISTC (project 3718)

СОРБЦИЯ ПАНДЕМИЧЕСКИХ ВИРУСОВ ГРИППА А(H1N1)V НАНОРАЗМЕРНЫМИ АЛМАЗАМИ И ИХ КОМПЛЕКСАМИ С ПОЛИАНИЛИНОМ

Иванова М.В.¹, Исакова А.А.², Спицин Б.В.², Трушакова С.В.¹ Бурцева Е.И.¹, Иванова В.Т.¹

¹НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского Минздравсоцразвития, ул. Гамалеи, 16, г. Москва 123098, РФ;

²Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, Ленинский проспект, 31, г. Москва 119991, РФ

Наноалмазы (НА) представляют особый интерес для использования в биотехнологии и медицине. Частицы НА стабильны, способны проникать через мембраны клеток, безопасны для организма. Поверхностные атомы углерода НА имеют некомпенсированные связи, что приводит к высокой поверхностной активности и уникальной сорбционной способности. Ранее нами было показано, что вирусы гриппа, способны сорбироваться на модифицированном графите и углеродных нанотрубках. В настоящей работе исследовалось взаимодействие наноалмазов марки УДА-СП (размер частиц 4,2 нм, удельная поверхность 300 м²/г, полученных в НП ЗАО «Синта», г. Минск), наноалмазов УДА-СП модифицированных полианилином и алмазной шихты (первичного продукта детонационного синтеза) с вирусами гриппа, штамм А/Калифорния/4/09 А(H1N1)v, которые вызвали пандемию “свиного гриппа” в 2009-10гг. в мире и активно начали циркулировать в ряде регионов РФ в январе 2011г. Показано, что вирусы гриппа А(H1N1)v, выращенные на куриных эмбрионах (КЭ), способны сорбироваться на НА сорбентах из аллантоисной вирусосодержащей жидкости КЭ, падение гемагглютинирующих титров вирусов в растворах составляло 16 раз. Активность шихты была существенно меньше: падение титров вирусов составляла от 2 до 4 раз. Исследования проводились при T=22°C, контакт составлял 15 мин, концентрация сорбента -5мг/500мкл раствора. Установлено, что десорбция сорбированных вирусов в физиологический раствор в течение 48 часов не происходила. Результаты, полученные в работе, показывают, что в число углеродных материалов - сорбентов с разной структурой, способных сорбировать вирусы гриппа из растворов, входят и НА. Это позволяет рассматривать НА в качестве материала для антивирусных водных фильтров.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта МНТЦ №3718

SORPTION OF PANDEMIC INFLUENZA VIRUSES A(H1N1)V BY THE NANODIAMONDS AND IT'S COMPLEXES WITH POLYANILINE

Ivanova M.V.¹, Isakova A.A.², Spitsyn B.V.², Trushakova S.V.¹ Burtseva E.I.¹, Ivanova V.T.²

¹D.I. Ivanovsky Institute of Virology, Gamaleya st, 16, Moscow 123098, Russia;

²A.N. Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry, RAS, Leninskii prospect, 31, Moscow 119991, Russia

The nanodiamond powders (ND) are very interesting for their application in biotechnology and medicine. The nanodiamonds are stable, can penetrate through the cell membranes and have no toxicity for the cells. The surface carbon atoms of ND have some no compensated bonds, and that lead to high surface activities and unique sorption abilities. Early we have founded out that influenza viruses could be adsorbed by the modified graphite and carbon nanotubes. In this report we present the results of interaction of ND with particle size = 4,2 nm, specific surface = 300 м²/g, prepared in «Sinta» company, Minsk), ND in complex with polyaniline and the detonation soot – “shikhta” with influenza pandemic viruses A/California/4/09 (H1N1)v, which caused the pandemic of “swine influenza” in 2009-2010 in the world and

started actively circulate in some regions of Russia in January 2011. It was shown that influenza viruses A(H1N1)v, cultivated in chicken embryonic eggs are absorbed by ND sorbents from allantois liquid. The hemagglutination titer of the virus solutions decreased in 16 times. The activities of the detonation soot – “shikhta” was less: titers decreased from 2-4 times. The experiments were carried out at $T=22^{\circ}\text{C}$, contact time sorbent - viruses was 15 min, sorbent concentration - 5mg/500 μl . It was shown that virus desorption in physiologic solutions during 48 h did not observed. Therefore ND sorbents can be added to the list of carbon contained materials which can absorb the influenza viruses from water solutions. So ND powder is perspective for creation antivirus water filters.

The research was partially supported by ISTC grant 3718.

ОБНАРУЖЕНИЕ ВИРУСНЫХ ЧАСТИЦ ГЕПАТИТА С С ПОМОЩЬЮ КОМБИНИРОВАННОГО ПОДХОДА НА БАЗЕ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ И МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

Кайшева А.Л., Иванов Ю.Д., Плешакова Т.О., Арчаков А.И.

*Институт биомедицинской химии РАН,
119121 Москва, ул. Погодинская, 10*

Современная протеомика решает широкий спектр фундаментальных и прикладных задач в науке. Основным инструментом протеомных исследований является масс-спектрометрия (МС), которая позволяет проводить анализ биологических образцов с высоким быстродействием, выявлять и идентифицировать новые белки, белковые маркеры различных заболеваний в биологическом материале, что особенно важно для медицинского применения. Однако прямая масс-спектрометрическая детекция белков обладает достаточно низкой концентрационной чувствительностью.

Один из возможных подходов в решении проблемы низкой концентрационной чувствительности, используемых в протеомике, основывается на использовании высокочувствительных аналитических систем на базе счетчиков белков, таких как атомно-силовой микроскоп (АСМ).

Процедура АСМ-МС реализовывалась на базе выявления белка HCVcoreAg, являющегося маркером гепатита С. В качестве биоспецифических зондов, иммобилизованных на поверхности АСМ-чипа, использовались моноклональные антитела, способные формировать комплексы с соответствующими белковыми антигенами. На первом этапе исследования при помещении такого АСМ-чипа в раствор или биологический материал происходило вылавливание и концентрирование молекул аналита на поверхности чипа и их АСМ-регистрация, затем на втором этапе исследования проводилась МС-идентификация этих молекул.

Было показано, что разработанный метод позволяет выявлять различные белки и белковые комплексы, как в растворе, так и в образцах сыворотки крови напрямую, без использования меток и дополнительных операций по истощению сыворотки крови.

HEPATITIS C VIRAL PARTICLES DETECTION WITH COMBINED ATOMIC FORCE MICROSCOPY AND MASS SPECTROMETRY.

Kaysheva A.L., Ivanov Y.D., Pleshakova T.O., Archakov A.I.

Institute of Biomedical Chemistry RAMS, 119121 Moscow, Russia, Pogodinskaya, 10

Present-day proteomics solves a wide range of fundamental and applied scientific problems. The main approach in proteomic studies is mass spectrometry (MS), which allows one to analyze a bioassay with high-throughput, to detect and identify the new proteins, protein markers of different diseases that is significantly important for application in medicine. However, the direct mass-spectrometric protein detection has low enough concentration sensitivity. One of possible approaches to solving the problem of low concentration sensitivity is in protein counter-based highly sensitive analytical systems like atomic force microscope (AFM).

AFM-MS method reveals HCVcoreAg - the hepatitis C maker. Monoclonal antibodies (anti-HCVcore) capable of forming complexes with appropriate protein antigens were used as biospecific probes immobilized on AFM-chip. At the first stage, after incubation of AFM-chip in bioassay, the fishing and concentration of analyte molecules on a chip surface and their AFM-registration had occurred; at the second stage, MS-identification of these molecules had been performed.

It was shown that the given label-free method allows one to reveal directly various proteins and protein complexes both in solution and serum blood samples without serum depletion.

ДНК МИКРОМАТРИЦЫ В ИССЛЕДОВАНИЯХ ОРГАНОСПЕЦИФИЧНЫХ ПРОФИЛЕЙ ГЕННОЙ ЭКСПРЕССИИ У СВИНЕЙ

Хлопова Н.С., Глазко Т.Т., Глазко В.И.

Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия

За последние 10 лет ДНК микроматрицы получили широкое применение, например, при выявлении ключевых генов, изменения экспрессии которых тесно связано различными заболеваниями. Однако анализ таких данных часто затруднен в связи с наличием ряда источников ошибок. К ним относятся перекрестная гибридизация между пробами и ДНК копиями транскриптов, регуляторные влияния различных внешних факторов. Для того, что бы оценить вклад в оценки органоспецифичных профилей генной экспрессии (ПГЭ) генов, по которым обнаруживаются выраженные индивидуальные отличия, в настоящей работе выполнен сравнительный анализ ПГЭ в печени и почках свиней с учетом их индивидуальной изменчивости у разных животных. Выделены две группы генов, одна - экспрессия которых конститутивна у разных животных, вторая - количество транскриптов которых варьировало от одного животного к другому. Выявлено 24 таких вариабельных генов. Они подразделились на группы, внутри которых обнаруживаются статистически достоверные корреляции по изменчивости экспрессии. Группы генов с взаимосвязанной экспрессией принадлежали к общему метаболическому пути. Суммарно выделились 8 таких групп - 6 генов, продукты которых участвуют в формировании кровяного сгустка; 6 генов - в транспорте и метаболизме липидов; 5 генов представляют маркеры клеток крови и лизосом; продукты 3 генов участвуют в апоптозе клеток и 4 группы по 2 гена, продукты которых участвуют в транспорте Ca^{2+} , кодируют белки межклеточного матрикса, регулируются гормонами, отражают функциональную активность митохондрий. Следовательно, необходимо учитывать подразделенность ПГЭ на конститутивную и вариабельную части, поскольку регуляция их транскрипции может существенно отличаться. При сравнении ПГЭ печени свиней, опубликованного в работе Zhao et al., 2005, с полученным нами, обсуждаются возможные причины наблюдаемых частичных несовпадений органоспецифичных ПГЭ, выявляемых в разных лабораториях.

DNA MICROARRAYS IN REVEALING ORGANSPECIFIC GENE EXPRESSION PROFILES IN PIGS

Khlopova N.S., Glazko T.T., Glazko V.I.

Russian State Agrarian University – MTAA named after K.A.Timiryazev (RSAU-MTAA), Moscow, Russia

During the past ten years DNA microarrays have received wide application in molecular biology, for example, in revealing of the key genes whose expression changes are closely connected with various diseases. However the analysis of such data is often complicated over presence of some sources of errors. Among these are cross hybridization of microarray probes and copies of different DNA transcripts, regulatory influences of various external factors. In the present work the comparative analysis of gene expression profiles (GEP) with consideration of genes which showed individual differences in expression in liver and kidneys of different pigs was made for the estimation of contribution of such genes to the outcome GEP. As the result two groups of the genes were allocated. First group consisted of transcripts with constitutive expression among different animals, second group – with varied quantity of transcripts from one animal to another. 24 variable genes composed the second group. These genes were subdivided into groups, in which inner statistically significant correlations in variability of expression were revealed. As a rule, groups of genes with interconnected expression belonged to the general metabolic way. Total were allocated 8 such groups: 6 genes whose products are essential for the formation of blood clots and 6 genes – for transport and a metabolism of lipids, 5 markers of blood cells and lysosomes, 3 gene products playing key role in apoptosis and 4 groups consisting of 2 genes whose products participate in calcium ion transport, code intercellular matrix proteins, reflect functional activity of mitochondrion, genes regulated by hormones. Therefore it is really necessary to consider subdivision of GEP to constitutive and variable parts as regulation of their transcription can essentially differ. At comparison of GEP of pigs liver received in our research with the research published by Zhao et al. 2005, we discuss the possible reasons of observable partial discrepancies in organspecific GEP revealed in different laboratories.

ХАРАКТЕРИСТИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ УСТОЙЧИВОСТИ КОМПОНЕНТОВ НАНОБИОПРЕПАРАТА, СОДЕРЖАЩЕГО АНАЛОГ ИНТЕРФЕРОНА-ГАММА

Коровина О.С., Назарова А.А., Левагина Г.М., Масычева В.И.

*Институт медицинской биотехнологии ФГУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии» «Вектор» Роспотребнадзора,
633010 Новосибирская область, г. Бердск, а/я 112*

Сохранение структурно-функциональных свойств компонентов препаратов, полученных методами биотехнологии, в условиях воздействия деградирующих систем организма важно для реализации их фармакологических свойств. Особенно это актуально для многокомпонентных биофармацевтических препаратов. Поэтому исследование показателей стабильности компонентов является необходимым при разработке современных лекарственных препаратов. Во ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор» была создана молекулярная конструкция сферической формы, содержащая в центральной части двуспиральную РНК (дсРНК), покрытую оболочкой из спермидин-полиглюкина, несущей на своей поверхности - рекомбинантный аналог интерферона-гамма дельтаферон. Выбрано оптимальное соотношение основных компонентов наноконструкции, обеспечивающее специфическую противовирусную активность.

Цель данной работы заключалась в исследовании показателей сохранности свойств белкового

и нуклеотидного компонента наночастицы к температурному и ферментативному воздействию. Исследования показали, что дельтаферон в составе конструкции отличался повышенной устойчивостью к температурному воздействию при инкубации в течение суток при 37°C, по сравнению с нативным дельтафероном. Продемонстрировано также, что условия лиофильной сушки не влияют на сохранность структуры дсРНК и дельтаферона в составе молекулярной конструкции. Показано, что дельтаферон и дсРНК в составе конструкции отличались повышенной устойчивостью к действию протеаз (трипсин) и нуклеаз (рибонуклеазы E.coli), по сравнению дельтафероном и дсРНК в свободной форме. Продемонстрированная повышенная устойчивость белкового и нуклеинового компонентов разработанной конструкции может привести к повышению их эффективности.

CHARACTERIZATION OF RESISTANCE OF THE COMPONENTS OF THE NANOBIOOPREPARATION CONTAINING INTERFERON-GAMMA ANALOG

Korovina O.S., Nazarova A.A., Levagina G.M., Masysheva V.I.

*Institute of Medical Biotechnology, FSRI State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector"
Rospotrebnadzor,
633010 Novosibirsk Region, Berdsk, p/o box112*

Preservation of structural and functional properties of the components of preparations developed by biotechnological methods is important for realization of their pharmacological properties under conditions of degrading factors of human body systems. This is especially important for multicomponent biopharmaceuticals. Therefore, the study of parameters of stability of these components is necessary for developing modern drugs. A spherical molecular construct containing double-stranded RNA (dsRNA), coated with spermidine-polyglucin and carrying recombinant IFN- γ analog deltaferon on its surface was developed by the FSRI SRC VB "Vector". An optimal ratio of the main components of the nanoconstruct ensuring specific antiviral activity was chosen.

The purpose of this work was to study the resistance of protein and nucleotide acid components of the nanoparticle to temperature and enzyme effects. It was shown that deltaferon as a component of the construct was distinguished by enhanced resistance to temperature during incubation for 24 hours at 37°C as compared to native deltaferon. It was also demonstrated that the conditions of freeze drying did not affect the stability of dsRNA and deltaferon as the components of the construct. Deltaferon and dsRNA as the components of the nanoparticle were distinguished by resistance to protease (trypsin) and nucleases (E.coli ribonuclease) as compared to free deltaferon and dsRNA. The enhanced resistance of the protein and nucleic acid components of the nanoconstruct can increase their effectiveness.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ УЛЬТРАДИСПЕРСНОГО УГЛЕРОДНОГО СОРБЕНТА УДУС ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ АНТИБИОТИКОВ А-887 И А-1149 ИЗ КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ ШТАММОВ-ПРОДУЦЕНТОВ

Лапчинская О.А.¹, Тимофеева А.В.², Терехова Л.П.¹, Буравцев В.Н.³, Толстых И.В.¹, Степашкина Е.А.¹, Гладких Е.Г.¹, Галатенко О.А.¹, Баратова Л.А.², Катруха Г.С.¹

¹ Учреждение РАМН НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе РАМН, 119021, Москва, Б. Пироговская, 11; e-mail: lapchinskaya@rambler.ru

² НИИ ФХБ им. А.Н.Белозерского, МГУ им. М.В.Ломоносова, 119992, г. Москва

³ Учреждение РАН Институт химической физики им. Н.Н.Семенова РАН, ул. Косыгина, 4 г. Москва 119991, РФ

Выделение антибиотиков из культуральной жидкости (КЖ) технологически сложный, многоступенчатый процесс, поскольку в ходе микробиологического синтеза антибиотика в КЖ помимо мицелия штамма-продуцента, синтезируемого им антибиотика и компонентов питательной среды содержится огромное количество продуктов жизнедеятельности микроорганизма. В связи с этим возрастает потребность в усовершенствовании известных методов выделения антибиотиков, например, применяя новые наноразмерные материалы. В настоящей работе изучалась возможность использования для выделения антибиотиков А-887 и А-1149 из КЖ нового сорбента УДУС, представляющего собой пленочные структуры в виде стопок из 10-20 графеновых слоев толщиной 20-50 нм, который естественно рассматривать как наноматериал. Методами ТСХ и ОФ ВЭЖХ анализа на приборе «Миличром А-02» было показано, что исследуемые антибиотики способны практически полностью сорбироваться на УДУС из КЖ и затем в определенных условиях их можно десорбировать с сорбента с хорошим выходом и с минимальным включением посторонних примесей. Сравнительный анализ результатов выделения из КЖ антибиотиков А-887 и А-1149 с применением УДУС и известного полистирольного сорбента Амберлит XAD-2 показал существенные преимущества нового наноматериала УДУС, с помощью которого возможно получить антибиотики более однородными и очищенными.

ISOLATION OF ANTIBIOTICS A-887 AND A-1149 FROM STRAIN-PRODUCER CULTURAL BROTH BY ULTRADISPERS CARBON SORBENT (UDCS)

Lapchinskaya O.A.¹, Timofeeva A.V.², Terekhova L.P.¹, Buravtsev V.N.³, Tolstykh I.V.¹, Stepashkina E.A.¹, Gladkih E.G.¹, Galatenko O.A.¹, Baratova L.A.², Katrukha G.S.¹

¹The Gause Institute of New Antibiotics Russ. Akad. Med. Sci., 119021, Moscow, Russia

²The Belozerskii Research Institute for Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University, 119992, Moscow, Russia, e-mail: timofeeva@belozersky.msu.ru

³The Semenov Institute of Chemical Physics Russ. Akad. Sci., 119991, Moscow, Russia

Isolation of antibiotic from fermentation broth is complicated technological process. There are numerous biosynthetic metabolites in mixture of antibiotic, producer mycelium and rest of nutritional medium components in broth after fermentation. Necessity of isolation methods developing always exist because of practical importance of antibiotics biotechnology, but it is especially arisen in connection with nanotechnology achievements. Purpose of research was study isolation and purification procedures for two natural antibiotics by use new specific ultra-disperse carbon sorbent "UDCS". Its structure may be considered as nanomaterial because of 20-50 nm graphene layers as main units of structure. Sorbent UDCS

is composed as packets of 10-20 graphene multy-layers. Fermentation broth was got in common way by cultivating of strain producers in shaking flasks for 5-6 days. Nearly complete sorption and efficient desorption with good product recovery was measured by analytical methods TLC and chromatography with “MiliChrom A-02”. The advantage of UDSCS in comparison with polysterol Amberlite XAD-2 was shown as a result of obtaining more homogenous antibiotic substance while being more high index of purity. Thus efficient of sorbent UDSCS was demonstrated en experience for isolation and purification of such complex compounds as natural antibiotics A-887 and A-1149. Received results are evidence that new sorbent is very laborious to obtain in purified form.

ГИБРИДНЫЕ МАГНИТОУПРАВЛЯЕМЫЕ КОНСТРУКЦИИ КАК ОСНОВА СОЗДАНИЯ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНЫХ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ СИСТЕМ

Лыткина О.А., Сазонов А.Э.

ГОУ ВПО СибГМУ Росздрава ЦНИЛ,
63450 г. Томск, Московский тракт, 2

Разработка гибридных магниточувствительных нанобиоструктур, способных специфически связываться с целевыми биомолекулами, является одним из наиболее перспективных направлений в области создания **высокочувствительных и специфичных** диагностических систем [1].

Целью данной работы было исследовать функциональную активность белковых молекул иммобилизованных на поверхности наночастиц. В качестве ядра конструкции выбраны магнитные наночастицы железа, покрытые углеродом, что повышает их биологическую инертность [2]. В качестве модельных молекул использовали БСА, интерферон альфа и фермент пероксидазу хрена. Для ковалентной иммобилизации белков поверхность наночастиц модифицировали оригинальной солью диазония - 4-карбоксибензолдиазоний тозилатом, содержащей карбоксильную группу [3]. Для формирования ковалентной связи с белком использовали метод карбодиимидной активации. Полученные наногибридные конструкции осаждали на магнитном штативе и центрифугированием, и промывали (не менее 4 раз) последовательно фосфатным буфером и водой.

Формирование комплекса белок-наночастица подтверждено методом ИК-спектроскопии: в образцах появлялись характерные полосы поглощения белка в области $1600-1500\text{ см}^{-1}$. По данным спектрофотометрии установлено, что загрузка белка на частицы составляла от 0,1 до 0,4 мкмоль/г частиц. Установлено, что иммобилизованная пероксидаза частично сохраняла ферментативную активность. При анализе суспензии содержащей интерферон альфа, иммобилизованный на частицах, методом ИФА, доказана способность белка связываться с антителами. Таким образом, иммобилизация не приводит к нарушению пространственной структуры белковой молекулы.

Разработан принципиальный подход к созданию гибридных бионаноккомпозитных конструкций, включающих магнитные наночастицы ковалентно-связанные с молекулами белковой природы, что является основной предпосылкой для создания высокоэффективных магниточувствительных диагностических систем нового поколения.

Tan W. et al., Med. Res. Rev.(2004), 24(5), 621.

Ермаков А.Е. и др., Ж. Физ. хим.(2009), 83(7), 1338-1345

Постников П.С. и др., Ж. Рос. нанотех. (2010), 5(7-8), 49-51

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 09-04-99114-р_офи и Президента РФ МД-1276.2010.7.

HYBRID MAGNETIC CONSTRUCTIONS AS A BASIS FOR CREATION OF EFFECTIVE MAGNETO-SENSITIVE BIOSENSORS

Lytkina O.A., Sazonov A. E.

*Siberian State Medical University, Researcher of Central Research Laboratory,
Russia, 634050 Tomsk, Moscovski Trakt, 2*

The development of hybrid magnetic nanobiostructures, which are able to bind to target biomolecules, opens some attractive opportunities in the area of high-sensitivity *diagnostic systems development* [1].

The goal of this research was to examine the functional activity of the proteins immobilized on nanoparticles surface. The carbon coated iron nanoparticles *served as a core* of the developed construction [2]. Bovine serum albumin, interferon alpha and horseradish peroxidase were used as model biomolecules. For covalent immobilization of proteins the surface of nanoparticles was modified with original diazonium salt – 4- carboxy benzenediazonium tosylate [3]. The proteins were covalently bound to nanoparticles by carbodiimide activation. The nanohybrid constructions received as the result, were separated from the mixture by magnetic precipitation and centrifugation and washed with phosphate buffer and water at least four times.

The protein-nanoparticles complex formation was confirmed by FT-IR spectroscopy (in IR-spectra of complexes characteristic absorption bands of protein appeared in the region of 1600-1500 cm⁻¹). Spectrophotometric analysis has shown that *protein-binding capacity of nanoparticles* constituted 0.1-0.4*10⁻⁶ Mol per gram. It was determined, that horseradish peroxidase partially retained the specific enzymatic activity after immobilization. The capability of nanoparticles containing interferon alpha to bind with the specific antibodies was demonstrated by ELISA. Therefore the immobilization doesn't lead to the distortion of the protein molecule spatial structure.

There was developed the approach to the creation of the hybrid bionanocomposite constructions which include the magnetic nanoparticles covalently bound to proteins. This approach constitutes the main prerequisite for the development of new generation effective magneto-sensitive biosensors.

1. Tan W. et al., Med. Res. Rev.(2004), 24(5), 621;
2. Ermakov A.E. et al., Жур. Физ. хим.(2009), 83(7), 1338-1345;
3. Postnikov P.S. Nanotechnologies in Russia (2010), 5 (7–8), 446–449.

This research was supported by RFBR grant 09-04-99114 and Grant of President of Russian Federation for Young Scientists МД-1276.2010.7.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ISSR-PCR МАРКЕРОВ ДЛЯ ВЫЯСНЕНИЯ ОСОБЕННОСТЕЙ ГЕНОФОНДОВ НЕКОТОРЫХ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ И ДИКИХ ВИДОВ ЖИВОТНЫХ

Феофилов А.В.

*Российский Государственный Аграрный Университет – МСХА имени К.А. Тимирязева,
127550, Россия, Москва, ул. Тимирязевская, 49*

Успешность исследования генетических ресурсов диких и сельскохозяйственных видов животных и растений определяется наличием и качеством тест-систем, позволяющих надежно идентифицировать видовые, породные и сортовые особенности генофондов. Одним из направлений создания и совершенствования таких систем является оценка полиморфизма взаимного позиционирования инвертированных повторов ДНК. В целях оценки их информативности

выполнен сравнительный анализ ДНК представителей некоторых пород крупного рогатого скота, овец, лошадей, а также некоторых диких видов с помощью метода ISSR-PCR. В качестве праймеров были использованы две ди- и две тринуклеотидные последовательности микросателлитов: $(AG)_9C$, $(GA)_9C$, $(GAG)_6C$, $(CTC)_6C$.

Получены спектры продуктов амплификации, специфичные как для групп животных, так и для каждого праймера, что позволило провести сравнение спектров между собой и выявить фрагменты, характерные конкретной породе или виду. По совокупности полученных данных были построены дендрограммы взаимоотношений различных групп животных между собой. По результатам анализа спектров был вычислен индекс полиморфного информационного содержания локусов (PIC), что позволяет судить об информативности того или иного праймера для конкретной породы или вида. Кроме того, с помощью методов биоинформатики была предпринята попытка указать возможные причины наблюдаемых отличий в спектрах ампликонов, например, относительно меньший полиморфизм спектров продуктов амплификации, получаемых при использовании последовательности $(GA)_9C$ в сравнении с $(AG)_9C$.

Полученные данные свидетельствуют о том, что полиморфизм ISSR-PCR маркеров зависит от их нуклеотидной последовательности. А их использование для полилокусного генотипирования генофондов животных позволяет выявлять сочетания разных длин фрагментов ДНК, которые могут рассматриваться как уникальный генофондный «штрихкод», характерный для породы или вида.

USING OF ISSR-PCR MARKERS TO REVEAL GENOFOND FEATURES OF SOME AGRICULTURAL AND WILD ANIMAL SPECIES

Pheophilov A.V.

*Russian State Agrarian University – MTAA named after K.A. Timiryazev,
127550, Russia, Moscow, Timiryazevskata str., 49*

The success of studies of wild and agricultural plants' and animals' genetic resources is defined by availability and quality of testing systems allowing to surely identify specie, breed and cultivar features of genofonds. One of methods to create and improve such systems is estimation of polymorphism of inverted repeats positioning in DNA. In purposes of estimation of their informational capacity a comparative analysis of DNA for representatives of several cattle, sheep and horse breeds and some wild species was carried out. ISSR-PCR method was used, primers belong to di- and trinucleotide microsatellite sequences: $(AG)_9C$, $(GA)_9C$, $(GAG)_6C$, $(CTC)_6C$.

As results spectra of amplification products were received specific both for animal groups and the certain primers themselves; that allowed comparing spectra between each other and reveal fragments specific for certain breed or specie. Analyzed data allowed calculation of polymorphic information content (PIC) index that reflects usefulness of each primer for certain breed or specie. Moreover, bioinformatic methods were used to search for possible reasons of differences observed in amplification spectra, for example relative lower polymorphism of $(GA)_9C$ primer's spectra compared to $(AG)_9C$'s one.

Data received evidence that polymorphism of ISSR-PCR markers depends on their nucleotide sequence. And their using in polyloci genotyping of animal genofonds allows revealing of combinations of DNA fragments with different length which may be considered as a unique genofond "barcode", specific for a breed or a specie.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОВЕРХНОСТИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ОБРАЗЦОВ НАНОПОРИСТОГО УГЛЕРОДНОГО КОМПОЗИТА МЕТОДОМ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ

Кнорре Д.Г.¹, Лихолобов В.А.², Годовикова Т.С.^{1,3}, Пьянова Л.Г.²,
Бакланова О.Н.², Седанова А.В.²

¹Учреждение Российской академии наук Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН,

630090, г. Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 8

²Учреждение Российской академии наук Институт проблем переработки углеводов Сибирского отделения РАН,

644040 г. Омск, ул. Нефтезаводская, 54, E-mail: medugli@ihpp.oscsbras.ru

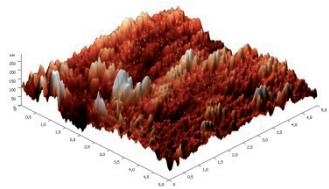
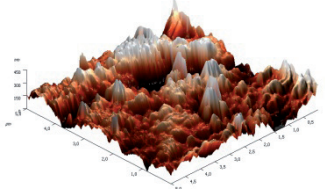
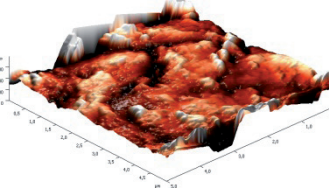
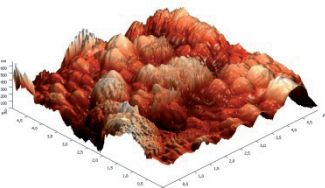
³Новосибирский государственный университет,

630090, г. Новосибирск-90, ул. Пирогова, д. 2

Атомно-силовой микроскоп используется для исследования структуры поверхности различных объектов и определения сил межмолекулярного взаимодействия.

Цель работы: изучение поверхности модифицированных образцов нанопористого углеродного композита методом атомно-силовой микроскопии (АСМ).

Объекты исследования: исходный и модифицированные образцы углеродного сорбента. Модификатор: молочная кислота.

	
Рис.1 - Трехмерное представление исходного образца углеродного сорбента	Рис.2 - Трехмерное представление образца, модифицированного молочной кислотой после активации
	
Рис.3 - Трехмерное представление образца, модифицированного молочной кислотой после активации, пропущенного через плазму крови здорового человека	Рис.4 - Трехмерное представление образца, модифицированного молочной кислотой после активации с иммобилизованным альбумином, пропущенного через плазму крови здорового человека

Методом АСМ было показано, что поверхность гранул исходного сорбента имеет сложную организацию (рис.1). Установлено, что модифицирование сорбента молочной кислотой и его активация не оказывают влияния на топографические характеристики поверхности гранул в пределах разрешения использованного метода (≈ 20 нм) (рис.2). Изучение поверхности образца, модифицированного молочной кислотой после активации, пропущенного через плазму крови здорового человека, выявило сглаживание рельефа – заполнение каньонов и ямок, и уменьшение высоты шиповидных образований (рис.3). Наиболее ярко сглаживание рельефа наблюдается на образце углеродного сорбента, модифицированного молочной кислотой, активированного с иммобилизованным альбумином и пропущенного через плазму крови здорового человека (рис.4).

Таким образом, сорбционная способность образцов углеродного сорбента, модифицированного

молочной кислотой, активированного, с иммобилизованным альбумином и пропущенного через плазму крови здорового человека с данными топографическими свойствами, значительно превосходит адсорбционную способность исходного углеродного сорбента.

Авторы выражают благодарность Рябчиковой Елене Ивановне и Корнееву Денису Владимировичу за проведенные атомно-силовые исследования.

Работа выполнена при поддержке междисциплинарного интеграционного проекта СО РАН № 88.

ATOMIC FORCE MICROSCOPY STUDY OF THE SURFACE OF MODIFIED NANOPOROUS CARBON COMPOSITE

**D.G. Knorre¹, V.A. Likholobov², T.S. Godovikova^{1,3},
L.G. P'yanova, O.N. Baklanova², A.V. Sedanova²**

¹*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS,
8, Lavrentiev Ave.; Novosibirsk; Russia; 630090*

²*Institute of Hydrocarbons Processing SB RAS,*

54, Neftezhavodskaya St.; Omsk; Russia; 644040, e-mail: medugli@ihcpp.oscsbras.ru

³*Novosibirsk State University, 2, Pirogova St.; Novosibirsk; Russia; 630090*

Atomic force microscopy (AFM) is used to examine the surface structure of various objects and determine intermolecular forces.

Purpose of the work: surface study of the modified nanoporous carbon composite using atomic force microscopy.

Object of research: initial and modified samples of nanoporous carbon sorbent. Modifier: lactic acid.

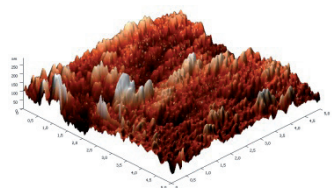


Figure 1. Three-dimensional image of the initial carbon sorbent sample

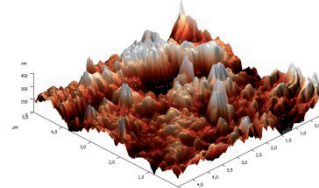


Figure 2. Three-dimensional image of the carbon sorbent sample after modification with lactic acid and activation

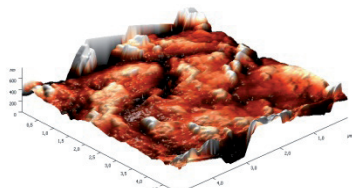


Figure 3. Three-dimensional image of the carbon sorbent sample after modification with lactic acid, activation, and passing through blood plasma of a healthy human

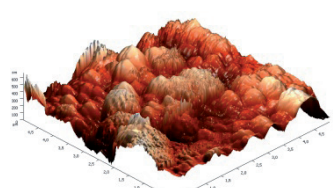


Figure 4. Three-dimensional image of the carbon sorbent sample after modification with lactic acid, activation with immobilized albumin, and passing through blood plasma of a healthy human

According to AFM data, granules of the initial carbon sorbent have a complicated surface structure (Fig. 1). Within the accuracy of the method (ca. 20 nm), modification of the sorbent surface with lactic acid and its subsequent activation had no effect on topographic characteristics of the granule surface (Fig. 2). When the sorbent modified with lactic acid and activated was passed through blood plasma of a healthy human, this gave a smoothed surface relief: canyons and dimples were filled, and spinous lumps reduced in height (Fig. 3). Smoothing of the surface relief was most pronounced for the carbon sorbent sample modified

with lactic acid, activated with immobilized albumin and passed through blood plasma of a healthy human (Fig. 4).

Thus, the sorption capacity of the carbon sorbent samples modified with lactic acid, activated with immobilized albumin and passed through blood plasma of a healthy human strongly exceeds that of the initial carbon sorbent.

The authors are grateful to Ryabchikova E. I. and Korneev D. V. for AFM examination.

The work was supported by interdisciplinary integration project SB RAS # 88.

ПОЛУЧЕНИЕ L-А-ЛЕЦИТИНА И ЛИПОСОМАЛЬНЫХ НАНОЕМУЛЬСИЙ ИЗ ПОДСОЛНЕЧНОГО ФОСФАТИДНОГО КОНЦЕНТРАТА

Шульга С.М., Глух И.С., Иващенко Т.А.

*ГУ «Институт пищевой биотехнологии и геномики» НАН Украины,
04123 м. Киев-123, ул. Осиповского, 2а
тел/факс: +38 (044) 434 45 77, e-mail: Shulga5@i.ua*

В настоящее время коммерчески доступный фосфатидилхолин получают из сои и из желтков куриных яиц. Одним из перспективных направлений для получения коммерческого фосфатидилхолина является использование фосфатидного концентрата подсолнечника в качестве исходного сырья. Однако сложность матрицы требует специфических подходов для его эффективного выделения и очистки.

Разработан метод твердофазной экстракции, концентрирования и очистки фосфатидилхолина с использованием силикагеля и оксида алюминия в качестве сорбентов для разделения компонентов подсолнечного лецитина и очистки фосфатидилхолина.

Разработана технология и получены промышленные партии сухого порошка фосфатидилхолина (L-α-лецитина).

С помощью экструзионного метода получены наноемульсии а также липосомы в диапазоне размеров от 50 нм. до 500 нм. Исследована возможность применения «пустых» липосом в качестве транспортных наносистем, параметры технологии и условия для их стабильности и длительного хранения

OBTAINING OF L-A-LECITHIN AND LIPOSOMAL NANOEMULSIONS FROM SUNFLOWER PHOSPHATIDE CONCENTRATE

Shulga S.M., Glukh I.S., Ivashchenko T.A.

*Institute for Food Biotechnology and Genomics. National Academy of Science of Ukraine
Osypovskogo str., 2a, 04123, Kyiv-123, Ukraine
tel/fax: +38 (044) 434 45 77, e-mail: Shulga5@i.ua*

Currently, commercially available phosphatidylcholine is obtained from soya beans and egg yolks. Use of the sunflower phosphatide concentrate as source material is one of promising trends for the commercial use of phosphatidylcholine. However, the complexity of the matrix requires specific approaches for its effective extraction and purification.

A method is worked out for solid-phase extraction, concentration and purification of phosphatidylcholine using silica gel and aluminum oxide as sorbents for the separation of the components of sunflower lecithin

and purification of phosphatidylcholine.

The technology is developed and industrial lots of dry powder phosphatidylcholine (L- α -lecithin) are obtained

Nanoemulsions and liposomes in the size range from 50 nm. up to 500 nm. were obtained by the extrusion method. The possibility of using «empty» liposomes as transporting nanosystems was studied. Technology parameters and conditions for their stability and long-term storage were investigated as well.

НАНОЧАСТИЦЫ НА ОСНОВЕ ФОСФОЛИПИДОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ХЛАМИДИОЗА

Рукосуева Н.В., Захарова Д.А., Озерова А.М., Безруков Д.А., Каплун А.П.

Московская государственная академия тонкой химической технологии

им. М.В. Ломоносова (МИТХТ),

119571, Москва, пр. Вернадского 86, nataliya-rukosueva@yandex.ru

Chlamydia trachomatis - возбудитель одной из самых распространённых в мире инфекций, передающихся половым путём, хламидиоза. Данное заболевание вызывает ряд патологических изменений органов малого таза и может являться причиной бесплодия и невынашивания плода у женщин. Проблема терапии хламидиозов заключается в развитии устойчивости *C. trachomatis* к действию традиционно используемых антибиотиков: тетрациклинов, макролидов и фторхинолонов. Возможным способом лечения хламидиозов является применение препаратов, блокирующих свободные ионы железа, поскольку недостаток железа препятствует росту и развитию внутриклеточных бактериальных патогенов, включая и *C. trachomatis*.

Одно из таких соединений - десферал. Основной проблемой применения этого препарата является его токсичность. Задачей настоящей работы было получение липосомальной формы десферала и изучение ее антибактериальной активности в отношении *C. trachomatis*. Для получения липосом использовалась смесь соевый ФХ:Холестерин 7:3 (мол). Противохламидийная активность образцов инкапсулированного десферала исследовалась в культуре эпителиальных клеток линии HL, зараженных *C. trachomatis*.

Было показано, что дисперсия, содержащая липосомы состава сФХ:Хол 7:3 (мол.), загруженные десфералом, и свободное вещество, проявляет антихламидийную активность при концентрации десферала 50 мкМ, тогда как десферал в свободной форме начинает влиять на хламидийные включения в концентрации 100 мкМ, при этом данная смесь эффективнее дисперсии незагруженных липосом и свободного десферала. Для увеличения жесткости липидного бислоя соевый ФХ заменялся на гидрогенизированную форму (гФХ). Однако в ходе дальнейших исследований было установлено, что загруженные десфералом липосомы состава гФХ:Хол 7:3 (мол) токсичны для клеток при концентрации дисперсии 0.2 мг/мл.

Работа поддерживается грантом президента РФ МК-1145.2011.4».

NANOPARTICLES ON THE BASE OF PHOSPHOLIPIDS FOR CHLAMYDIA TREATMENT

Rukosueva N.V., Zakharova D.A., Ozerova A.M., Bezrukov D.A., Kaplun A.P.

*Moscow State Academy of Fine Chemical Technology named after M.V. Lomonosov.
119571, Moscow, Pr. Vernadskogo, 86, nataliya-rukosueva@yandex.ru.*

Chlamydia trachomatis is a causative agent of one of the most common worldwide sexually transmitted infections - Chlamydia. The disease causes a number of pathological changes of the pelvic organs and can cause infertility and miscarriage of women. The problem of Chlamydia therapy is in the growth of resistance of *C. trachomatis* to action of traditionally used antibiotics: tetracyclines, macrolides and fluoroquinolones. A possible way to cure Chlamydia is the use of drugs that block the free iron ions, since a lack of iron inhibits the growth and development of intracellular bacterial pathogens including *C. trachomatis*.

One of these compounds is desferal. The main problem of using this drug is its toxicity. The purpose of this study was to obtain liposomal forms of desferal and exploration of its antibacterial activity against *C. trachomatis*. A mixture of soy phosphatidylcholine and cholesterol in proportion 7:3 (mol.) was used to obtain liposomes. Antichlamydia activity of the encapsulated samples of desferal was investigated in culture of epithelial cells of HL line infected with *C. trachomatis*.

It was shown that the dispersion containing liposomes of soy PH and cholesterol in proportion 7:3 (mol.) having desferal and free stuff shows antichlamydia activity at a concentration of 50 μ M of desferal, whereas desferal in free form begins to influence the chlamydia inclusions having a concentration of 100 μ M, while this mixture is more efficiently than dispersion of not containing desferal liposomes and free desferal. To increase the rigidity of the lipid bilayer soy PH was replaced by hydrogenated form (hPH). However, further studies showed that liposomes containing desferal of hPH and cholesterol in proportion 7:3 (mol.) are toxic to cells at a dispersion concentration of 0.2 mg/ml.

The work is supported by grant presidential MK-1145.2011.4 “.

ХАРАКТЕРИСТИКА ПРЕПАРАТОВ РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА ТВІ – КОМПОНЕНТА ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВИЧ, ПОЛУЧЕННЫХ РАЗНЫМИ СПОСОБАМИ

Волосникова Е.А., Лебедев Л.Р., Масычева В.И.

*Институт медицинской биотехнологии ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора
г.Бердск, Новосибирской обл., 633010, Россия*

Во ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор» была разработана кандидатная вакцина против ВИЧ/СПИД КомбиВИЧвак. Одним из компонентов вакцины является генно-инженерный белок ТВІ, который содержит четыре Т-клеточных и пять В-клеточных эпитопов из белков ВИЧ-1 Env и Gag.

Существующая схема выделения белка ТВІ включала в себя две хроматографии на ДЕАЕ-целлюлозе с промежуточной гelfильтрацией на сефарозе 6В. Получаемые по этой схеме образцы субстанции белка ТВІ имели повышенное содержание ЛПС (25-50 Е/дозу), что не соответствует требованиям по содержанию бактериальных эндотоксинов (ОФС 42-0002-00) и вызывает пирогенные реакции у кроликов.

В связи с этим, для получения субстанции белка, удовлетворяющей требованиям по содержанию бактериальных эндотоксинов (ОФС 42-0002-00) предложена новая схема выделения белка. Данный способ получения включает комбинацию двух хроматографий на ДЕАЕ-целлюлозе при различных значениях рН. При этом способе очистки удаляются примесные нуклеиновые кислоты, липополисахариды и белки, что позволило увеличить чистоту (с 92 до 96%) и выход (с 40 до 60%)

белка, а также снизить уровень ЛПС (менее 25 Е/дозу).

Проведено масштабирование оптимизированного технологического процесса с увеличением загрузки биомассы в 2,5 раза. В результате проведенного масштабирования показано, что при увеличении объема используемой для выделения биомассы выход, чистота и содержание получаемого белка сохраняются на высоком уровне.

Проведено исследование физико-химических свойств, а также определение ферментативной и температурной устойчивости, сняты спектральные характеристики серий белка ТБИ. Исследования показали полную идентичность всех исследуемых серий белка, полученных различными способами.

CHARACTERISTICS OF A COMPONENT OF THE VACCINE AGAINST HIV, RECOMBINANT TBI PROTEIN, ISOLATED BY DIFFERENT METHODS

Volosnikova E.A., Lebedev L.R., Masysheva V.I.

*Institute of Medical Biotechnology, FSRI SRC VB "Vector" Rosпотребнадзор
Berdsk, Novosibirsk Region, 633010, Russia*

The candidate vaccine against HIV / AIDS CombiHIVvac has been developed in the FSRI SRC VB "Vector". One component of the vaccine is genetically engineered TBI protein which contains four T-cellular and five B-cellular epitopes from HIV-1 proteins Env and Gag.

The existing scheme of purification of TBI protein included two chromatographies on DEAE-cellulose with intermediate gel filtration on Sepharose 6B. The samples of the TBI protein substance had an increased content of LPS (25-50 U / dose) that does not comply with the requirements for the content of bacterial endotoxins (Pharmacopoeial Clause 42-0002-00) and causes pyrogenic responses in rabbits.

A new scheme of isolation of the TBI protein substance meeting the requirements for the content of bacterial endotoxins (Pharmacopoeial Clause 42-0002-00) was proposed. This method includes a combination of two chromatographies on DEAE-cellulose at different pH values. All contaminants (nucleic acids, lipopolysaccharides and proteins) were eliminated by this method, which allowed us to increase the protein purity (from 92 to 96%) and yield (from 40 to 60%) and to decrease the level of LPS (less than 25 U / dose).

The scaling of the optimized technological process was carried out with a 2,5 fold increase in the biomass. It was shown that the yield, purity and the content of the TBI protein were kept at a high level with increasing the biomass.

The study of physic-chemical properties of TBI protein was carried out. Enzymatic and thermal resistance was determined. Spectral characteristics of protein series were estimated. All the TBI protein series isolated by different methods were identical.

НАНО- И БИОТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОГО МЕТОДА АНАЛИЗА NANO- AND BIOTECHNOLOGY FOR THE ELECTRIC-CHEMICAL ANALYSES

Драчева Л.В.

Международная академия информатизации

Москва, Тверская ул., 5

В настоящее время одной из областей применения наноматериалов является создание электрохимических и биологических сенсоров нового поколения, которые могут быть успешно реализованы на практике в пищевой промышленности, биотехнологии, фармакологии, медицине. Для этого используют соответствующие наномодификаторы – наночастицы золота, серебра, платины, родия, висмута и других металлов.

Уникальные свойства наноструктурированных материалов связаны с их большой поверхностной энергией вследствие наличия на ней ненасыщенных атомных связей. Это, в свою очередь, обуславливает их высокую адсорбционную, каталитическую и электрохимическую активность, что делает данные материалы перспективными для применения в различных областях.

На сегодняшний день достаточно хорошо изучены условия создания, а также характерные для электрохимического поведения сенсорные свойства ансамблей ультрамикро- и наноэлектродов.

Как известно, в организме человека свободные радикалы кислорода играют важную роль для обеспечения процессов его жизнедеятельности. С одной стороны, они являются побочными продуктами метаболизма, с другой стороны, - их продуцирует сама иммунная система для борьбы с патогенными микроорганизмами.

В последние годы в аналитической практике для детекции антиоксидантной активности всё чаще стали использоваться электрохимические методы с применением различных сенсоров и биосенсоров, в том числе с ансамблями наночастиц различной химической природы. В перспективе они будут не только идентифицировать, но и определять содержание свободных радикалов кислорода непосредственно в тканях и биологических средах организма человека.

Таким образом, станет возможным получать оперативную информацию в виде соответствующего аналитического отклика для её последующего использования в диагностических/терапевтических целях. Уже сегодня на основе электрохимических методов разработаны алгоритмы определения интегральной антиоксидантной активности в такой ткани организма человека, как кровь, и в её фракциях. При этом следует подчеркнуть, что метаболические реакции в организме протекают именно в наноразмерном масштабе.

Автором с помощью методов катодной вольтамперометрии и прямого кулонометрического титрования в условиях проведения нанореакций определена суммарная антиоксидантная активность таких пробиотиков, как лакто-, бифидо-, пропионовокислые бактерии. Они образуют микробный пейзаж, присущий индигенной микробиоте каждого организма человека. Помимо этого, они успешно применяются в достаточно широком спектре пищевой продукции для создания продуктов питания функционального назначения, а также продуктов для здорового образа жизни.

Также представляет интерес и создание биосенсоров для контроля качества и безопасности пищевых продуктов. Это новый класс ультрамикроскопических наносенсоров для экспрессной идентификации вирусов и патогенных бактерий.

Разработка нано- и биосенсоров в настоящее время является быстро развивающимся направлением в современном электрохимическом анализе, которое несомненно расширит границы его применения как для качественного, так и количественного определения, особенно в области низких содержаний (в том числе и на наноуровне) контролируемых параметров в области пищевой и биологической химии.

ОГЛАВЛЕНИЕ CONTENTS

ПЛЕНАРНОЕ ЗАСЕДАНИЕ PLENARY SESSION

«ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ» “FUNDAMENTAL RESEARCHES AND BIOTECHNOLOGY”

ПЛЕНАРНЫЕ ДОКЛАДЫ PLENARY REPORTS

МЕЖДУНАРОДНЫЙ ПРОЕКТ “ПРОТЕОМ ЧЕЛОВЕКА” И УЧАСТИЕ В НЕМ РОССИИ
Арчаков А.И. 16

INTERNATIONAL PROJECT «HUMAN PROTEOM» AND PARTICIPATION OF RUSSIA IN THE PROJECT
Archakov A. I. 17

ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ НА ОСНОВЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ
Власов В. В. 17

NUCLEIC ACID THERAPEUTIC AGENTS
Vlasov V. V. 18

СИСТЕМНАЯ БИОЛОГИЯ: ИНТЕГРАЦИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ И КОМПЬЮТЕРНЫХ ПОДХОДОВ
Колчанов Н.А. 19

SYSTEMS BIOLOGY: INTEGRATION OF EXPERIMENTAL AND COMPUTER APPROACHES
Kolchanov N.A. 19

БИОЛОГИЧЕСКИ ВАЖНЫЕ НУКЛЕОЗИДЫ: СОВРЕМЕННЫЕ ТЕНДЕНЦИИ В БИОТЕХНОЛОГИИ И ПРИМЕНЕНИИ
Михайлопуло И.А., Мирошников А.И. 20

BIOLOGICALLY IMPORTANT NUCLEOSIDES: MODERN TRENDS IN BIOTECHNOLOGY AND APPLICATION
Igor A. Mikhailopulo, Anatoly I. Miroshnikov 21

СИСТЕМНАЯ БИОЛОГИЯ И ПРОБЛЕМЫ БИОТЕХНОЛОГИИ
Згода В., Тихонова О., Курбатов Л., Копылов А., Москалева Н., Чеглаков И., Новикова С., Прусов К., Арчаков А. 22

SYSTEMS BIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY PROBLEMS
Victor Zgoda, Olga Tikhonova, Leonid Kurbatov, Artur Kopylov, Natalia Moskaleva, Ivan Cheglakov, Olesia Urasova, Victoria Argentova, Sveta Novikova and Alexander Archakov 23

**СЕКЦИЯ 1. «БИОТЕХНОЛОГИЯ И МЕДИЦИНА. НАУКА, ФАРМАЦЕВТИКА,
ДИАГНОСТИКА»**
**SECTION 1. "BIOTECHNOLOGY AND MEDICINE. SCIENCES, PHARMACEUTICAL
INDUSTRY, DIAGNOSTIC"**



СПОНСОР СЕКЦИИ: ЗАО «ШАГ» WWW.SCHAG.RU
SPONSOR OF SECTION: ZAO "SHAG"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

ВЕКТОРНЫЕ ЛИПОСОМАЛЬНЫЕ СИСТЕМЫ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ГЛИОМ

Чехонин В.П., Баклаушев В.П., Юсубалиева Г.М., Гурина О.И. 24

**ПРОБЛЕМЫ СОЗДАНИЯ НАНОДИСПЕРГИРОВАННЫХ ФОРМ ЛЕКАРСТВЕННЫХ
ПРЕПАРАТОВ**

Гумеров Ф.М. 26

PROBLEMS OF CREATING NANODISPERSED FORMS OF PHARMACEUTICALS

F.M. Gumerov 27

**НАНОКОМПЛЕКСЫ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ С
ПЕПТИДАМИ КАК ИНГИБИТОРЫ РЕПЛИКАЦИИ ВИЧ-1 И ВИРУСНОЙ ИНТЕГРАЗЫ**

Агапкина Ю.Ю., Зацепин Т.С., Готтих М.Б. 27

**ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ ЭНХАНСЕРЫ ДЕЙСТВИЯ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ
АДЕНОВИРУСОВ ДЛЯ ОНКОЛОГИИ**

Шепелев М.В., Коробко Е.В., Коробко И.В. 28

**PHARMACOLOGICAL ENHANCERS FOR THERAPEUTIC ADENOVIRUSES IN
ONCOLOGY**

Shepelev M.V., Korobko E.V., Korobko I.V. 29

**ГЕНЕТИЧЕСКИЙ НОКАУТ КАК ПЛАТФОРМА ДЛЯ ПОИСКА НОВЫХ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ**

Котелевцев Ю.В. 29

GENETIC KNOCKOUT AS AN ESSENTIAL PLATFORM FOR DRUG DISCOVERY

Yuri Kotelevtsev 30

**ПРИМЕНЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ
ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ ВАРФАРИНОМ У ПАЦИЕНТОВ ЗАПАДНО-
СИБИРСКОГО РЕГИОНА РОССИИ**

Кох Н.В., Воронина Е.Н., Лифшиц Г.И., Цветовская Г.А.,
Филипенко М.Л., Хвостов М.В., Чернонос А.А. 31

THE USE OF GENETIC TESTING FOR PERSONALIZED OPTIMIZATION OF WARFARIN THERAPY IN PATIENTS OF THE WEST SIBERIAN REGION OF RUSSIA

Kokh N.V., Voronina E.N., Lifshits G.I., Tsvetovskaja G.A.,
Filipenko M.L., Kvostov M.V., Chernonosov A.A. 31

ПРИМЕНЕНИЕ СВЕРХКРИТИЧЕСКИХ ФЛЮИДНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В ОРГАНИЧЕСКОМ СИНТЕЗЕ И МОДИФИЦИРОВАНИИ ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ ДЛЯ БИОХИМИИ И ФАРМАЦЕВТИКИ

Леменовский Д.А., д.х.н., Шляхтин А.В., Брусова Г.П. 32

SUPERCRTICAL FLUIDS IN ORGANIC SYNTHESIS AND TRANSFORMATION OF KNOWN SUBSTANCES FOR PHARMACY AND BIOLOGY PURPOSES

Lemenovskii D.A., Shlyahtin A.V., Brusova G.P. 33

БИФЕРКОН – СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫЙ КОНЬЮГАТ СУПЕРОКСИДИСМУТАЗА-ХОНДРОИТИНСУЛЬФАТ-КАТАЛАЗА: ВАЗОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА

Максименко А.В., Тищенко Е.Г., Ваваев А.В. 33

BIFERCON – SUPRAMOLECULAR SUPEROXIDE DISMUTASE – CHONDROITIN SULFATE – CATALASE CONJUGATE: VASOPROTECTIVE PROPERTIES

Maksimenko A.V., Tischenko E.G., Vavaev A.V. 34

СВЕРХКРИТИЧЕСКАЯ ФЛЮИДНАЯ ЭКСТРАКЦИЯ И ХРОМАТОГРАФИЯ В РЕШЕНИИ ЗАДАЧ БИОТЕХНОЛОГИИ

Покровский О.И. 34

APPLICATION OF SUPERCRITICAL FLUID EXTRACTION AND CHROMATOGRAPHY IN BIOTECHNOLOGY

Pokrovskiy O.I. 35

НОВЫЙ ПОДХОД К ОПРЕДЕЛЕНИЮ КАЧЕСТВА ОРИГИНАЛЬНЫХ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ И ДЖЕНЕРИКОВ

Ревельский И.А., Глазков И.Н., Самохин А.С., Чепелянский Д.А., Ревельский А.И. 36

NEW APPROACH TO QUALITY CONTROL OF ORIGINAL PHARMACEUTICAL PRODUCTS AND RESPECTIVE GENERICS

Revelsky I.A., Glazkov I.N., Samokhin A.S., Chepeliansky D.A., Revelsky A.I. 36

МОДУЛЬНЫЕ НАНОТРАНСПОРТЕРЫ – НОВАЯ МНОГОЦЕЛЕВАЯ ПЛАТФОРМА ДЛЯ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВ

Соболев А.С. 37

MODULAR NANOTRANSPORTERS: A NEW MULTI-PURPOSE PLATFORM FOR DRUG DELIVERY

Sobolev A.S. 37

ГЕННО-ИНЖЕНЕРНЫЕ ФЕРМЕНТЫ ДЛЯ МЕДИЦИНСКОЙ ДИАГНОСТИКИ И ФАРАМАЦЕВТИКИ

Тишков В.И., Хороненкова С.В., Алексеева А.А., Гончаренко К.В., Серенко А.А., Комарова Н.В., Голубев И.В., Рыженкова К.В., Газарян И.Г., Хушпульян Д.М., Березин А.И., Степашкина А.В., Федорчук В.В., Федорчук Е.А., Чубарь Т.А., Савина Л.И., Савин С.С. 38

GENETIC ENGINEERING ENZYMES FOR MEDICINE DIAGNOSTICS AND PHARMACEUTICAL INDUSTRY

Tishkov V.I., Khoronenkova S.V., Alekseeva A.A., Goncharenko K.V., Serenko A.A., Komarova N.V., Golubev I.V., Ryzhenkova K.V., Gazaryan I.G., Hushpuliyany D.M., Berezin A.I., Stepashkina A.V., Fedorchuk V.V., Fedorchuk E.A., Chubar T.A., Savina L.I., Savin S.S. 39

ТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ДОКСОРУБИЦИНА НА ЭМБРИОНЫ DANIO RERIO. УСИЛЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА P53

Чеглаков И.Б., Беляева Н.Ф., Золотарёв К.В., Каширцева В.Н., Мишин А.В. 39

TOXIC ACTION OF DOXORUBICIN UPON DANIO RERIO EMBRYOS. UPREGULATION OF P53 GENE EXPRESSION

I. Cheglakov, N. Belyaeva, K. Zolotarev, V. Kashirtseva, A. Mishin 40

ПРОТОКОЛЫ РЕАБИЛИТАЦИИ ДЕТЕЙ С ПАТОЛОГИЕЙ В ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИННОВАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ БЫСТРОГО ПРОТОТИПИРОВАНИЯ

Рогинский В.В., Иванов А.Л., Евсеев А.В., Попов В.К., Панченко В.Я. 41

ПОСТЕРЫ POSTERS

ИЗМЕНЕНИЯ МЕМБРАН КЛЕТОК ПРИ ДЕЙСТВИИ ПЕРСПЕКТИВНЫХ НЕЙРОПРОТЕКТОРОВ СЕМЕЙСТВА ИХФАНОВ

Алексеева О.М., Миль Е.М., Бинюков В.И., Албантова А.А., Голошапов А.Н., Бурлакова Е.Б., Ягольник Е.А., Ким Ю.А. 43

CHANGES OF CELL MEMBRANES UNDER THE ACTION OF PERSPECTIVE NEUROPROTECTORS OF ICHFANS FAMILY

O.M. Alekseeva, E. M. Mil, V. I. Binyukov, Albantova A.A., Yu.A. Kim, E. A. Yagolnik, E.B. Burlakova, A.N. Goloshapov 44

ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ БЕЛКОВ – ОСНОВНЫХ МАРКЕРОВ АПОПТОЗА (P53 И BCL-2) ПРИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ

Албантова А.А., Миль Е.М., Гуревич С.М., Козаченко А.И., Наглер Л.Г. 44

CHANGING THE CONTENT OF PROTEINS - THE MAIN MARKERS OF APOPTOSIS (P53 AND BCL-2) IN ONCOLOGICAL DISEASES OF THE RESPIRATORY TRACT

A.A. Albantova, E.M. Miles, S.M. Gurevich, A.I. Kozachenko, L.G. Nagler 45

МУКОАДГЕЗИВНЫЕ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫЕ МИКРОЧАСТИЦЫ, СОДЕРЖАЩИЕ РЕКОМБИНАНТНЫЙ ИНСУЛИН ЧЕЛОВЕКА И ЕГО АНАЛОГИ

Балабушевич Н.Г., Печенкин М.А., Зоров И.И., Шибанова Е.Д.,
Михальчик Е.В., Ларионова Н.И. 46

MUCOADHESIVE POLYELECTROLYTE MICROPARTICLES CONTAINING RECOMBINANT HUMAN INSULIN AND ITS ANALOGUES

N.G. Balabushevich , M.A. Pechenkin , I.N. Zorov , E.D. Shibanova , E.V. Mikcalchik ,
N.I. Larionova 47

ALU И 7SL РНК ИНДУЦИРУЮТ ПРО-АПОПТОТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В КЛЕТКАХ MCF-7 *IN VITRO*

Барякин Д. Н., Семенов Д. В. 48

INDUCTION OF PRO-APOPTITIC PROCESSES IN MCF-7 CELLS *IN VITRO* BY ALU AND 7SL RNA

Baryakin D. N., Semenov D. V. 49

УГЛЕВОДСОДЕРЖАЩИЕ НАНОЧАСТИЦЫ ДЛЯ СЕЛЕКТИВНОГО ТРАНСПОРТА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Большебородова А.К., Курочкина Н.А, Себякин Ю.Л. 50

CARBOHYDRATE-CONTAINING NANOPARTICLES FOR SELECTIVE TRANSPORT OF BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS

Bolsheborodova A.K., Kurochkina N.A., Sebyakin J.L. 50

К СОЗДАНИЮ НОВОГО АНТИКАНЦЕРОГЕННОГО ПРЕПАРАТА ИЗ ПРОБИОТИКОВ И ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ УЗБЕКИСТАНСКОГО ПРОПОЛИСА

Элова Н.А., Миралимова Ш.М., Огай Д.К., Еникеева З.М. 51

CREATING OF NEW ANTICARCINOGENIC PREPARATION CONSISTING OF THE PROBIOTICS AND PHENOLIC COMPOUNDS OF THE PROPOLIS OF UZBEKISTAN

Elova N.A., Miralimova Sh.M., Ogay D.K., Enikeeva Z.M. 52

МЕХАНИЗМ ИНДУКЦИИ АПОПТОЗА КЛЕТОК MCF-7 ПОД ДЕЙСТВИЕМ РЕКОМБИНАНТНОГО АНАЛОГА ПОТЕНЦИАЛЬНОГО ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПЕПТИДА – ЛАКТАПТИНА

Фомин А.С., Семенов Д.В., Коваль О.А., Кулигина Е.В., Рихтер В.А. 52

MECHANISM OF MCF-7 CELLS APOPTOSIS TRIGGERED BY RECOMBINANT ANALOG OF POTENTIALLY ANTI-TUMOR PEPTIDE – LACTAPTIN

Fomin A.S., Semenov D.V., Koval O.A., Kuligina E.V., Richter V.A. 54

АНТИАГРЕГАЦИОННЫЕ СРЕДСТВА КЛАССА 3,5-ЗАМЕЩЕННЫХ ИЗОКСАЗОЛОВ И ИХ 4,5-ДИГИДРОПРОИЗВОДНЫХ

Фомин М.А., Демина О.В., Лаптев А.В., Лукин А.Ю., Беликов Н.Е.,
Швец В.И., Варфоломеев С.Д., Ходонов А.А. 55

ANTIAGGREGATORY AGENTS OF 3,5-SUBSTITUTED ISOXAZOLES AND THEIR 4,5-DIHYDRO DERIVATIVES

M.A. Fomin , O.V. Demina , V. Laptev , A.Yu. Lukin , N.E. Belikov , V.I. Shvets ,
S.D. Varfolomeev , A.A. Khodonov 56

ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСНЫХ ПРИРОДНЫХ ГИПОЛИПИДЕМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ НА ИНГИБИРОВАНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ БИОПЛЕНОК

Готовцева В.Ю. Борисова Н.А., Бибикина М.В. 56

INFLUENCE OF COMPLEX NATURAL HYPOLIPIDEMIC COMPOUNDS ON THE INHIBITION OF FORMATION OF BACTERIAL BIOFILMS

Gotovtseva V.Y., Borisova N.A., Bibikova M.V. 57

СКРИНИНГ СТАТИНОБРАЗУЮЩИХ ШТАММОВ ГРИБА *ASPERGILLUS TERREUS*

Гулямова Т.Г., Рузиева Д.М., Насметова С.М., Расулова Г.А., Лобанова К.В., Абдульмянова Л.И. . 58

SCREENING OF STATIN SYNTHESIZING STRAINS OF *ASPERGILLUS TERREUS*

Gulyamova T.G., Ruzieva D.M., Nasmetova S.M., Rasulova G.A.,
Lobanova K.V., Abdulmyanova L.I. 58

СОСТАВ И СТРОЕНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ РЯДА РАСТЕНИЙ ЕВРОПЕЙСКОГО СЕВЕРА РОССИИ

Зубова Ю.О., Злобин А.А. 59

ОБРАЗОВАНИЕ «НЕКУЛЬТИВИРУЕМЫХ» ФОРМ МИКОБАКТЕРИЙ СОПРОВОЖДАЕТСЯ ГИПЕРСЕКРЕЦИЕЙ ВНЕКЛЕТОЧНОГО ПОЛИСАХАРИДА

Назарова Е.В., Ильина А.С., Шлеева М.О., Морозова Н.С.,
Сорокоумова Г.М., Селищева А.А., Капрельянц А.С., Швеи В.И. 59

FORMATION OF “NON-CULTURABLE” FORMS OF MYCOBACTERIA IS ACCOMPANIED BY HYPERSECRETION OF EXTRACELLULAR POLYSACCHARIDE

Nazarova E.V., Ilyina A.S., Shleeveva M.O., Morozova N.S., Sorokoumova G.M.,
Selischeva A.A., Kaprelyants A.S., Shvets V.I. 60

МИКРОРНК МЕЖГЕННОВОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ УЧАСТВУЮЩИЕ В РАЗВИТИИ РАКА ТОЛСТОЙ КИШКИ ЧЕЛОВЕКА

Исабекова А.С., Иващенко А.Т. 61

INTERGENIC MICRORNA IN HUMAN COLON CANCER DEVELOPMENT

Isabekova A.S., Ivashchenko A.T. 61

ВЫЯВЛЕНИЕ АССОЦИАЦИЙ MIRNA ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ОНКОЗАБОЛЕВАНИЙ ОРГАНОВ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА ЧЕЛОВЕКА

Иващенко А.Т., Берилло О.А., Хайленко В.А. 62

REVEALING OF ASSOCIATIONS MIRNA FOR DIAGNOSTICS ONCODISEASE ORGANS OF GASTRIC-INTESTINAL TRACT OF THE HUMAN

Ivashchenko A.T., Berillo O. A., Khailenko V. A. 63

ВЫДЕЛЕНИЕ И ЯМР-АНАЛИЗ ГЛИКОЛИПИДОВ *LACTOCOCCUS LACTIS* SUBSP. *CREMORIS* БИМ В-493-Д

Ижик А.В., Новик Г.И., Рахуба Д.В., Пасьцjak М., Гамьян А., Книрель Ю.А. 64

ПУТИ БИОСИНТЕЗА КОБАЛАМИНОВ И ПОРФИРИНОВ АКТИНОМИЦЕТАМИ РОДА *STREPTOVERTICILLIUM*

Каримова Ф.А., Рузиева Д.М., Гулямова Т.Г. 64

COBALAMINES AND PORPHYRINS BIOSYNTHESIS PATHWAYS IN *STREPTOVERTICILLIUM* SP

Karimova F.A., Ruzieva D.M., Gulyamova T.G. 65

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНОВ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ - КАРБАПЕНЕМАЗ МЕТОДОМ ГИБРИДИЗАЦИОННОГО АНАЛИЗА НА ДНК-МИКРОЧИПАХ

Халилова Ю.И., Уляшова М.М., Рубцова М.Ю., Егоров А.М. 66

CARBAPENEMASES' GENES IDENTIFICATION BY HYBRIDIZATION ANALYSIS ON DNA-MICROARRAYS

Khalilova Yu.I., Ulyashova M.M., Rubtsova M.Yu., and Egorov A.M. 66

КАТИОННЫЕ СУБМИКРОННЫЕ ЭМУЛЬСИИ В КАЧЕСТВЕ НОСИТЕЛЕЙ БАВ

Колоскова О.О., Буданова У.А., Себякин Ю.Л. 67

CATIONIC SUBMICRON EMULSIONS AS DELIVERY SYSTEM FOR BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES

Koloskova O.O., Budanova U.A., Sebyakin Yu.L. 68

БИОСЕНСОРНЫЙ СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НАГАЗЫ В КОРОВЬЕМ МОЛОКЕ ДЛЯ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ МАСТИТА КОРОВ

Кондрашина А.В., Громова М.С., Сиголаева Л.В., Курочкин И.Н. 68

ИНДУКЦИЯ ПУТЕЙ РАЗОБЩЕНИЯ ДЫХАНИЯ И ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ У КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ДИАБЕТЕ

Корнеева М.М., Башмаков В.Ю., Попов В.Н. 69

THE INDUCTION OF UNCOUPLING RESPIRATION PATHWAY IN RATS UNDO EXPERIMENTAL DIABETES

Korneeva M.M., Bashmakov V.Yu, Popov V.N. 70

ПАПАВЕРИН В СИНТЕЗЕ НОВЫХ ЛИГАНДОВ ДНК

Криворотов Д.В., Морошкина Е.Б., Леонтьева Т.В. 70

PAPAVERINE IN THE SYNTHESIS OF NEW DNA LIGANDS

D.V. Krivorotov , E.B. Moroskina , T.V. Leontyeva 71

ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, УЧАСТВУЮЩИХ В БИОСИНТЕЗЕ РЕТИНОВОЙ КИСЛОТЫ, ПРИ РАКЕ ЖЕЛУДКА

Кропотова Е.С., Опарина Н.Ю., Машкова Т.Д. 72

ALTERED EXPRESSION OF GENES INVOLVED IN RETINOIC ACID BIOSYNTHESIS IN STOMACH CANCER

Kropotova E.S., Oparina N.Yu., Mashkova T.D. 72

ЭНТЕРОСОРБЕНТ ИЗ БЕРЕЗОВОЙ КОРЫ ДЛЯ НОРМАЛИЗАЦИИ МИКРОФЛОРЫ КИШЕЧНИКА

Кузнецова С.А., Кузнецов Б.Н., Ковальчук Н.М., Веприкова Е.В., Маляр Ю.Н. 73

ENTEROSORBENT FROM BIRCH BARK FOR THE NORMALIZATION OF INTESTINAL MICROFLORA

Kuznetsova S.A., Kuznetsov B.N., Kovalchuk N.M., Veprikova E.V., Malyar Yu.N. 74

ПРИМЕНЕНИЕ МЕХАНОАКТИВАЦИИ АРАБИНОГАЛАКТАНА ЛИСТВЕННИЦЫ СИБИРСКОЙ ПРИ СИНТЕЗЕ СУЛЬФАТА АРАБИНОГАЛАКТАНА

Васильева Н.Ю., Кузнецова С.А., Кузнецов Б.Н., Сковцова Г.П., Маляр Ю.Н. 75

APPLICATION OF MECHANICAL ACTIVATION OF ARABINOGALACTAN FROM SIBERIAN LARCH FOR SYNTHESIS OF ARABINOGALACTAN SULFATES

Vasilyeva N.Yu., Kuznetsova S.A., Kuznetsov B.N., Skvortsova G.P., Malyar Yu.N. 75

ИССЛЕДОВАНИЕ ГИБЕЛИ РАКОВЫХ КЛЕТОК ИНДУЦИРОВАННОЙ СИСТЕМОЙ CD/UPRT/5-FC ПОД КОНТРОЛЕМ PBIRC5 ПРОМОТОРА

Кузьмин Д.В., Кузьмич А.И., Виноградова Т.В., Копанцев Е.П., Свердлов Е.Д. 76

STUDY OF THE PBIRC5 PROMOTER DRIVEN SUICIDE OF CANCER CELLS WITH CD/UPRT AND FLUOROCYTOSINE

Koozmin D.V., Kuzmich A.I., Vinogradova T.V., Kopantsev E.P., Sverdlov E.D. 77

ШТАММ POLYSCIAS FILICIFOLIA (MOORE EX FOURNIER) BAILEY (ARALIACEAE) КАК МОДЕЛЬ ДЛЯ БИОХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИННОВАЦИОННОЙ ТЕХНОЛОГИИ ФИТОПРЕПАРАТОВ

Кузьмина Н.С., Кириллова Н.В., Слепян Л.И. 77

THE STRAIN POLYSCIAS FILICIFOLIA (MOORE EX FOURNIER) BAILEY (ARALIACEAE) AS A MODEL FOR BIOCHEMICAL RESEARCH AND INNOVATIVE PHYTOPREPARATION TECHNOLOGY

Kuzmina n.s., Slepian l.i., Kirillova n.v. 78

ПРОДУЦИРОВАНИЕ ОКСИДА АЗОТА КЛЕТКАМИ ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ ЧЕЛОВЕКА ПОД ДЕЙСТВИЕМ ИНТЕРФЕРОНА-АЛЬФА И ВИРУСА ПРОСТОГО ГЕРПЕСА 1 ТИПА

Щегловитова О.Н., Куроптева З.В., Наглер Л.Г.,
Склянкина Н.Н., Болдырева Н.А., Байдер, Л.М., Белая О.Л. 79

PRODUCTION OF NITRIC OXIDE BY ENDOTHELIAL CELLS OF VESSELS UNDER THE INFLUENCE OF HUMAN INTERFERON-ALPHA AND HERPES SIMPLEX VIRUS TYPE 1

Shcheglovitova O.N., Kuropteva Z.V., Nagler L.G., Sklyankina N.N.,
Boldyreva N.A., Bayder L.M., Belaia O.L. 80

РАНОЗАЖИВЛЯЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ФОРМЫ РАСТИТЕЛЬНОГО СРЕДСТВА

Ламажапова Г.П., Бальхаев М.И., Жамсаранова С.Д.,
Лубсандоржиева П.-Н.Б., Николаев С.М. 81

WOUND HEALING EFFECT OF LIPOSOMAL FORM OF PLANT MEANS

Lamazhapova G.P., Balkhaev M.I., Zhamsaranova S.D.,
Lubsandorzhiya P.-N.B., Nikolaev S.M. 81

НОВЫЕ АЛКИЛЬНЫЕ КАТИОННЫЕ ГЛИЦЕРОЛИПИДЫ - ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ АГЕНТЫ

Маркова А.А., Плявник Н.В.* Штиль А.А. 82

NOVEL CATIONIC ALKYL GLYCEROLIPIDS, THE PERSPECTIVE CLASS OF ANTINEOPLASTIC AGENTS

Markova A.A., Plyavnik N.V., Shtil A.A. 83

ИНГИБИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ЛИЗОФОСФАТИДИЛХОЛИНА И ПРОДУКТОВ ГИДРОЛИЗА КАРДИОЛИПИНА НА РОСТ *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* H37RV *IN VITRO*

Микулович Ю.Л., Андреевская С.Н., Смирнова Т.Г., Сорокоумова Г.М.,
Черноусова Л.Н., Селищева А.А., Швеи В.И. 83

THE INHIBITORY ACTION OF LYSOPHOSPHATIDYLCHOLINE AND CARDIOLIPIN HYDROLYSIS PRODUCTS ON *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* H37RV GROWTH *IN VITRO*

Mikulovich J.L., Andreevskaya S.N., Smirnova T.G., Sorokoumova G.M.,
Chernousova L.N., Selishcheva A.A., Shvets V.I. 84

МИНИЗАЦИЯ КОЛИЧЕСТВА ЛИПИДОВ ПРИ ПЕРЕХОДЕ МИКОБАКТЕРИЙ В «НЕКУЛЬТИВИРУЕМОЕ» СОСТОЯНИЕ

Морозова Н.С., Назарова Е.В., Шлеева М.О., Сорокоумова Г.М.,
Селищева А.А., Капсельянц А.С., Швеи В.И. 85

THE MINIMIZATION OF LIPID'S AMOUNT WHEN MYCOBACTERIA ENTER INTO "NON-CULTARABLE" STATE

Morozova N.S., Nazarova E.V., Shleeva M.O., Sorokoumova G.M.,
Selischeva A.A., Kaprelyants A.S., Shvets V.I. 86

БИОЦИДНЫЕ АГЕНТЫ НА ОСНОВЕ ГЕМИНА, МОДИФИЦИРОВАННОГО ОСТАТКАМИ АМИНОКИСЛОТ, ПЕПТИДОВ И ИХ АНАЛОГОВ

Окороченков С.А., Желтухина Г.А., Мирчинк Е.П., Фефанов А.В., Небольсин В.Е. 86

BIOCIDAL AGENTS BASED ON HEMIN MODIFIED RESIDUES OF AMINO ACIDS, PEPTIDES AND THEIR ANALOGUES

Okorochenkova S.A., Zheltukhina G.A., Mirchink E.P., Feofanov A.V., Nebolsin V.E. 87

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА АУРЕЛИНА, МЕЧЕННОГО СТАБИЛЬНЫМ ИЗОТОПОМ N

Пантелеев П.В., Баландин С.В., Овчинникова Т.В. 88

BIOTECHNOLOGICAL PRODUCTION OF N-LABELED ANTIMICROBIAL PEPTIDE AURELIN

Panteleev P.V., Balandin S.V., Ovchinnikova T.V. 89

РАЗРАБОТКА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ С АНТИДЕПРЕССАНТНОЙ АКТИВНОСТЬЮ НА ОСНОВЕ ДИКОРАСТУЩИХ РАСТЕНИЙ СЕВЕРО-ВОСТОКА ЯКУТИИ

Поскачина Е.Р., Сивцева С.В., Ханды М.Т., Охлопкова Ж.М. 89

DESIGNING BIOACTIVE SUBSTANCES WITH ANTIDEPRESSANT POTENCY BASED ON WILD PLANTS FROM NORTH-EAST OF YAKUTIA

Poskachina E.R., Sivtseva S.V., Khandy M.T., Okhlopkova Zh.M. 90

РАЗРАБОТКА СИСТЕМЫ АДРЕСНОГО НАЦЕЛИВАНИЯ С RGD-ПРОИЗВОДНЫМ ПОЛИЭТИЛЕНГЛИКОЛЯ В КАЧЕСТВЕ АКТИВНОГО ЛИГАНДА

Работкина М.А., Себякин Ю.Л. 91

DEVELOP TARGET ADDRESS SYSTEM WITH RGD-DERIVATIVE OF POLYETHYLENE GLYCOL AS AN ACTIVE LIGAND

Rabotkina M.A., Sebyakin J.L. 91

СИНТЕЗ ПОЛИКАТИОННЫХ АМФИФИЛОВ С БИОДЕГРАДИРУЕМЫМ ТИПОМ ЛИНКЕРА

Санников О.А., Маслов М.А., Петухов И.А., Морозова Н.Г., Серебренникова Г.А. 92

SYNTHESIS OF POLYCATIONIC AMPHIPHILES WITH BIODEGRADABLE LINKER

Sannikov O.A., Maslov M.A., Petukhov I.A., Morozova N.G., Serebrennikova G.A. 93

АДЕНОЗИНТРИФОСФОРНАЯ КИСЛОТА КАК ИНДИКАТОР АКТИВНОСТИ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ – ДОНОРОВ NO

Саратовских Е.А., Психа Б.Л., Санина Н.А. 93

ADENOSINE TRIPHOSPHORIC ACID AS AN ACTIVITY INDICATOR OF POTENTIAL NO-DONATING DRUGS

Saratovskikh E.A., Psikha B.L., Sanina N.A. 94

ОСОБЕННОСТИ РАЗРАБОТКИ И ОПТИМИЗАЦИИ ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ КЛОНОВ-ПРОДУЦЕНТОВ РЕКОМБИНАНТНОГО ИНТЕРФЕРОНА-БЕТА

Серегин Ю.А., Благодатских Е.Г., Лобанова Н.В., Егоров П.А., Сауткина Е.Н., Хамитов Р.А. 95

PARTICULAR POINTS IN DEVELOPMENT AND OPTIMIZATION OF EUKARYOTIC CLONES PRODUCING RECOMBINANT INTERFERON-BETA

Seregin Y.A., Blagodatskikh E.G., Lobanova N.V., Egorov P.A., Sautkina E.N., Khamitov R.A. 95

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СИНТЕТИЧЕСКОГО УЧАСТКА S/MAR ПОВЫШАЕТ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ВЕКТОРА ДЛЯ ЭКСПРЕССИИ РЕКОМБИНАНТНОГО ЭРИТРОПОЭТИНА

Серегин Ю.А., Чувпило С.А., Копылова О.И., Благодатских Е.Г.,
Бурденный А.Н., Лобанова Н.В., Сауткина Е.Н., Носиков В.В., Хамитов Р.А. 96

APPLICATION OF SYNTHETIC S/MAR ELEMENT INCREASES EFFICIENCY OF GENETIC VECTOR FOR EXPRESSION OF RECOMBINANT ERYTHROPOIETIN

Seregin Y.A., Chuvpilo S.A., Kopylova O.I., Blagodatskikh E.G., Burdenny A.N.,
Lobanova N.V., Sautkina E.N., Nosikov V.V., Khamitov R.A. 97

СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ ПОЛИАМИДНЫХ МИМЕТИКОВ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Ширяева М.В., Никольская Е.Д., Деженков А.В., Кириллова Ю.Г. 97

SYNTHESIS AND PROPERTIES ANALYSES OF POLYAMIDE NUCLEIC ACIDS MIMICS

Shiryaeva M.V., Nikolskaya E.D., Dezhnikov A.V., Kirillova Yu.G. 98

КОНСТРУИРОВАНИЕ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СИСТЕМ С КОНТРОЛИРУЕМОЙ ДОСТАВКОЙ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ РЕЗОРБИРУЕМЫХ ПОЛИМЕРОВ

Шумилова А.А., Шишацкая Е.И.** 99

CONSTRUCTION OF NEW DRUG DELIVERY SYSTEMS WITH CONTROLLED DRUGS BASED ON RESORBABLE POLYMER

Shumilov A.A., Shishatskaya E.I. 99

РЯД НОВЫХ ДОПОЛНИТЕЛЬНЫХ ЭНДО- И ЭКЗОГЕННЫХ ФАКТОРОВ, НЕОБХОДИМЫХ ПРИ ОЦЕНКЕ РЕЗИСТЕНТНОСТИ КЛЕТКИ К СТРЕССАМ

Васильева С.В., Стрельцова Д.А. 100

A NUMBER OF NEW ADDITIONAL ENDO- AND EXOGENOUS FACTORS IMPORTANT IN THE ASSESSMENT OF CELLULAR STRESS RESISTANCE

Vasilieva S.V., Streltsova D.A. 101

АНАЛОГИ C/D БОКС РНК КАК ИНСТРУМЕНТ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

Степанов Г.А., Семенов Д.В., Кулигина Е. В., Коваль О. А., Рихтер В. А. 101

BOX C/D RNA ANALOGS AS AN INSTRUMENT OF REGULATION OF GENE EXPRESSION IN HUMAN CELLS

Stepanov G.A., Semenov D.V., Koval O.A., Kuligina E.V., Richter V.A. 102

СИНТЕЗ ГЕМИНИ-СУРФАКТАНТА НА ОСНОВЕ ДИГЛИЦЕРИДА И СПЕРМИНА ДЛЯ ДОСТАВКИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ В ЭУКАРИОТИЧЕСКИЕ КЛЕТКИ

Токарева Ю.И., Иванова Е.А., Маслов М.А., Морозова Н.Г., Серебренникова Г.А. 103

SYNTHESIS OF GEMINI-SURFACTANT BASED ON DIGLYCERIDE AND SPERMINE FOR GENE DELIVERY INTO EUKARYOTIC CELLS

Tokareva J.I., Ivanova E.A., Maslov M.A., Morozova N.G., Serebrennikova G.A. 103

ЛЕЧЕБНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВНЕШНЕМЕМБРАННЫХ ВЕЗИКУЛ *LYSOBACTER SP. XL1* В ОТНОШЕНИИ МОДЕЛЬНОЙ СИБИРЕЯЗВЕННОЙ ИНФЕКЦИИ

Шишкова Н.А., Маринин Л.И., Васильева Н.В., Ледова Л.А., Кулаев И.С.,
Цфасман И.М., Степная О.А. 104

THERAPEUTIC EFFICIENCY OF OUTER MEMBRANE VESICLES OF *LYSOBACTER SP. XL1* AGAINST MODEL ANTHRAX INFECTION

Shishkova N.A., Marinin L.I., Vasilyeva N.V., Ledova L.A., Kulaev I.S.,
Tsfasman I.M., and Stepnaya O.A. 105

БИОДЕГРАДИРУЕМЫЕ ГИДРОГЕЛИ НА ОСНОВЕ МОДИФИЦИРОВАННОЙ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ: СИНТЕЗ, СВОЙСТВА, ПРИМЕНЕНИЕ В МЕДИЦИНЕ

Зараева Г.А., Понаморева О.Н., Федорищев И.А. 105

BIODEGRADABLE HYDROGELS BASED ON MODIFIED HYALURONIC ACID: SYNTHESIS, PROPERTIES AND APPLICATION IN MEDICINE

Zaraeva G.A., Ponamoreva O.N., Fedorischev I.A. 106

ПУБЛИКАЦИИ PUBLICATIONS

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА МАЛООБЪЕМНОЙ ГЕМОПЕРФУЗИИ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ПЕРСИСТИРУЮЩЕЙ ПОДМЫШЕЧНОЙ ЛИМФАДЕНОПАТИИ

Арсениев Н.А., Буркова Н.В., Рутенбург Д.Г., Коньчев А.В., Кузнецов С.И., Глухов Н.В. 107

INTERACTION OF SORPTION MATERIALS WITH HUMAN BIOLOGICAL FLUIDS: USEFUL EFFECTS

Arseniev N.A., Burkova N.V., Rutenburg D.G., Konychev A.V., Kuznetsov S.I., Gloukhov N.V. 108

КОРРЕКЦИЯ ПОСЛЕДСТВИЙ ТЯЖЁЛЫХ ФОРМ ДЦП, СОПРЯЖЁННОГО С ВРОЖДЁННЫМИ ПОРОКАМИ РАЗВИТИЯ КОНЕЧНОГО ГОЛОВНОГО МОЗГА

Быковская Е.Ю. 108

CONSEQUENCES CORRECTION OF THE HEAVY FORMS OF CCP, ASSOCIATED WITH CONGENITAL ANOMALIES OF DEVELOPMENT OF THE FINITE BRAIN

Bykovskaja E. Yu. 110

КОРРЕКЦИЯ ПОСЛЕДСТВИЙ ТЯЖЁЛЫХ ФОРМ ДЦП, С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ОНТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ГИМНАСТИКИ И ФИКСАЦИОННОГО МАССАЖА

Быковская Е.Ю., Жуковский Ю.Г. 111

CONSEQUENCES CORRECTION OF THE HEAVY FORMS OF CCP, WITH USE OF ONTOGENETIC GYMNASTICS AND OF MASSAGE WITH FIXING

Bykovskaja E. Yu., Zhukovskii Yu.G. 112

ВЛИЯНИЕ ЦЕОЛИТСОДЕРЖАЩИХ ПРЕПАРАТОВ, ОБОГАЩЕННЫХ СЕЛЕНОМ, НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПРИ ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТАХ

Хышиктеуев Б.С., Кузнецова Н.С., Резник Ю.Н., Иванов С.А. 112

THE INFLUENCE OF ZEOLITCONTAINING DRUGS ENRICHED BY SELENIUM ON BIOCHEMICAL INDEXES IN VIRUS HEPATITIS'S

Khyshiktuev B.S., Kuznetsova N.S., Reznik J.N., Ivanov S.A. 113

ПОЛУЧЕНИЕ ТЕРМОСТАБИЛЬНОЙ ДНК-ПОЛИМЕРАЗЫ, ПРИГОДНОЙ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ПЦР-АНАЛИЗА ДНК В ОБРАЗЦАХ ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ

Коровашкина А.С., Квач С.В., Ерошевская Л.А. Зинченко А.И. 114

PRODUCTION OF THERMOSTABLE DNA POLYMERASE SUITABLE FOR WHOLE-BLOOD POLYMERASE CHAIN REACTION

Korovashkina A.S., Kvach S.V., Eroshevskaya L.A., Zinchenko A.I..... 114

АУТОАНТИТЕЛА К НЕЙРОНАЛЬНЫМ БЕЛКАМ S100, GFAP, MBP И NGF В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС С ДИАБЕТОМ, ИНДУЦИРОВАННЫМ СТРЕПТОЗОТОЦИНОМ

Лотош Н.Ю., Савельева Е.С., Селищева А.А., Савельев С.В. 115

AUTOANTIBODIES TO NEURONAL PROTEINS S100, GFAP, MBP AND NGF IN THE SERUM OF RATS WITH DIABETES INDUCED BY STREPTOZOTOCIN

N.Y. Lotosh , E.S. Savel'eva , A.A. Selishcheva , S.V. Savel'ev 116

ВЫДЕЛЕНИЕ, ОЧИСТКА И НЕКОТОРЫЕ СВОЙСТВА L-ЛИЗИН-А-ОКСИДАЗЫ ИЗ *TRICHODERMA SP. 6*

Макрушин К.В., Аринбасарова А.Ю., Крупянко В.И.,
Лукашева Е.В., Меденцев А.Г., Березов Т.Т. 117

ISOLATION, PURIFICATION AND SOME PROPERTIES OF L-LYSINE A-OXIDASE FROM *TRICHODERMA SP. 6*

Makrushin K.V., Arinbasarova A.Yu., Krupyanko V.I.,
Lukasheva E.V., Medentzev A.G., Berezov T.T. 117

ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ ТЕСТЫ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ЧЕТЫРЕХ КЛАССОВ НАРКОТИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ В ВОДНЫХ ОБРАЗЦАХ

Морозова В.С., Мягкова М.А., Морозов С.В., Пушкина В.В., Киселева Р.Ю..... 118

IMMUNOCHROMATOGRAPHIC TESTS FOR THE DETECTION OF FOUR GROUPS OF DRUGS OF ABUSE IN WATER SAMPLES

Morozova V.S., Myagkova M.A., Morozov S.V., Kiseleva R.Yu., Pushkina V.V. 119

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЕСТЕСТВЕННЫХ АНТИТЕЛ К ЭНДОГЕННЫМ БИОРЕГУЛЯТОРАМ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

Мягкова М.А., Петроченко С.Н., Гордюшенко В.В., Киселева Р.Ю., Морозова В.С., Пушкина В.В.,
Постояк Н.А. 119

COMPARATIVE DEFINITIONS OF NATURAL ANTIBODIES TO ENDOGENOUS BIOREGULATORS IN WHEY OF BLOOD OF THE PERSON BY METHOD OF IMMUNE-ENZYME ANALYSIS

Myagkova M. A., Petrochenko S.N., Gordjushenko V. V., Kiselyova R. Ju, Morozova V. S, Pushkina V. V, Postojuk N.A. 120

РАЗРАБОТКА МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЕСТЕСТВЕННЫХ АНТИТЕЛ К ЭНДОГЕННЫМ НЕЙРОМЕДИАТОРАМ ПРИ БОЛЕВОМ СИНДРОМЕ У ПАЦИЕНТОВ, СТРАДАЮЩИХ ДОРСОПАТИЕЙ ПОЯСНИЧНОГО ОТДЕЛА ПОЗВОНОЧНИКА

Мягкова М.А., Петроченко С.Н., Морозова В.С., Левашова А.И., Гордюшенко В.В., Мосейкин И.А. 121

DEVELOPMENT OF IMMUNOASSAY FOR AUTO-ANTIBODY DETECTION FOR ENDOGENOUS NEUROTRANSMITTERS IN PATIENTS WITH LOWER BACK PAIN

M.A. Myagkova , S.N. Petrochenko , V.S. Morozova , A.I. Levashova , V.V. Gordushenko , I.A. Moseykin 121

ЭНДОГЕННЫЕ АНТИМИКРОБНЫЕ ПЕПТИДЫ КАК МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ФАКТОРЫ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА И ПРОТОТИПЫ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ

Овчинникова Т.В. 122

ENDOGENOUS ANTIMICROBIAL PEPTIDES AS MOLECULAR FACTORS OF INNATE IMMUNITY AND NEW ANTI-INFECTIVE THERAPEUTICS

Ovchinnikova T.V. 123

ИММУНОБИОСЕНСОРНЫЙ АНАЛИЗ ПРОТИВОИНСУЛИНОВЫХ АНТИТЕЛ

Пивень Н.В., Лухверчик Л.Н., Бураковский А.И. 124

IMMUNOBIOSENSOR ANALYSIS OF ANTI-INSULIN ANTIBODIES

Piven N.V., Lukhverchyk L.N., Burakovski A.I. 124

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО РЕЖИМА КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ГРИБА *CANDIDA ALBICANS*

Рыбалкин Н.В., Филимонова Н.И. 125

EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF THE TECHNOLOGICAL REGIME OF THE CULTIVATION OF THE FUNGUS OF *CANDIDA* BY *ALBICANS*

Rybalkin M.V., Filimonova N.I. 126

ВЛИЯНИЕ НЕИОНОГЕННОГО ПАВ НА СВОЙСТВА ИНСУЛИН-СОДЕРЖАЩИХ ХИТОЗАНОВЫХ МИКРОКАПСУЛ, ПРИГОТОВЛЕННЫХ МИКРОЭМУЛЬСИОННЫМ СПОСОБОМ

Седякина Н.Е., Силаева А.О., Авраменко Г.В. 126

INFLUENCE OF THE NON-IONIC SURFACTANT ON THE PROPERTIES OF INSULIN-LOADED CHITOSAN MICROCAPSULES PREPARED BY MICROEMULSION METHOD

Sedyakina N.E., Silaeva A.O., Avramenko G.V. 127

ОБОСНОВАНИЕ ЛАБОРАТОРНЫХ МАРКЕРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ ХРОМОСОМНЫХ НАРУШЕНИЙ У ДЕТЕЙ В УСЛОВИЯХ АЭРОГЕННОГО ВЛИЯНИЯ ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ СРЕДЫ ОБИТАНИЯ, ОБЛАДАЮЩИХ МУТАГЕННОЙ АКТИВНОСТЬЮ	
Землянова М.А., Щербина С.Г., Секирина Н.Н.	128

SUBSTANTIATING LABORATORY MARKERS FOR EARLY DIAGNOSTICS OF CHROMOSOME DISORDERS IN CHILDREN WITH CHRONIC INHALATION EXPOSURE TO CHEMICAL ENVIRONMENTAL FACTORS HAVING MUTAGENIC ACTIVITY	
M.A. Zemlyanova, S.G. Shcherbina, N.N. Sekirina	128

ФИЗИОТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ УСТРОЙСТВА ДЛЯ ФОРМИРОВАНИЯ СОГЛАСОВАННЫХ НАВЫКОВ ХОДЬБЫ	
Жуковская В.А., Быковская Е.Ю.	129

THE PHYSIOTHERAPEUTIC DEVICES FOR FORMATION OF THE COORDINATED SKILLS OF WALKING	
Zhukovskaja V.A., Bykovskaja E.Yu.	130

ОПОРНАЯ ТРОСТЬ ДЛЯ ИНВАЛИДОВ	
Жуковская В.А., Быковская Е.Ю.	131

BASIC CANE FOR INVALIDS	
Zhukovskaja V.A., Bykovskaja E.Yu.	131

КРУГЛЫЙ СТОЛ «БИОТЕХНОЛОГИЯ И МЕДИЦИНСКАЯ ТЕХНИКА» SEMINAR “BIOTECHNOLOGY AND MEDICAL EQUIPMENT”

УЛЬТРАЗВУКОВАЯ АППАРАТУРА ХИРУРГИЧЕСКОГО И ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ. ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ	
Квашнин С.Е.	132

ULTRASONIC EQUIPMENT SURGICAL AND THERAPEUTIC PURPOSES. THE SCOPE AND PROSPECTS OF DEVELOPMENT	
Kvashnin S. E.	132

СОЗДАНИЕ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НОВЫХ ФИЗИЧЕСКИХ ПРИНЦИПОВ И ТЕХНОЛОГИЙ	
Верба В.С., Гудков А.Г., Леушин В.Ю., Попов В.В., Силкин А.Т.	133

THE ELABORATION OF MEDICAL EQUIPMENT WITH THE USAGE OF NEW PHYSICAL PRINCIPLES AND TECHNOLOGIES	
Verba V.S., Gudkov A.G., Leushin V.Y., Popov V.V., Silkin A.T.	134

СОЗДАНИЕ МАГНИТОМЯГКИХ И СУПЕРПАРАМАГНИТНЫХ ЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ ЖЕЛЕЗА ИЛИ ЕГО ОКСИДОВ ДЛЯ РЕШЕНИЯ ШИРОКОГО КРУГА БИОЛОГИЧЕСКИХ ЗАДАЧ	
Бочаров А.В., Гудков А.Г., Колпаков Н.С., Михеев В.А., Семёнов А.А., Шепелёв А.А.	134

THE ELABORATION OF M-METAL AND SUPERPARAMAGNETIC FRACTIONS ON THE BASE OF IRON AND ITS OXIDES FOR THE SOLUTIONS OF GENERAL PURPOSE BIOLOGIC ISSUES

Bocharov A.V., Gudkov A.G., Kolpakov N.S., Mischev B.A., Semenov A.A., Shepelev A.A. 135

ТРАВМА КОСТНОГО МОЗГА И УЧАСТИЕ СТВОЛОВЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК В РЕГЕНЕРАТИВНОМ ПРОЦЕССЕ

Чайлахян Р.К., Герасимов Ю.В., Генкина Е.Н., Соболев П.А., Чайлахян М.Р. 136

TRAUMA OF BONE MARROW AND PARTICIPATION OF STROMAL STEM CELLS IN REGENERATIVE PROCESS

Chailakhyan R. K., Gerasimov J.V., Genkina E.N., Sobolev P.A., Chailakhyan M.R. 136

СОРБЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В СОВРЕМЕННОЙ МЕДИЦИНЕ

Покровский С.Н. 137

SORPTION TECHNOLOGIES IN MODERN MEDICINE

Pokrovsky S.N. 138

НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ НЕИНВАЗИВНОГО МОНИТОРИНГА И КАРТИРОВАНИЯ СЕРДЕЧНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

Щукин С.И. 138

NEW TECHNOLOGY OF NONINVASIVE MONITORING AND MAPPING OF CARDIAC ACTIVITY

Shchukin S.I. 139

АЛГОРИТМЫ И ПРОГРАММНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ СКРИНИНГА ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ПРИ РАКЕ

Танас А.С., Руденко В.В., Стрельников В.В., Залетаев Д.В. 139

ALGORITHMS AND SOFTWARE FOR THE EPIGENETIC ABNORMALITIES SCREENING IN CANCER

Tanas A.S., Rudenko V.V., Kuznetsova E.B., Strelnikov V.V., Zaletaev D.V. 140

ПРИМЕНЕНИЕ ГЕПАРИНСОДЕРЖАЩЕГО ПОКРЫТИЯ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ГЕМОСОВМЕСТИМОСТИ СИСТЕМ ВСПОМОГАТЕЛЬНОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

Уваров С. П. Севастьянов В.И. Романов О. В. Немец Е.А. 140

APPLICATION OF HEPARINE-CONTAINING COATING TO IMPROVE HEMOCOMPATIBILITY OF ASSIST BLOOD CIRCULATION SYSTEMS

S.P. Uvarov , V.I. Sevastianov , O.V. Romanov , E.A. Nemets 141

НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ИЗУЧЕНИЮ РЕЗИСТЕНТНОСТИ БАКТЕРИЙ К БЕТА-ЛАКТАМНЫМ АНТИБИОТИКАМ

Егоров А.М., Рубцова М.Ю., Григоренко В.Г., Уляшова М.М., Халилова Ю.И., Игнатенко О.В.. 142

NEW APPROACHES TO THE STUDY OF BACTERIAL RESISTANCE TO BETA-LACTAM ANTIBIOTICS

A.M. Egorov, M.Yu. Rubtsova, V.G. Grigorenko, M.M. Ulyashova, Yu.I.Khalilova, O.V. Ignatenko ... 143

СЕКЦИЯ 2. «ИММУННАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ» SECTION 2. «IMMUNE BIOTECHNOLOGY»

ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ НАНОКОНСТРУКЦИЙ. РАЗРАБОТКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ НОВЫХ АЛЛЕРГОТРОПИНОВ

Шиловский И.П., Бабахин А.А., Андреев И.В., Козмин Л.Д., Хаитов М.Р., Мартынов А.И. 144

EVALUATION OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF NANOSTRUCTURES. DEVELOPMENT OF EXPERIMENTAL MODEL FOR ASSESSMENT OF EFFICACY AND SAFETY OF NOVEL ALLERGOTROPINS

Shilovskiy I.P., Babakhin A.A., Andreev I.V., Kozmin L.D., Khaitov M.R., Martynov A.I. 144

СУВЕРЕННЫЙ ИММУНИТЕТ – ОСНОВА НОВОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ

Карамов Э.В., Петров Р.В. 145

НОВЫЕ ПОДХОДЫ В ПРЕДСТАВЛЕНИИ ИММУНОДОМИНАНТНЫХ БЕЛКОВ ОБОЛОЧКИ ВИЧ 1

Сидорович И.Г., Гасанов В.А., Игнатъева Г.А. 146

NEW APPROACHES TO THE REPRESENTATION OF IMMUNODOMINANT MEMBRANE PROTEIN OF HIV-1

Sidorovich I.G., Gasanov V.A., Ignateva G.A. 147

ПЕРСПЕКТИВЫ И ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ ПРОТИВ АНТИГЕНОВ CD20 И TN В ИММУНОТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ЦЕЛЯХ

Филатов А.В. 147

PERSPECTIVES FOR POSSIBLE USE OF MONOCLONAL ANTIBODIES AGAINST CD20 AND TN IN IMMUNOTHERAPY

Filatov A.V. 148

РАЗРАБОТКА ЛИПОПОЛИСАХАРИДНОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ДИЗЕНТЕРИИ ФЛЕКСНЕРА

Львов В.Л., Лёдов В.А., Шехт М.Е., Рахманов Р.С., Ёлкина С.И., Головина М.Э.,
Апарин П.Г. 149

LIPOLYSACCHARIDE VACCINE FOR FLEXNERI SHIGELLOSIS DEVELOPMENT

L'vov V.L., Ledov V.A., Shecht M.E., Rakhmanov R.S., Elkina S.I., Golovina M.E.,
Aparin P.G. 150

ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ РНК – НОВЫЙ ПОДХОД К ПРОТИВОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ

Хаитов М.Р. 150

RNA INTERFERENCE – A NOVEL APPROACH FOR ANTIVIRAL THERAPY

M.R. Khaitov 151

ТРАНСФЕКЦИЯ В КЛЕТОЧНЫЕ ЛИНИИ, ПРОДУЦИРУЮЩИЕ IGM, КДНК СЕКРЕТОРНОГО КОМПОНЕНТА ЧЕЛОВЕКА

Самойлович М.П., Климович Б.В., Вартанян Н.Л., Пиневиц А.А., Крутецкая И.Ю., Шашкова О.А.,
Грязева И.В., Климович В.Б. 151

THE TRANSFECTION OF IGM-PRODUCING CELL LINES WITH HUMAN SECRETORY COMPONENT CDNA

Samoylovich M.P., Klimovich B.V., Vartanjan N.L., Pinevich A.A., Krutetskaja I.Y., Shashkova O.A.,
Griazeva I.V., Klimovich V.B. 152

СЕКЦИЯ 3. «БИОТЕХНОЛОГИЯ И СЕЛЬСКОЕ ХОЗЯЙСТВО» SECTION 3. "BIOTECHNOLOGY AND AGRICULTURE"

ПЛЕНАРНЫЕ ДОКЛАДЫ PLENARY REPORTS

ЭВОЛЮЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ЦЕЛОСТНОСТЬ СИМБИОЗОВ: ОТ СИСТЕМНОЙ БИОЛОГИИ К БИОТЕХНОЛОГИИ НАДВИДОВЫХ КОМПЛЕКСОВ

Проворов Н.А., Воробьев Н.И., Тихонович И.А. 153

EVOLUTIONARY AND GENETIC INTEGRITY OF SYMBIOSES: FROM SYSTEM BIOLOGY TO BIOTECHNOLOGIES OF THE OVER-SPECIES ASSOCIATIONS

Provorov N.A., Vorobyov N.I., Tikhonovich I.A. 153

ПОЛУЧЕНИЕ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ – ПРОДУЦЕНТОВ ИММУНОМОДУЛЯТОРОВ

Гусева О.В., Ткаченко А.А., Савельева Н.В., Емельянов В.В., Лутова Л.А. 154

THE MAKING OF TRANSGENIC PLANTS WHICH ARE PRODUCERS OF IMMUNOMODULATORS

Guseva O.V., Tkachenko A.A., Savelyeva N.V., Emelyanov V.V., Lutova L.A. 155

СЕКЦИЯ 3.1. «ИНТЕГРАЦИЯ ГЕНОМОВ В БИОСИСТЕМАХ – ОСНОВА ФОРМИРОВАНИЯ ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ И ЭКОЛОГИЧЕСКИ УСТОЙЧИВЫХ АГРОЦЕНОЗОВ»

SECTION 3.1. "GENOMES INTEGRATION IN BIOSYSTEMS – BASIS FOR THE FORMATION OF THE HIGH-PRODUCTIVE AND ECOLOGICALLY SUSTAINABLE AGROCENOSIS"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ ORAL REPORTS

РОЛЬ ЦИАНОБАКТЕРИЙ В ТЕХНОГЕННЫХ ЭКОСИСТЕМАХ ЮГА РОССИИ

Батаева Ю.В., Дзержинская И.С. 156

ROLE CYANOBACTERIA IN TECHNOGENIC ECOSYSTEMS OF THE SOUTH OF RUSSIA

Bataeva J.V., Dzerzhinskaya I.S. 157

ПЕРЕНОС Т-ДНК АГРОБАКТЕРИЙ В ГЕНЕРАТИВНЫЕ КЛЕТКИ КУКУРУЗЫ Чумаков М.И.	157
AGROBACTERIAL T-DNA TRANSFER TO MAIZE GAMETOPHYTE CELLS Chumakov M. I.	158
СИМБИОГЕНОМ, МИКРОБИОМ, МЕТАГЕНОМ – РАЗНЫЕ УРОВНИ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНТЕГРАЦИИ ОРГАНИЗМОВ В БИОЦЕНОЗАХ Тихонович И.А.	158
SYMBIOGENOME, MICROBIOME, METAGENOME – DIFFERENT LEVELS OF GENETIC INTEGRATION OF ORGANISMS IN BIOCENOSSES Tikhonovich I.A.	159
ФИТОРЕМЕДИАЦИЯ: ТЕХНОЛОГИЯ ИЛИ НАУЧНАЯ ПРОБЛЕМА? Турковская О.В.	159
PHYTOREMEDIATION: A TECHNOLOGY OR A SCIENTIFIC PROBLEM? Turkovskaya O.V.	160
ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ БИОРЕМЕДИАЦИИ ПОЧВ С ПОМОЩЬЮ НАТУРАЛЬНЫХ СОРБЕНТОВ Васильева Г.К., Стрижакова Е.Р.	161
ENHANCED SOIL BIOREMEDIATION THROUGH THE USE OF NATURAL ADSORBENTS Vasilyeva G.K., Strijakova E.R.	161
ИНТРОНЫ И ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ В СИСТЕМЕ ТРОЙСТВЕННОГО СИМБИОЗА (СТС) Квитко К.В., Воробьев К.П., Мигунова А.В., Андронов Е.Е.	162
INTRONS AND GENE EXPRESSION IN TRIPLE SYMBIOTIC SYSTEM (TSS) K.V. Kvitko. K.P.Vorobyev, A.V.Migunova. E.E.Andronov	163
КЛАССИЧЕСКАЯ И ОБРАТНАЯ ГЕНЕТИКА В ИЗУЧЕНИИ СИМБИОГЕНОМА БОБОВЫХ РАСТЕНИЙ Жуков В.А., Неманкин Т.А., Рычагова Т.С., Жернаков А.И., Титов В.С., Сулима А.С., Штарк О.Ю., Борисов А.Ю., Тихонович И.А.	163
CLASSICAL AND REVERSE GENETICS IN STUDYING THE SYMBIOGENOME OF LEGUME PLANTS Zhukov V.A., Nemankin T.A., Rychagova T.S., Zhernakov A.I., Titov V.S., Sulima A.S., Shtark O.Y., Borisov A.Y., Tikhonovich I.A.	164

ПОСТЕРЫ И ПУБЛИКАЦИИ POSTERS AND PUBLICATIONS

БИОЛОГИЧЕСКАЯ КОНВЕРСИЯ ОТХОДОВ ПЕРЕРАБОТКИ СЕМЯН ПОДСОЛНУХА

Баурин Д.В., Шакир И.В., Панфилов В.И. 165

BIOCONVERSION OF SUNFLOWER SEEDS PROCESSING RESIDUE

Baurin D.V., Shakir I.V., Panfilov V.I. 165

ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ ТЕПЛОВАЯ ЭНЕРГИЯ ОТХОДОВ ЛЕСОЗАГОТОВКИ

Хаматаев Р.В., Сычев А.Е., Кулюкина Е.Д., Ватник Л.Л., Акопян В.Б. 166

POTENTIAL HEAT OF WOOD WASTES

Hamataev R.V. Sitchev A.E. Kulukina E.D. Vatnik L.L. Akopyan V.B. 167

О МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ БИОУГЛЯ

Курманбаев А.А., Тапалова О.Б., Зайтова Т.Ш., Абдихалык С.Е. 167

CERTAIN ASPECTS OF BIOCHAR MICROBIOLOGICAL ACTIVITY

Kurmanbayev A.A., Tapalova O.B., Zaitova T.S., Abdikhalyk S.Y. 168

ИНТЕНСИФИКАЦИЯ КАРОТИНОГЕНЕЗА ДРОЖЖЕЙ РОДА RHODOTORULA ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ НА КОМПЛЕКСНЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ

Червякова О.П., Шакир И.В. 169

INTENSIFICATION CAROTENOGENESIS OF YEAST GENUS RHODOTORULA AT CULTIVATING ON COMPLEX NUTRIENT MEDIUM

Chervyakova O.P., Shakir I.V. 169

ИСПЫТАНИЕ ЛЕЧЕБНОЙ И ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОБИОТИКА

Гаврилова Н.Н., Ратникова И.А. 170

TEST OF THERAPEUTIC AND PREVENTIVE EFFECTIVENESS OF A PROBIOTIC

Gavrilova N.N., Ratnikova I.A. 171

ВЛИЯНИЕ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ НА АНТАГОНИСТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СТРЕПТОМИЦЕТОВ

Хамидова Х.М., Саттарова Р.К., Ходжибаева С.М. 171

THE INFLUENCE OF NUTRIENT MEDIUM ON ANTAGONISTIC PROPERTIES OF STREPTOMYCETES

Kh.M. Khamidova , R.K. Sattarova , S.M. Khodjibaeva 172

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ БАКТЕРИАЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ В ПОЙМЕННЫХ АГРОЦЕНОЗАХ

Леонтьевская Е.А. Добровольская Т.Г. 173

CHARACTERISTICS OF MICROBIAL COMPLEXES' STRUCTURE OF AGRICULTURAL FIELDS

Leontievskaya E.A. Dobrovolskaya T.G. 173

ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ, ОБРАЗУЕМЫХ БАКТЕРИЯМИ, НА РОСТ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР

Лисицкая Т.Б., Трошева Т.Д. 174

EFFECT OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES FORMED BY BACTERIA ON THE GROWTH OF CROPS

Lisitskaya T.B., Trosheva T.D. 175

ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА БЕЛКОВЫХ ГИДРОЛИЗАТОВ ИЗ МЕСТНОГО СЫРЬЯ

Мадьяров Ш.Р., Усманов П.Б., Ташмухамедов Б.А. 175

OBTAINING AND CHARACTERIZATION OF PROTEIN HYDROLYSATES FROM LOCAL RAW MATERIALS

Madyarov Sh.R., Usmanov P.B., Tashmukhamedov B.A. 176

СИНТЕЗ АНТИКОРРОЗИОННЫХ БИОЦИДОВ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ SYNTHESIS OF ANTICORRESION BIOCIDES OF NEW GENERATION

Mavloniy M.E., Nurmanov C.E. 177

АКВАКУЛЬТУРА МИКРОВОДОРОСЛЕЙ ДЛЯ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА В АНТАЛЬЕ

Фархад Сабир оглы Омаров 178

AQUACULTURE OF MICROALGAE FOR AGRICULTURE IN ANTALYA

Farhad Sabir oglu Omarov 179

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА «ВЕРБАКТИН» НА ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ ОТВЕТ РАСТЕНИЙ ХЛОПЧАТНИКА

Рузиева Д.М., Насметова С.М., Каримова Ф.А., Ташпулатов Ж.Ж.,
Ходжибаева С.М., Гулямова Т.Т. 179

INFLUENCE OF PREPARATION VERBACTIN ON ENZYMATIC RESPONSE OF COTTON PLANTS

Ruzieva D.M., Nasmetova S.M., Karimova F.A., Tashpulatov J.J.,
Khodjibaeva S.M., Gulyamova T.G. 180

СПОСОБ ЗАЩИТЫ ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА ОТ БИОТИЧЕСКИХ И АБИОТИЧЕСКИХ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ

Ветошкина Д.В., Чепурнова М.А., Бабкина Е.Е., Пиголева С.В., Захарченко Н.С. 181

WAY TO PROTECT SEED OF BIOTIC AND ABIOTIC STRESS FACTORS

Vetoshkina D., Chepurnova M., Babkina E., Pigoleva S., Zakharchenko N. 182

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА ВЕРБАКТИН НА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ В ОРОШАЕМЫХ СЕРОЗЕМНЫХ ПОЧВАХ

Золотилина Г. Д., Ходжибаева С. М., Федорова О. А., Ташпулатов Ж. Ж. 182

VERBACTIN INFLUENCE ON MICROBIOLOGICAL ACTIVITY OF IRRIGATED SEROZYOM SOILS

Zolotilina G.D., Khodjibaeva S.M., Fedorova O.A., Tashpulatov J.J. 183

ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ КЛЕТОК РИЗОБАКТЕРИЙ P. BACILLUS, ОБЛАДАЮЩИХ ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНЫМИ СВОЙСТВАМИ

Закирьяева С.И., Джуманиязова Г.И. 184

THE PHYSIOLOGICAL ACTIVITY OF THE IMMOBILIZED CELLS OF RHIZOBACTERIA OF G. BACILLUS POSSESSING POLYFUNCTIONAL PROPERTIES

S.I. Zakiryaeva, G.I. Djumaniyazova 184

ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОГО БИОПРЕПАРАТА КОМПЛЕКСНОГО ДЕЙСТВИЯ НА СНИЖЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ТОКСИЧНЫХ СОЛЕЙ В ЗАСОЛЕННЫХ ПОЧВАХ

Джуманиязова Г.И., Нарбаева Х.С., Закирьяева С.И., Бабина А.Е. 185

THE INFLUENCE OF BACTERIAL BIOPREPARATION WITH COMPLEX EFFECTS ON DECREASING THE CONTENTS OF TOXIC SALTS IN THE SALINE SOILS

G.I. Djumaniyazova, Kh.S. Narbaeva, S.I. Zakiryaeva, A.E. Babina..... 186

КРУГЛЫЙ СТОЛ «БИОТЕХНОЛОГИЯ И ЖИВОТНОВОДСТВО» SEMINAR “BIOTECHNOLOGY AND ANIMAL BREEDING” КРУГЛЫЙ СТОЛ «БИОТЕХНОЛОГИЯ И ВЕТЕРИНАРНАЯ МЕДИЦИНА» SEMINAR “BIOTECHNOLOGY AND VETERINARY MEDICINE”

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ ORAL REPORTS

ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ПРОТЕИНОВ ИНДУСТРИАЛЬНОГО И ВЕТЕРИНАРНОГО НАЗНАЧЕНИЯ НА ОСНОВЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСПРЕССИОННЫХ ПЛАТФОРМ НА ПРИМЕРЕ ЭКСПРЕССИИ ПЕПТИДА М2Е ГРИППА ПТИЦ ДЛЯ СОЗДАНИЯ УНИВЕРСАЛЬНОЙ ПРОТИВОГРИППОЗНОЙ ВАКЦИНЫ

Фирсов А.П., Тарасенко И.В., Митюшкина Т.Ю., Таранов А.И., Долгов С.В. 187

PRODUCTION OF RECOMBINANT PROTEINS FOR INDUSTRIAL AND VETERINARY PURPOSES BASED ON PLANT EXPRESSION PLATFORMS BY THE EXAMPLE OF AVIAN INFLUENZA M2E PEPTIDE EXPRESSION TO DEVELOPMENT A UNIVERSAL INFLUENZA VACCINE

Firsov A.P., Tarasenko I.V., Mitioushkina T.Y., Taranov A.I., Dolgov S.V. 188

РОЛЬ МИКРООРГАНИЗМОВ В ДЕТОКСИКАЦИИ УСТОЙЧИВЫХ ПОЛЛЮТАНТОВ

Головлева Л.А. 188

THE ROLE OF MICROORGANISMS IN DETOXIFICATION OF PERSISTENT POLLUTANTS	
Golovleva L.A.....	189

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД МИНИМИЗАЦИИ ПЕСТИЦИДНОГО СТРЕССА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР

Горовая А.И., Лисицкая С.М., Павличенко А.В., ...	190

BIOTECHNOLOGICAL METHOD OF MINIMIZATION OF PESTICIDE STRESS OF AGRICULTURAL CROPS

Gorova A.I., Lysytska S.M., Pavluchenko A.V.....	190

БИОТРАНСФОРМАЦИЯ СИСТЕМ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА И ПОЛИМЕТИЛАКРИЛАТА ПОД ДЕЙСТВИЕМ МИКРОМИЦЕТОВ

Калашников И.Н., Урьяш В.Ф., Смирнова Л.А., Кокурина Н.Ю., Мочалова А.Е., Смирнов В.Ф., Смирнова О.Н., Ларина В.Н.	191

BIOTRANSFORMATION OF SYSTEMS BASED ON CHITOSAN AND POLYMETHYLACRYLATE UNDER THE ACTION OF FUNGI

Kalashnikov I.N., Uryash V.F., Kokurina N.Yu., Smirnova L.A., Mochalova A.E., Smirnov V.F., Smirnova O.N., Larina V.N.....	192

ЭЛЕКТРОСЛИЯНИЕ КОНСТРУКЦИЙ ЦИТОПЛАСТ – ФЕТАЛЬНЫЙ ФИБРОБЛАСТ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В РАСТВОРЕ БЕЗ СОЛЕЙ КАЛЬЦИЯ

Маленко Г.П., Комиссаров А.В., Степанов О.И.	192

ELECTROFUSION OF BOVINE ZONA FREE CYTOPLAST-FETAL FIBROBLAST CONSTRUCTIONS IN THE CA-FREE MEDIUM

G.P. Malenko, A.V. Komissarov, and O.I. Stepanov.....	193

МОДИФИЦИРОВАНИЕ ПОВЕРХНОСТИ НАНОПОРИСТОГО УГЛЕРОДНОГО СОРБЕНТА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫМ КОМПОНЕНТОМ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ПТИЦЕВОДСТВЕ

Лихолобов В. А., Лавренев А.В., Пьянова Л.Г., Седанова А.В.	194

SURFACE MODIFICATION OF NANOPOROUS CARBON SORBENT WITH BIOLOGICALLY ACTIVE COMPONENT FOR USE IN POULTRY BREEDING

V.A. Likholobov, A.V. Lavrenov, L.G. P'yanova, A.V. Sedanova.....	194

УПРАВЛЯЕМЫЕ ПРОЦЕССЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Раевский А.А., Самуйленко А. Я., Школьников Е. Э., Павленко И. В.....	195

CONTROLLED PROCESSES OF MICROORGANISMS CULTIVATION BY MANUFACTURE OF BACTERIAL PREPARATIONS

Raevskiy A.A., Samuilenko A. Ja, Shkolnikov E. E, Pavlenko I.V.....	196

БИОТЕХНОЛОГИЯ - ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ ЧЕЛОВЕЧЕСТВА

Самуйленко А.Я., Гринь С.А., Еремец В.И., Пухова Н.М., Чичелеишвили Г.Д.	196

BIOTECHNOLOGY - RESERVING FOR MANKIND

Samujlenko A.J., Grin S.A., Eremets V. I, Puhova N.M., Chicheleishvili G. D..... 197

НОВЫЕ КЛЕТОЧНЫЕ СИСТЕМЫ В БИОТЕХНОЛОГИИ ЖИВОТНЫХ

Савченкова И.П. 198

NEW CELLULAR SYSTEMS IN BIOTECHNOLOGY OF ANIMALS

Savchenkova I.P. 198

СОЗДАНИЕ И АПРОБАЦИЯ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ ТЕСТОВ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БРУЦЕЛЛЕЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Сотников Д.В., Бызова Н.А., Жердев А.В., Ескендинова С.З., Балтин К.К., Дзантиев Б.Б. 199

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF IMMUNOCHROMATOGRAPHIC TEST-SYSTEMS FOR THE DIAGNOSIS OF BOVINE BRUCELLOSIS

Sotnikov D.V., Byzova N.A., Zherdev AV , Eskendirova S.Z., Baltin K.K., Dzantiev B.B. 200

МЕТОДЫ БИОТЕХНОЛОГИИ В СОЗДАНИИ НОВЫХ ГЕНОТИПОВ САДОВЫХ РАСТЕНИЙ

Высоцкий В.А., Алексеенко Л.В. 200

BIOTECHNOLOGICAL TECHNIQUES FOR NEW GENOTYPES OF HORTICULTURAL PLANTS CREATION

Vysotskyi V.A., Alekseenko L.V. 201

**ПОСТЕРЫ И ПУБЛИКАЦИИ
POSTERS AND PUBLICATIONS****РАЗРАБОТКА БИЗНЕС-МОДЕЛИ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ФИРМЫ ООО «ДНК-ТЕСТ»**

Беляева Марина Александровна..... 202

WORKING OUT OF BUSINESS MODEL OF ACTIVITY OF FIRM OF OPEN COMPANY «DNA – TEST»

Belyaeva Marina 203

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ШТАММОВ ВИРУСА БЕШЕНСТВА

Чернов А.Н., Иванов А.В., Хисматуллина Н.А., Юсупов Р.Х..... 204

BIOLOGICAL FEATURES OF RABIES VIRUS STRAINS

Chernov A.N., Ivanov A.V., Khismatullina N.A., Yusupov R.Kh. 204

БОЛЕЗНЬ АУЕСКИ, СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ СРЕДСТВ ДИАГНОСТИКИ

Чернов А.Н., Иванов А.В., Юсупов Р.Х., Хисматуллина Н.А., Мифтахов Н.Р. 205

AUJESZKY'S DISEASE DIAGNOSTIC METHODS IMPROVEMENT

Chernov A.N., Ivanov A.V., Khimatullina N.A., Yusupov R.Kh., Miftakhov N.R. 206

НОВЫЕ ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ И ВИРУСОВ

Плотникова Э.М., Гурьянов Н.И., Ганиев И.М.,
Хамзина Е.Ю., Кириллова Ю.М., Хусаенов Р.Х. 206

NEW NUTRIENT MEDIUMS FOR CULTIVATED CELLS OF ANIMAL INCUBATION AND VIRUSES

E.M. Plotnikova, N.I. Guryanov, I.M. Ganiev, E.Y. Khamzina, Y.M. Kirillova, R.K. Khusaenov 207

ИЗУЧЕНИЕ МЕТОДОМ ВЭЖХ ИЗМЕНЕНИЯ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ХИТОЗАНА И ПРИМЕСНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ПРЕПАРАТАХ ХИТОЗАНА ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ХРАНЕНИИ

Хабаров В.Б., Пронин А.Я., Самуйленко А.Я., Буряк А.К. 207

ANALYSIS BY HPLC METHOD OF THE CHANGES IN THE PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERISTICS OF CHITOSAN AND OF THE IMPURITY ADMIXTURES IN CHITOSAN PREPARATIONS DURING LONG-TERM STORAGE

V.B. Khabarov , Pronin A.Ya., Samuilenko A.Ya., Buryak A.K. 209

КЛЕТОЧНАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ В РЕШЕНИИ ПРОДОВОЛЬСТВЕННОЙ ПРОГРАММЫ

Гильмутдинов Р.Я., Иванов А.В. 210

CELLULAR BIOTECHNOLOGY IN THE FOOD PROGRAMME DECISION

Gilmutdinov R. Ja, Ivanov A.V. 211

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ ТОРФОВ

Инишева Л.И., Гостищева М.В. 211

PHARMACOLOGICAL STUDY OF PEAT HUMIC ACIDS

Inisheva L.I., Gostischeva M.V. 212

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРОСТАГЛАНДИНСИНТАЗНОЙ СИСТЕМЫ ОВЕЦ ДЛЯ СОЗДАНИЯ БИОТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ПРОСТАГЛАНДИНОВ

Бейсембаева Р.У., Карпенюк Т.А., Гончарова А.В. 213

ESTIMATION OF EFFICIENCY OF USE THE SHEEP PROSTAGLANDINE-SYNTHASE SYSTEM FOR CREATION OF PROSTAGLANDIN RECEIVING BIOTECHNOLOGY

Bejsembaeva R.U., Karpenyuk T.A., Goncharova A.V. 214

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПОЛУЧЕНИЯ СИНБИОТИЧЕСКИХ КОМПЛЕКСОВ ДЛЯ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА

Неминушая Л.А., Самуйленко А.Я., Воробьева Г.И., Титова Е.И., Еремец О.В. 215

BIOTECHNOLOGICAL ASPECTS OF PRODUCTION OF SYMBIOTICAL COMPLEXES FOR AGRICULTURE

Neminushchaja L.A., Samujlenko A.J., Vorobjeva G. I, Titova E.I., Eremets O.V. 215

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ПЕРВИЧНОЙ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК ЛЭК К ВИРУСАМ

Плотникова Э.М., Хамзина Е. Ю., Кириллова Ю.М., Чернов А.Н. 216

DETERMINATION OF SENSIBILITY OF PRIMARY CULTURES OF CELLS LEK TO VIRUSES

Э.М. Plotnikova, E.Y. Khamzina, J.M. Kirillova, A.N.Chernov 217

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ STREPTOMYCES ORNATUS S1220 ПРИ ПЕРЕРАБОТКЕ ОТХОДОВ ПТИЦЕПЕРЕРАБАТЫВАЮЩЕЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Полетаев А.Ю. 217

STUDYING OF POSSIBILITY OF USE STREPTOMYCES ORNATUS S1220 AT PROCESSING OF A WASTE OF POULTRY PROCESSING THE INDUSTRIES

Poletaev A.U. 218

ОЦЕНКА СТАБИЛЬНОСТИ ПРОИЗВОДСТВА ВАКЦИН ДЛЯ ВЕТЕРИНАРИИ

Скотникова Т.А., Самуйленко А.Я., Неминушая Л.А., Токарик Э.Ф., Еремец Н.К. 218

ESTIMATION OF STABILITY OF MANUFACTURE OF VETERINARY VACCINES

Skotnikova T.A., Samujlenko A.J., Neminushchaja L.A., Tokarik E.F., Eremets V. I. 219

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ОПАСНОСТЬ КОРМОВ И КОРМОВЫХ ДОБАВОК, ЗАГРЯЗНЕННЫХ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ В РАЦИОНАХ ЖИВОТНЫХ

Лесова Ж.Т., к.т.н., доцент, Свамбаев А., д.б.н., профессор; Свамбаев Ж. А., Свамбаев Е. А., Тусупбекова С.Т., Султанбеков Г.А. с.н.с. 220

ECOLOGICAL DANGER OF FORAGES AND FODDER ADDITIVES POLLUTED WITH HEAVY METALS IN DIETS OF ANIMALS

Lesova Z.T., Cand.Biol.Sci., Svambayev Amanbek., Svambayev Zhassulan Amanbekovich, Svambayev Yerkebulan Amanbekovich, Tusupbekova Sania Temirgalievna, Sultanbekov Galymbek Adilbekovich 220

НОВЫЙ ПРОБИОТИЧЕСКИЙ ПРЕПАРАТ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ЭНТЕРИТОВ И РЕСПИРАТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Сверчкова Н.В., Колосовская М.С., Романовская Т.В. Жук Г.В., Коломиец Э.И., Красочко П.А., Ломако Ю.В. 221

NEW PROBIOTIC FOR PREVENTION AND TREATMENT OF ENTERITIS AND RESPIRATORY DISEASES OF FARM STOCK

Sverchkova N.V., Kolosovskaya M.S., Romanovskaya T.V., Zhuk G.V., Kolomiets E.I., Krasochko P.A., Lomako Y.V. 222

ВЛИЯНИЕ ДОБАВОК БЕНТОНИТОВ В КОРМА СОДЕРЖАЩИЕ ХЛОПКОВЫЙ ШРОТ НА ПРИВЕС БРОЙЛЕРОВ

Вешкурова О.Н., Максимов В.В., Султанова Э.М., Узбеков В.В., Салихов Ш.И., Исматова Р.А., Хайтов В.Р., David A. Laird 222

INFLUENCE OF BENTONITE FEED ADDITIVES ON BROILER WEIGHT GAIN FOR DIETS CONTAINING COTTONSEED CAKE

Veshkurova O.N., Maksimov V.V., Sultanova E.M., Uzbekov V.V., Salikhov Sh.I.,
Ismatova R.A., Haitov V.R., David A. Laird 223

РАЗРАБОТКА МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВАКЦИН ПРОТИВ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ПАСТЕРЕЛЛЕЗА, РАСПРОСТРАНЕННЫХ В УЗБЕКИСТАНЕ

Ахунов А.А., Вшивков С.О., Пшеничных Е.А., Хашимова Н.Р.,
Эльмуратов Б.А., Пурди Ч.У. 224

DEVELOPMENT OF THE METHOD FOR EFFICIENCY CONTROL OF VACCINES AGAINST PASTEURELLOSIS AGENTS INDIGENOUS IN UZBEKISTAN

Akhunov A.A., Vshivkov S.O., Pshenichnov E.A., Khashimova N.R.,
Elmuradov B.A., Purdy Ch.W. 225

КРУГЛЫЙ СТОЛ «КЛЕТОЧНАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ В СЕЛЕКЦИИ РАСТЕНИЙ НА УСТОЙЧИВОСТЬ К ПАТОГЕНАМ» SEMINAR “CELLULAR BIOTECHNOLOGY IN THE SELECTION OF THE PLANTS FOR THE PATHOGENS RESISTANCE”

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ ORAL REPORTS

GENETICALLY MODIFIED AGRICULTURAL PRODUCTS – SAFETY ASSESSMENT AND PATH TO MARKET

Natalia N. Bogdanova 226

НОВИЗНА ПРИЗНАКА, ОПРЕДЕЛЯЮЩЕГО ХЛЕБОПЕКАРНЫЕ СВОЙСТВА, ПОЛУЧЕННОГО С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА ХИМИЧЕСКОГО МУТАГЕНЕЗА НА ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЕ

Эйгес Н.С., Волченко Г.А., Кузнецова Н.Л., Вайсфельд Л.И.,
Упельник В.П., Артамонов В.Д., Волченко С.Г. 227

THE NOVELTY OF CHARACTER, DETERMINING BRED BAKING PROPERTIES OF WINTER WHEAT, OBTAINED USING THE METHOD OF CHEMICAL MUTAGENESIS

Eiges N.S., Volchenko G.A., Kusnetsova N.L., Weisfeld L.I.,
Upelnik V.P., Artamonov V.D., Volchenko S.G. 227

БИОТЕХ ПШЕНИЦА: СОЗДАНИЕ, БИОБЕЗОПАСНОСТЬ И ПЕРСПЕКТИВЫ В РОССИИ

Мирошниченко Д.Н., Долгов С.В. 228

BIOTECH WHEAT: DEVELOPMENT, BIOSAFETY AND FUTURE PROSPECTS IN RUSSIA

Miroshnichenko D.N and Dolgov S.V. 229

SILICON AND ITS ABILITY TO IMPROVE DROUGHT STRESS TOLERANCE IN BARLEY (*HORDEUM VULGARE* L.) CULTIVARS AT DIFFERENT DEVELOPMENTAL STAGES

Raheem Haddad, Zahra Moshiry, Ramin Hosseini 229

РАЗРАБОТКА БЫСТРЫХ ИММУНОХИМИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ОПРЕДЕЛЕНИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ ВИРУСОВ

Сафенкова И.В., Бызова Н.А., Чирков С.Н., Жердев А.В., Дзантиев Б.Б., Атабеков И.Г. 230

DEVELOPMENT OF RAPID METHODS FOR IMMUNOCHEMICAL DETECTION OF PLANT VIRUSES

Safenkova I.V., Byzova N.A., Chirkov S.N., Zherdev A.V., Dzantiev B.B., Atabekov I.G. 231

ПОСТЕРЫ И ПУБЛИКАЦИИ POSTERS AND PUBLICATIONS

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ТОТАЛЬНО МЕЧЕННОГО СТАБИЛЬНЫМИ ИЗОТОПАМИ ЛИПИД-ТРАНСПОРТИРУЮЩЕГО БЕЛКА ЧЕЧЕВИЦЫ

Богданов И.В., Финкина Е.И., Баландин С.В., Рыбалко А.Е., Овчинникова Т.В. 232

BIOTECHNOLOGICAL UNIFORM STABLE ISOTOPE LABELING OF LENTIL LIPID TRANSFER PROTEIN

Bogdanov I.V., Finkina E.I., Balandin S.V., Rybalko A.E., Ovchinnikova T.V. 232

ОТЗЫВЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ НУТА НА ДВОЙНУЮ ИНОКУЛЯЦИЮ В УСЛОВИЯХ ОРЛОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Донская М.В., Суворова Г.Н., Васильчиков А.Г. 233

RESPONSE OF CHICKPEA PLANTS TO DOUBLE INOCULATION IN OREL REGION

Donskaya M.V., Suvorova G.N., Vasilchikov A.G. 234

ПОДБОР РОДИТЕЛЬСКИХ ПАР ДЛЯ ГИБРИДИЗАЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДНК - МАРКЕРОВ

Федулова Т.П., Богомолов М.А., Богачева Н.Н.,
Жужжалова Т.П., Федорин Д.Н., Ошевнев В.П., Хуссейн А.С. 234

ПОДБОР РОДИТЕЛЬСКИХ ПАР ДЛЯ ГИБРИДИЗАЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДНК - МАРКЕРОВ

T.P. Fedulova, M.A. Bogomolov, N.N. Bogachova,
T.P. Zhuzhzhhalova, D.N. Fedorin, V.P. Oshevnev, A.S. Hussein 235

ОТВЕТ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ РАПСА (*BRASSICA NAPUS* L.), СОДЕРЖАЩИХ ВСТРОЕННЫЙ ГЕН РИСА *OSMYB4*, НА ДЕЙСТВИЕ ПОНИЖЕННОЙ ПОЛОЖИТЕЛЬНОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ

Гомаа А., Бурмистрова Н.А., Радионов Н.В., Ралдугина Г.Н. 236

THE RESPONSE OF TRANSGENIC *BRASSICA NAPUS* PLANTS EXPRESSING A MYB4 GENE FROM RICE (*ORYZA SATIVA*) TO LOW TEMPERATURE

Gomaa A., Burmistrova N.A., Radionov N.V., Raldugina G.N. 236

КЛОНАЛЬНОЕ МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ ЭНДЕМИКА СЕВЕРНОГО КАВКАЗА *MENTHA LONGIFOLIA*(L.) HUDS

Губаз С.Л., Рыбалко А.А. 237

ОПТИМИЗАЦИЯ СВЕТОВОГО РЕЖИМА ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ ОЗДОРОВЛЕННЫХ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ <i>IN VITRO</i> С ЦЕЛЬЮ ПОВЫШЕНИЯ ПРОДУКЦИОННОГО ПРОЦЕССА	
Дорофеев В.Ю., Медведева Ю.В., Карначук Р.А.	238
OPTIMIZATION OF LIGHT CONDITIONS DURING CULTIVATION OF TORMALIZED INITIAL MATERIAL OF POTATO PLANTS <i>IN VITRO</i> IN ORDER TO IMPROVE THE PRODUCTION PROCESS	
Dorofeev, V., Medvedev Yu.V., Karnachuk R.A.	238
АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ И ПАСПОРТИЗАЦИЯ ГОРОХА ПОСЕВНОГО (<i>PISUM SATIVUM L.</i>) С ПОМОЩЬЮ ДНК – ТЕХНОЛОГИЙ ОСНОВАННЫХ НА РЕТРОТРАНСПОЗОНАХ	
Кокаева Л.Ю., Кокаева З.Г., Алешин А.В., Кокаев Ю. И.	239
THE ANALYSIS OF A GENETIC VARIETY AND CERTIFICATION OF GARDEN PEA (<i>PISUM SATIVUM L.</i>) USING DNA - TECHNOLOGIES BASED ON RETROTRANSPOSONS	
Kokaeva L.Y., Kokaeva Z.G., Aleshin A.V., Kokaev Y.I.	240
ВЛИЯНИЕ МЕТАБОЛИТОВ ГРИБОВ РОДА <i>TRICHODERMA</i>, СЕКРЕТИРУЕМЫХ ПРИ ТВЁРДОФАЗНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ, НА РОСТ И РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ.	
Корнилова Н.А., Филиппов И.Г., Марквичёв Н.С.	240
THE INFLUENCE OF THE METABOLITES OF <i>TRICHODERMA</i> PRODUCED AT THE SOLID-STATE FERMENTATION ON THE GROWTH AND DEVELOPMENT OF THE PLANTS	
Kornilova N.A., Filippov I.G., Markvichev N.S.	241
РАЗРАБОТКА ПРИЕМОВ СОЗДАНИЯ «ИСКУССТВЕННЫХ СЕМЯН» ЗЕМЛЯНИКИ САДОВОЙ (<i>FRAGARIA X ANANASSA DUCH.</i>)	
Куликов И.М., Алексеенко Л.В., Белякова Л.В., Высоцкая О.Н., Высоцкий В.А.	241
ELABORATION OF THE TECHNIQUE FOR STRAWBERRY (<i>FRAGARIA X ANANASSA DUCH.</i>) “ARTIFICIAL SEEDS” CREATION.	
Kulikov I.M., Alekseenko L.V., Belyakova L.V., Vysotskaya O.N., Vysotsky V.A.	242
ОСОБЕННОСТЬ ДЕЙСТВИЯ ЭНДОФИТНОГО ШТАММА <i>BACILLUS SUBTILIS</i>, КАК ОСНОВЫ БИОФУНГИЦИДА, НА РАСТЕНИЯ ПШЕНИЦЫ	
Курамшина З.М., Смирнова Ю.В., Андреева И.Г., Гареева Л.Ф., Хайруллин Р.М.	243
THE PECULIARITY OF THE EFFECT OF THE ENDOPHYTIC STRAIN <i>BACILLUS SUBTILIS</i> AS THE BASIS OF BIOFUNGICIDE ON <i>TRITICUM AESTIVUM L</i>	
Kuramshina Z.M., Smirnova J.V., Andreyeva I. G., Gareyeva L.F., Khairullin R. M.	243
СТРАТЕГИЯ БИОКОНТРОЛЯ ЧИСЛЕННОСТИ ТУТОВОЙ ОГНЕВКИ <i>GLYPHODES PYLOALIS WLK</i>	
Мадьяров Ш.Р.	244

STRATEGY OF MULBERRY PYRALID *GLYPHODES PYLOALIS* WLK BIOCONTROL

Madyarov Sh.R. 245

ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА БЕЛКОВЫХ ГИДРОЛИЗАТОВ ИЗ МЕСТНОГО СЫРЬЯ

Мадьяров Ш.Р., Усманов П.Б., Ташмухамедов Б.А. 246

OBTAINING AND CHARACTERIZATION OF PROTEIN HYDROLYSATES FROM LOCAL RAW MATERIALS

Madyarov Sh.R., Usmanov P.B., Tashmukhamedov B.A. 247

ИЗУЧЕНИЕ СВЯЗЫВАНИЯ ЛИПИД-ТРАНСПОРТИРУЮЩЕГО БЕЛКА ЧЕЧЕВИЦЫ С ЛИПИДАМИ

 Мельникова Д.Н., Финкина Е.И., Болдырев И.А.,
 Стукачева Е.А., Водовозова Е.Л., Овчинникова Т.В. 248

STUDY OF THE BINDING OF LENTIL LIPID TRANSFER PROTEIN WITH LIPIDS

 Melnikova D.N., Finkina E.I., Boldyrev I.A.,
 Stukacheva E.A., Vodovozova E.L., Ovchinnikova T.V. 248

НОВЫЙ ЛИПИД-ТРАНСПОРТИРУЮЩИЙ БЕЛОК ИЗ ПЛОДОВ *CITRUS NATSUDAIDAI*

 Павлова Л.Е., Мельникова Д.Н., Финкина Е.И.,
 Баландин С.В., Рыбалко А.Е., Овчинникова Т.В. 249

A NOVEL LIPID-TRANSFER PROTEIN FROM FRUITS OF *CITRUS NATSUDAIDAI*

Pavlova L.E., Melnikova D.N., Finkina E.I., Balandin S.V., Rybalko A.E., Ovchinnikova T.V. 250

СОЗДАНИЕ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ОСИНЫ *POPULUS TREMULA* С ГЕНОМ КСИЛОГЛЮКОНАЗЫ XEG1 И ИНВЕРТИРОВАННЫМИ ПОВТОРАМИ ГЕНА 4-КУМАРАТ СОА ЛИГАЗЫ

А.С.Подрезов, К.А.Шестибратов 250

THE CREATION OF ASPEN (*POPULUS TREMULA*) TRANSGENIC PLANTS CONTAINING XYLOGLUCONASE GENE XEG1 AND INVERTED REPEATS OF 4-COUMARATE:COENZYME A LIGASE GENE

A.S.Podrezov, K.A.Schestibratov 251

ТРАНСГЕННЫЕ РАСТЕНИЯ КАРТОФЕЛЯ, НЕСУЩИЕ ГЕН ДЕСАТУРАЗЫ ЖИРНЫХ КИСЛОТ, И ИХ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Прядехина Е.В., Юрьева Н.О., Лапшин П.В., Нечаева Т.Л., Загоскина Н.В. 252

TRANSGENIC POTATO PLANTS, COMPRISING THE GENE OF FATTY ACID DESATURASE, AND THEIR PHYSICALLY-BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS

Pryadehina E.V., Yurieva N.O., Lapshin P.V., Nechaeva T.L., Zagoskina N.V. 252

CLONING AND IDENTIFICATION OF PHYSICOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF 1-AMINOCYCLOPROPANE-1-CARBOXYLATE OXIDASE1 GENE FROM TOMATO (*LYCOPERSICON ESCULENTUM* L. CV, MEMORY I)

Raheem Haddad, Zohreh jafari 253

ANALYSIS OF EXON-INTRON ORGANIZATION IN *H*-TYPE THIOREDOXIN GENES OF GRAPE (*VITIS VINIFERA* L. CV. ASKARI)

Raheem Haddad, Reza Heidari Japelaghi and Ghasem-Ali Garoosi 254

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НАНОКОМПОЗИТОВ, ИЗГОТОВЛЕННЫХ ИЗ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОТХОДОВ, В КУЛЬТУРЕ ИЗОЛИРОВАННЫХ ЗАРОДЫШЕЙ ЯЧМЕНЯ

Шестопалова Н.С., Зобова Н.В. 254

BIOLOGICAL ACTIVITY INVESTIGATION OF PRODUCED FROM PLANT WASTES NANOCOMPOSITES IN SEPARATED BARLEY EMBRYOS CULTURE

Shestopalova N.S., Zobova N.V. 255

ТЕХНОЛОГИЯ СЕЛЕКЦИИ СТРЕССОУСТОЙЧИВЫХ ФОРМ МЯГКОЙ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ В КАЛЛУСНОЙ КУЛЬТУРЕ

Ступко В.Ю. 256

CALLUS CULTURE TECHNOLOGY OF SPRING SOFT WHEAT STRESS TOLERANT VARIETIES SELECTION

Stupko V.Ju. 256

СОЗДАНИЕ УСТОЙЧИВЫХ К ПАРШЕ СОРТОВ ЯБЛОНИ ИНТЕНСИВНОГО ТИПА С ПРИМЕНЕНИЕМ МОЛЕКУЛЯРНОЙ СЕЛЕКЦИИ

Супрун И.И., Ушакова Я.В., Ульяновская Е.В. 257

DEVELOPMENT OF SCAB RESISTANT APPLE CULTIVARS OF INTENSIVE TYPE USING MOLECULAR BREEDING APPROACHES

Suprun I.I., Ushakova Y.V., Ulianovskaya E.V. 258

АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ЯБЛОЧНОЙ МЕЗГИ - ПОКАЗАТЕЛЬ КАЧЕСТВА БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО СЫРЬЯ НА ПРИМЕРЕ ЭСТОНИИ И КАЛИНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

Чупахина Н.Ю., Тынутае Т., Моор У., Полтавская Р.Л., Мансурова Е.В. 258

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF APPLE PULP AS AN INDICATOR OF QUALITY OF BIOTECHNOLOGICAL RAW MATERIAL BY THE EXAMPLE OF ESTONIA AND THE KALININGRAD REGION

Tchupakhina N. U., Tõnutare T., Moor U., Poltavskaya R.L., Mansurova E.V. 259

МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ ЭНДЕМИКА СЕВЕРНОГО КАВКАЗА *DIANTHUS IMERTICUS* (RUPR.) SCHISCHK

Тохчуков З.З., Рыбалко А.А. 260

ПРИМЕНЕНИЕ ГАПЛОИДНОЙ ТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ЗАСУХОУСТОЙЧИВЫХ ФОРМ И СОРТОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

Турашева С.К. 260

APPLY HAPLOID TECHNOLOGY FOR CREATION OF DROUGHT RESISTANT SOFT WHEAT CULTIVARS

Turasheva S.K. 261

SSR-ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ПОДВОЕВ ЯБЛОНИ РОССИЙСКОЙ СЕЛЕКЦИИ

Ушакова Я.В., Супрун И.И. 262

SSR-GENOTYPING OF RUSSIAN APPLE ROOTSTOCK CULTIVARS

Ushakova Y.V., Suprun I.I. 263

ГЕЛИОЦИДЫ КАК МАРКЁРЫ В СЕЛЕКЦИИ ИНСЕКТОУСТОЙЧИВЫХ СОРТОВ ХЛОПЧАТНИКА

Узбеков В.В., Вешкурова О.Н., Абдурахимов Р.Ш., Намазов Ш.Э.,
Стипановик Р.Д., Салихов Ш.И. 263

HELIOCIDES AS MARKERS IN SELECTION OF INSECT RESISTANT COTTON VARIETIES

V.V. Uzbekov , O.N. Veshkurova , R.S. Abdurakhimov ,
S.E. Namazov , R.D. Stipanovic , S.I. Salikhov 264

КОМПЛЕКСНЫЙ БИОПРЕПАРАТ ДЛЯ СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ растений И УСКОРЕННОГО ИХ РОСТА

Винаров А.Ю., Смирнов В.Н., Румянцева Т.А., Ковальский Ю.В., Дирина Е.Н. 265

THE COMPLEX BIOPREPARATE FOR INCREASING GROWTH AND STRESS STABILITY OF AGRICULTURAL PLANTS

Vinarov A., Smirnov V., Romyanceva T., Kovalskiy Yu., Dirina E. 266

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ СОЗДАНИЯ НОВЫХ ГЕНОТИПОВ ЗЕРНОБОБОВЫХ И КРУПЯНЫХ КУЛЬТУР

Зотиков В.И., Наумкина Т.С., Суворова Г.Н., Бобков С.В., Соболева Г.В., Сидоренко В.С.,
Иконников А.В. 267

USE OF BIOTECHNOLOGICAL TECHNIQUES FOR CREATION OF NEW GENOTYPES OF LEGUMES AND GROAT CROPS

Zotikov V.I., Naumkina T.S., Suvorova G.N., Bobkov S.V., Soboleva G.V., Sidorenko V.S.,
Ikonnikov A.V. 267

**КРУГЛЫЙ СТОЛ: «ЛЕСНАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ:
ОТ ИССЛЕДОВАНИЙ К ИННОВАЦИЯМ»
SEMINAR “FOREST BIOTECHNOLOGY:
FROM RESEARCH TO INNOVATION”**

**УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS**

**ПРИОРИТЕТНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ЛЕСНОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ: ОТ ИССЛЕДОВАНИЙ
К ПРАКТИКЕ**

Мариев А.Н. 270

**PRIORITY DIRECTIONS OF FOREST BIOTECHNOLOGY: FROM RESEARCH TO
PRACTICE**

Mariev A.N. 271

**СИСТЕМА ПРОДВИЖЕНИЯ ИННОВАЦИОННЫХ ПРОЕКТОВ ПРИМЕРЕ ЙОЭНСУУ
(JOENSUU), ФИНЛЯНДИЯ. ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ МЕЖРЕГИОНАЛЬНЫХ
ПРОЕКТОВ МЕЖДУ РОССИЕЙ И ФИНЛЯНДИЕЙ В ЛЕСНОЙ БИОЭНЕРГЕТИКЕ**

Черемисин Георг (Cheremisin Georg) 271

**SYSTEM OF ADVANCEMENT OF INNOVATION PROJECTS IN JOENSUU, FINLAND.
PERSPECTIVES OF THE INTER REGIONAL PROJECTS BETWEEN RUSSIA AND
FINLAND IN THE ENERGY WOOD AREA**

Cheremisin Georg 272

**ПРОИЗВОДСТВО ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА ЛЕСНЫХ И ДЕКОРАТИВНЫХ
КУЛЬТУР ИЗ МИКРОРАСТЕНИЙ IN VITRO В УСЛОВИЯХ ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ
ТЕПЛИЦ СЕМЕНОВСКОГО СПЕЦСЕМЛЕСХОЗА**

Горелова З.В., Горелов Н.И. 272

**PRODUCTION OF FOREST AND ORNAMENTAL SEEDLINGS FROM PLANTS IN VITRO IN
GREENHOUSES OF “SEMENOVSKI SPECSEMLESHOZ”**

Gorelova Z.V., Gorelov N.I. 273

ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ ДРЕВЕСНЫХ ПОРОД ДЛЯ БИОЭНЕРГЕТИКИ

Лебедев В.Г., Шестибратов К.А. 274

GENETIC ENGINEERING OF FOREST TREES FOR BIOENERGY

Lebedev V.G., Schestibratov K.A. 274

**ВОСПРОИЗВОДСТВО И СОХРАНЕНИЕ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ЦЕННОГО ГЕНОФОНДА
ЛЕСНЫХ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ МЕТОДАМИ БИОТЕХНОЛОГИИ**

Машкина О.С., Табацкая Т.М., Землянухина О.А. 275

**BIOTECHNOLOGY METHODS USAGE FOR REPRODUCTION AND PRESERVATION OF
FORESTRY GENE POOL**

Mashkina O.S., Tabatskaya T.M., Zemlyanukhina O.A. 276

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЗАЩИТЫ И ВОСПРОИЗВЕДЕНИЯ ЛЕСНЫХ НАСАЖДЕНИЙ

Нугманова Т.А. 276

USE OF BIOLOGICAL PRODUCTS FOR PROTECTION AND REPRODUCTION OF WOOD PLANTINGS

Nugmaniva T.A. 277

МЕТАБОЛОМИКА ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ: ОСНОВЫ ТЕХНОЛОГИИ И ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ

Осипов, В.И., Осипова, С.Н. и Быков, В.А. 278

METABOLOMICS OF WOODY PLANTS: BASIS OF TECHNOLOGY AND ITS APPLICATIONS

Ossipov, V. I., Ossipova, S. N. and Bykov, V. A. 279

РАЗРАБОТКА УСЛОВИЙ АДАПТАЦИИ НА ЭТАПЕ EX VITRO МИКРОКЛОНАЛЬНО РАЗМНОЖЕННОГО ЛЕСНОГО ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА

Падутов В.Е., Максимова П.П., Баландина И.М., Иванова М.А., Богинская Л.А., Кулагин Д.В.,
Химченко Е.Н., Константинов А.В., Морочкова М.П. 280

THE ELABORATION OF PREREQUISITES FOR ACCLIMATIZATION OF MICROPROPAGATED FOREST PLANTS TO *EX VITRO* CONDITIONS

Padutov V.E., Maximova P.P., Balandina I.M., Ivanova M.A., Boginskaya L.A., Kulagin D.V., Khim-
chenko Ye.N., Constantinov A.V., Morochkova M.P. 280

ЭФФЕКТИВНЫЙ СПОСОБ ВЫРАЩИВАНИЯ «БЫСТРОГО», ВЫСОКОПРОДУКТИВНОГО ЛЕСА В РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН НА ПРИМЕРЕ ОСИНЫ (*POPULUS TREMULA* L.)

Газизуллин А.Х., Пуряев А.С., Гарипов Н.Р. 281

EFFECTIVE WAY OF GROWING «FAST», HIGHLY PRODUCTIVE FORESTS IN THE REPUBLIC OF TATARSTAN ON THE EXAMPLE OF ASPEN (*POPULUS TREMULA* L.)

A.H. Gazizullin, A.S. Puryaev, N.R. Garipov 282

ЛЕСНЫЕ ИННОВАЦИОННЫЕ БИОТЕХНОЛОГИИ: СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ

Шестибратов К.А. 282

INNOVATIVE FOREST BIOTECHNOLOGY: STATE OF THE ART AND PROSPECTS OF DEVELOPMENT

Schestibratov K.A. 283

ПРАКТИЧЕСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ В ЛЕСНОМ СЕМЕНОВОДСТВЕ

Шишкина О.К., Завистяева М.А. 284

PRACTICAL USE OF MOLECULAR GENETIC TECHNIQUES IN FOREST SEEDS GROWING

Shishkina O.K., Zavistjaeva M.A. 284

ОДНОРОДНОСТЬ КЛОНИРОВАННЫХ РАСТЕНИЙ В ЛЕСНЫХ КУЛЬТУРАХ

Жигунов А.В., Шабунин Д.А., Антонов О.И. 285

HOMOGENY OF CLONED PLANTS IN FOREST PLANTATIONS

Zhigunov A.V., Shabunin D.A., Antonov O.I. 286

КАРЕЛЬСКАЯ БЕРЕЗА В КАРЕЛИИ: РЕСУРСЫ И ВОСПРОИЗВОДСТВО

Ветчинникова Л.В. 286

CURLY BIRCH IN KARELIA: RESOURCES AND REPRODUCTION

L.V. Vetchinnikova..... 287

БИОТЕХНОЛОГИЯ МИКРОКЛОНАЛЬНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ ЧЕРЕЗ СОМАТИЧЕСКИЙ ЭМБРИОГЕНЕЗ В КУЛЬТУРЕ IN VITRO У ХВОЙНЫХ В СИБИРИ

Третьякова И.Н., Барсукова А.В., Носкова Н.Е., Бажина Е.В.
Ворошилова Е.С., Шуваев Д.Н. 288

BIOTECHNOLOGY OF MICROCLONAL PROPAGATION BY SOMATIC EMBRYOGENESIS IN SIBERIA CONIFERS IN CULTURE IN VITRO

Tretyakova I.I., Barsukova A.V., Noskova N.Ye., Bazhina E.V., Voroshilova E.S. Shuvaev D.N. 288

ПОСТЕРЫ POSTERS

ОБСЛЕДОВАНИЕ БЕРЕЗНЯКОВ В ЦЕЛЯХ ПОВЫШЕНИЯ ИХ ПРОДУКТИВНОСТИ МЕТОДОМ МИКРОКЛОНАЛЬНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ (IN VITRO) В ЛЕСАХ РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН

Газизуллин А.Х., Ахмадуллин И.Ш. 289

SURVEY OF BIRCH IN ORDER TO INCREASE THEIR PRODUCTIVITY BY MICROPROPAGATION (IN VITRO) IN THE FORESTS OF THE REPUBLIC OF TATARSTAN

A.H.Gazizullin, I.Sh.Akhmadullin 290

ОТБОР ЭЛИТНЫХ ФОРМ ОСИНЫ (*POPULUS TREMULA L.*) В ЛЕСАХ РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН В СОЧЕТАНИИ С ТЕХНОЛОГИЕЙ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ

Газизуллин А.Х., Гарипов Н.Р., Пуряев А.С. 290

SELECTION OF ELITE FORMS OF ASPEN (*POPULUS TREMULA L.*) IN FORESTS OF THE REPUBLIC OF TATARSTAN IN A COMBINATION TO TECHNOLOGY OF MOLECULAR MARKERS

A.H. Gazizullin , N.R.Garipov , A.S. Puryaev 291

ИССЛЕДОВАНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ ПЛЮСОВЫХ ДЕРЕВЬЕВ PINUS SYLVESTRIS ISSR-МАРКЕРАМИ

Шейкина О.В., Новиков П.С., Милютина Т.Н..... 292

GENETIC VARIATION RESEARCH OF PINUS SYLVESTRIS PLUS TREES BY ISSR MARKERS

Sheykina O.V., Novikov P.S., Milutina T.N. 292

СОЗДАНИЕ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ОСИНЫ *POPULUS TREMULA* С ГЕНОМ КСИЛОГЛЮКОНАЗЫ XEG1 И ИНВЕРТИРОВАННЫМИ ПОВТОРАМИ ГЕНА 4-КУМАРАТ СОА ЛИГАЗЫ

А.С.Подрезов, К.А.Шестибратов 293

THE CREATION OF ASPEN (*POPULUS TREMULA*) TRANSGENIC PLANTS CONTAINING XYLOGLUCONASE GENE XEG1 AND INVERTED REPEATS OF 4-COUMARATE:COENZYME A LIGASE GENE

A.S.Podrezov, K.A.Schestibratov 293

СОЗДАНИЕ И АНАЛИЗ ТРАНСГЕННЫХ ЛИНИЙ БЕРЕЗЫ С ГЕНОМ ГЛУТАМИНСИНТЕТАЗЫ СОСНЫ *GS1*

Салмова М.А., Шадрина Т.А., Шестибратов К.А. 294

CREATION AND ANALYSIS OF BIRCH TRANSGENIC LINES WITH PINE GLUTAMINE SYNTHETASE GENE *GS1*

Salmova M.A., Schadrina T.A., Schestibratov K.A. 295

СЕКЦИЯ 4. «БИОТЕХНОЛОГИЯ И ПРОМЫШЛЕННОСТЬ» SECTION 4. "BIOTECHNOLOGY AND INDUSTRY"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ ORAL REPORTS

КОМПЛЕКТНОЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОРУДОВАНИЕ СЕРИИ «ОКА-02» НА ОСНОВЕ БИОРЕАКТОРОВ СО СТЕКАЮЩИМИ ПЛЕНКАМИ ДЛЯ ЖИДКОФАЗНЫХ И СОВМЕЩЕННЫХ ПРОЦЕССОВ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

Кудряшов В.К., Редикульцев Ю.В., Голиченков В.С., Зиновьев М.А.,
Безручко В.В., Сизов А.Н., Тараскевич М.Р., Уграицкий А.А.,
Шевелев Д.А., Ширшиков Н.В., Шкидченко А.Н. 296

UNITIZED BIOTECHNOLOGICAL EQUIPMENT OF THE "OKA-02" SERIES BASED ON BIOREACTORS WITH RUNNING DOWN FILMS FOR LIQUID-PHASE AND COMBINED CULTIVATION OF MICROORGANISMS

V.K.Kudryashov, Yu.V.Redikultsev, V.S.Golichenkov, M.A.Zinoviev, V.V.Bezruchko, A.N.Sizov,
M.R.Taraskevich, A.A.Ugraitkiy, D.A.Shevelev, N.V.Shirshikov, A.N.Shkidchenko 297

ПРЕИМУЩЕСТВА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КАПСУЛЬНЫХ И ПАТРОННЫХ ФИЛЬТРУЮЩИХ ЭЛЕМЕНТОВ ПРОИЗВОДСТВА ООО НПП «ТЕХНОФИЛЬТР» В БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ

Муравьев В.Л. 298

ADVANTAGES OF USING CAPSULE AND CARTRIDGE FILTER ELEMENTS OF TECHNOFILTER PRODUCTION IN BIOPHARMACEUTICAL TECHNOLOGICAL PROCESSES

Muravyev V.L. 298

СОЗДАНИЕ НОВЫХ БИОРАЗЛАГАЕМЫХ ПОЛИМЕРНЫХ КОМПОЗИЦИЙ НА ОСНОВЕ РАЗЛИЧНЫХ КЛАССОВ ПРИРОДНЫХ ПОЛИМЕРОВ

Прут Э.В., Иорданский А.Л., Роговина С.З., Бонарцев А.П.,
Бонарцева Г.А., Ксуджун С., Берлин А.А. 299

PRODUCTION OF NEW BIODEGRADABLE POLYMER COMPOSITIONS BASED ON VARIOUS CLASSES OF NATURAL POLYMERS

Prut E.V., Iordanskii A.L., Rogovina S.Z., Bonartsev A.P.,
Bonartseva G.A., Ksudzhun S., and Berlin A.A. 299

ПРОИЗВОДСТВО БИОТОПЛИВА ИЗ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ВИХРЕВЫХ ПЛАВАЮЩИХ АКВАРЕАКТОРОВ

Рамазанов ЮА 300

BIODIESEL PRODUCTION FROM MICROALGAE USING VORTEX AQUAREACTORS

Ramazanov YA 301

БИОЭЛЕМЕНТОЛОГИЯ

Скальный А.В. 302

BIOELEMENTOLOGY

Anatoly V. Skalny 303

НОВЫЙ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОЦЕСС ПРОДУКЦИИ ЯНТАРНОЙ КИСЛОТЫ ПРИ НИЗКИХ ЗНАЧЕНИЯХ PH

Юзбашев Т.В., Юзбашева Е.Ю., Соболевская Т.И., Лаптев И.А.
Выборная Т.В. и Синеокий С.П. 303

THE NEW BIOTECHNOLOGICAL PROCESS FOR PRODUCTION OF SUCCINIC ACID AT LOW PH

Yuzbashev T.V., Yuzbasheva E.Y., Sobolevskaya T.I., Laptev I.A., Vybornaya T.V. and Sineoky S.P. .. 304

ПОСТЕРЫ И ПУБЛИКАЦИИ POSTERS AND PUBLICATIONS

НОВЫЕ БИОРАЗЛАГАЕМЫЕ СМЕСИ НА ОСНОВЕ ХИТИНА И ХИТОЗАНА С СИНТЕТИЧЕСКИМИ ПОЛИМЕРАМИ

Алексян К.В., Роговина С.З. 305

NEW BIODEGRADABLE BLENDS BASED ON CHITIN AND CHITOSAN WITH SYNTHETIC POLYMERS

Alexanyan Ch.V., Rogovina S.Z. 305

**ИНТЕНСИФИКАЦИЯ ПРОЦЕССА СУШКИ ФОСФОЛИПИДНЫХ КОНЦЕНТРАТОВ
ПОДСОЛНЕЧНЫХ МАСЕЛ В РОТАЦИОННО-ПЛЕНОЧНОМ АППАРАТЕ**

Алтайулы Сагымбек 306

**INTENSIFICATION OF THE DRYING PROCESS OF PHOSPHOLIPID CONCENTRATES OF
SUNFLOWER OILS IN A ROTARY-FILM APPARATUS**

Altaiuly Sagymbek..... 307

**ПРИМЕНЕНИЕ ЭКСТРАКТОВ ИЗ ВЫСШИХ ВОДНЫХ И НАЗЕМНЫХ РАСТЕНИЙ
АСТРАХАНСКОГО РЕГИОНА ДЛЯ НУЖД КОСМЕТОЛОГИИ**

Астафьева О.В., Новиченко О.В. 307

**THE USE OF EXTRACTS FROM HIGHER HYDROPHYTES AND GEOPHYTES OF THE
ASTRAKHAN REGION FOR THE NEEDS OF COSMETOLOGY**

Astafieva O.V., Novichenko O.V. 308

**ВЫДЕЛЕНИЕ И ТЕСТИРОВАНИЕ КОМПОНЕНТА КЛЕТОК ДРОЖЖЕЙ
SACCHAROMYCES CEREVISIAE, ИЗБИРАТЕЛЬНО ВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩЕГО С
АНТИ-ГЛИАДИНОВЫМИ АНТИТЕЛАМИ ЧЕЛОВЕКА**

Алешкевич И.И., Киселева Е.П., Михайлопуло К.И., Новик Г.И. 309

**ISOLATION AND TESTING OF CELL COMPONENT FROM YEAST SACCHAROMYCES
CEREVISIAE SELECTIVELY INTERACTING WITH ANTI-GLIADIN HUMAN ANTIBODIES**

Aliashkevich I.I., Kiseleva E.P., Mikhailopulo K.I., Novik G.I. 310

**ИНТЕНСИФИКАЦИЯ ПРОЦЕССА МЕМБРАННОГО КОНЦЕНТРИРОВАНИЯ
ПРОТЕКТИВНЫХ АНТИГЕНОВ В ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА ХОЛЕРНОЙ
БИВАЛЕНТНОЙ ХИМИЧЕСКОЙ ВАКЦИНЫ**

Алешина Ю.А., Крайнова А.Г., Еремин С.А., Комиссаров А.В., Белякова Н.И., Клокова О.Д. 310

**INTENSIFICATION OF THE PROCESS OF MEMBRANE CONCENTRATION OF
PROTECTIVE ANTIGENS IN TECHNOLOGY OF CHOLERA BIVALENT CHEMICAL
VACCINE PRODUCTION**

Aleshina Yu.A., Kraynova A.G., Eremin S.A.,
Komissarov A.V., Belyakova N.I., Klokova O.D. 311

**ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ РЯДА ФАКТОРОВ НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ
ПОКАЗАТЕЛИ КОМПЛЕКСНОГО ПРЕПАРАТА НУКЛЕОТИДНОЙ ПРИРОДЫ**

Баурина М.М., Шабанова М.Е., Якубович Л.М., Красноштанова А.А. 312

**INFLUENCE OF SOME FACTORS ON PHYSICAL AND CHEMICAL INDICATORS OF
COMPLEX PREPARATION OF NUCLEOTIDES**

Baurina M. M., Shabanova M. E., Yakubovich L.M., Krasnoshtanova A.A. 313

**РАЗРАБОТКА РЕЖИМОВ ВАКУУМНОГО ОБЕЗВОЖИВАНИЯ БИОПРЕПАРАТА
«МОБЕЛИЗ»**

Буданцев Е.В., Булкин М.С., Овчинникова О.Е. 313

DEVELOPMENT OF MODES OF VACUUM DEHYDRATION OF A BIOLOGICAL PRODUCT OF «MOBELIZ»

Budantsev E.V., Bulkin M.S., Ovchinnikova O.E. 314

ИЗУЧЕНИЕ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ *NICOTIANA TABACUM* L., СИНТЕЗИРУЮЩИХ БЫЧИЙ ГАММА-ИНТЕРФЕРОН

Бурлаковский М.С., Савельева Н.В., Емельянов В.В., Лутова Л.А. 315

INVESTIGATION OF TRANSGENIC PLANTS *NICOTIANA TABACUM* L. SYNTHESIZING BOVINE GAMMA INTERFERON

Burlakovsky M.S., Savel'eva N.V., Emel'yanov V.V., Lutova L.A. 315

ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПОЛУЧЕНИЯ ВАКЦИН НА ОСНОВЕ СУБКЛЕТОЧНЫХ АНТИГЕНОВ

Девришов Д.А., Мирзаев М.Н., Крыканов А.А. 316

TECHNOLOGICAL ASPECTS OF RECEIPT OF VACCINES ON THE BASIS OF SUBCELLULAR ANTIGENS

Devrishov d.a., mirzaev m.n., krykanov a.a. 317

СВОЙСТВА А-ГАЛАКТОЗИДАЗЫ, В-КСИЛОЗИДАЗЫ И АРАБИНОФУРАНОЗИДАЗЫ МИКРОМИЦЕТНОГО ГРИБА *CHRYSPORIUM LUCKNOWENSE*

Доценко Г.С., Синицын А.П. 317

PROPERTIES OF A-GALACTOSIDASE, B-XYLOSIDASE AND ARABINOFURANOSIDASE FROM *CHRYSPORIUM LUCKNOWENSE* FUNGAL STRAIN

Dotsenko G.S., Sinitsyn A.P. 318

ТРЕХСЛОЙНЫЕ СТЕНОВЫЕ КОНСТРУКЦИИ ПОВЫШЕННОЙ БИОСТОЙКОСТИ НА ОСНОВЕ КОМПЛЕКСНЫХ СВЯЗУЮЩИХ

Ерофеев В. Т., Бурнайкин Н. Ф., Митина Е. А.,
Богатов А. Д., Казначеев С. В., Богатова С. Н., Баргов Е. Г. 318

THREELAYERED WALL CONSTRUCTIONS OF RAISED BIOSTABILITY ON BASE OF COMPLEX CONNECTINGS

V. T. Yerofeev, N. F. Burnaykin , E. A. Mitina, A. D. Bogatov,
S. V. Kaznacheev, S. N. Bogatova, E. G. Bargov 319

BIOCIDE ACTION OF VEGETATIVE EXTRACTS ON SOME SPECIES OF MICROORGANISMS

S.Delgermaa, doctor (Ph.D), S.Tserendulam, magistrate (Mc.S.) 320

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ КЕРАТИНАЗ НА ОСНОВЕ МИКРОМИЦЕТОВ

Гордонова И.К., Никитина З.К., Быков В.А. 320

THE DEVELOPMENT OF KERATINASE OBTAINING TECHNOLOGY BASED ON MICROMYCES

Gordonova I.K., Nikitina Z.K., Bykov V.A. 321

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ДЛИТЕЛЬНОЙ КОНСЕРВАЦИИ ПРОМЫШЛЕННО- ЦЕННЫХ ШТАММОВ ДРОЖЖЕВЫХ ГРИБОВ

Кантерова А.В., Новик Г.И. 321

OPTIMIZATION OF CONDITIONS FOR LONG-TERM PRESERVATION OF COMMERCIALY VALUABLE STRAINS OF YEAST-LIKE FUNGI

Kanterova A. V., Novik G.I. 322

ПОЛУЧЕНИЕ КОРМОВОЙ ПРОБИОТИЧЕСКОЙ ДОБАВКИ ПУТЕМ ГЕТЕРОФАЗНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЛАКТОБАКТЕРИЙ

Кареткин Б.А., Шакир И.В., Лойко Н.Г., Эль-Регистан Г.И., Панфилов В.И. 323

PROBIOTIC FODDER PRODUCTION BY MEANS OF LACTOBACTERIA HETEROPHASE FERMENTATION

Karetkin B.A., Shakir I.V., Loiko N.G., El-Registan G.I., Panfilov V.I. 323

ИЗУЧЕНИЕ КОЛЛАГЕНАЗНОЙ АКТИВНОСТИ ВЫСШИХ ГРИБОВ

Касьян О. В., Шамцян М. М. 324

STUDY OF COLLAGENOLYTIC ACTIVITY OF BASIDIOMYCETES

Kasyan O.V., Shamtsyan M.M. 325

ЛАККАЗЫ ВЫСШИХ БАЗИДИОМИЦЕТОВ

Клепиков А.А., Шамцян М.М. 325

LACCASES OF HIGHER MUSHROOMS

Klepikov A.A., Shamtsyan M.M. 326

ГИДРОЛИТИЧЕСКАЯ СПОСОБНОСТЬ НОВЫХ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ГРИБА *PENICILLIUM VERRUCULOSUM*

Короткова О.Г., Правильников А.Г., Немашкалов В.А., Рожкова А.М., Синицын А.П. 326

SACCHARIFICATION ABILITY OF NEW ENZYME PREPARATIONS BASED ON FILAMENTOUS FUNGI *PENICILLIUM VERRUCULOSUM*

Korotkova O.G., Pravilnikov A.G., Nemashkalov V.A., Rozkova A.M., Sinitsyn A.P. 327

ПЕРЕРАБОТКА ЛЬНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КУЛЬТУР БАЗИДИОМИЦЕТОВ И ИХ ФЕРМЕНТОВ

Котова Е.В., Макаренко С.В., Шамолина И.И., Белова Н.В., Пороховинова Е.А. 328

PROCESSING OF FLAX USING CULTURES OF BASIDIOMYCETES AND THEIR ENZYMES

Kotova E.V., Makarenko S.V., Shamolina I.I., Belova N.V., Porokhovinova E.A. 329

РАЗРАБОТКА НАУЧНЫХ ОСНОВ ТЕХНОЛОГИИ СОВМЕСТНОГО ПОЛУЧЕНИЯ ИЗОФЛАВОНОИДОВ, ИЗОЛЯТА БЕЛКА И ИНГИБИТОРОВ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ ИЗ БЕЛОГО ЛЕПЕСТКА СОИ

Хабибулина Н.В., Красноштанова А.А. 329

WORKING OUT OF SCIENTIFIC BASES OF TECHNOLOGY OF JOINT RECEPTION OF ISOFLAVONES, PROTEIN ISOLATE AND INHIBITORS OF PROTEOLYTIC ENZYMES FROM DEFATTED SOYA FLAKES

Khabiboulina N.V., Krasnoshtanova A.A. 330

КОМПЛЕКСНАЯ ПЕРЕРАБОТКА ОТХОДОВ ЛЕСОЗАГОТОВКИ

Хаматаев Р.В., Ступин А.Ю., Мерекина В.В., Акопьян В.Б., Алдошина Е.А. 331

INTEGRATED WOOD-WASTES TREATMENT

Khamataev P.V., Stupin A.Yu., Merekina V.V., Akopyan V.B., Aldoshina E.A. 332

ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОИЗВОДСТВА КОРМОВЫХ ДРОЖЖЕЙ

Харина М.В., Мухачев С.Г., Валеева Р.Т., Логинова И.В., Нуртдинов Р.М. 332

IMPROVING THE EFFICIENCY OF FODDER YEAST PRODUCTION

Kharina M.V., Mukhachev S.G., Valeeva R.T., Loginova I. V., Nurtadinov R.M. 333

СИНТЕЗ 4-ГИДРОКСИИЗОЛЕЙЦИНА МЕТОДОМ БИОТРАНСФОРМАЦИИ

Киверо А.Д., Кодера Т., Котлярова В.А., Рушкевич Н.Ю., Самсонова Н.Н., Смирнов С.В. 334

SYNTHESIS OF 4-HYDROXYISOLEUCINE BY BIOTRANSFORMATION METHOD

Kivero A. D., Koder Tomohiro, Kotlyarova V. A.,
Rushkevich N. Yu., Samsonova N. N., Smirnov S. V. 334

МАЛООТХОДНАЯ ТЕХНОЛОГИЯ ПЕРЕРАБОТКИ БЕЛОГО ЛЕПЕСТКА СОИ С ПОЛУЧЕНИЕМ ПРОДУКТОВ БЕЛКОВОЙ И УГЛЕВОДНОЙ ПРИРОДЫ

Красноштанова А.А., Хабибулина Н.В. 335

LOW-WASTE TECHNOLOGY FOR PROCESSING OF THE WHITE PETALS OF SOYBEAN TO PRODUCE PRODUCTS OF PROTEIN AND CARBOHYDRATE NATURE

Krasnoshtanova A.A. 336

РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМА ПОЛУЧЕНИЯ ПОЛИМЕРНЫХ КОМПОЗИЦИЙ С РЕГУЛИРУЕМОЙ БИОСТОЙКОСТЬЮ

Кряжев Д.В., Смирнова Л.А., Мочалова А.Е., Смирнов В.Ф.,
Зотов К.А., Синицина Ю.В., Стручкова И.В. 336

WORKING OUT OF ALGORITHM OF RECEPTION OF POLYMERIC COMPOSITIONS WITH ADJUSTABLE BIOFIRMNESS

Kryazhev D.V., Smirnova L.A., Mochalova A.E., Smirnov V.F.,
Zotov K.A., Sinitsina U.V., Strychkova I.V. 337

БИОЛОГИЧЕСКИЕ И ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ РЕАБИЛИТАЦИИ ТЕРРИТОРИИ УРАНОВЫХ РУДНИКОВ ПО ОБЕСПЕЧЕНИЮ БЕЗОПАСНОСТИ

Кулажанов К.С., Туменов С.Н., Свамбаев А. 338

BIOLOGICAL AND ECOLOGICAL BASES OF REHABILITATION OF TERRITORY OF URANIUM MINES ON A SAFETY

Kulzhanov K.S., Tumenov S.N., Lesova Z.T., Svambayev Amanbek. 338

ЗАВИСИМОСТЬ ИНТЕНСИВНОСТИ РОСТА ПЛЕСНЕВОГО ГРИБА <i>PENICILLIUM VERRUCULOSUM</i> PEYRONEL ОТ СОДЕРЖАНИЯ САХАРОЗЫ В ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ Купреева М.Д., Волкова П.А.	339
THE DEPENDENCE OF INTENSITY OF GROWTH OF <i>PENICILLIUM VERRUCULOSUM</i> PEYRONEL ON CONTENT OF SUCROSE IN THE NUTRIENT MEDIUM Kupreeva M.D., Volkova P.A.	340
ПИЛОТНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В БИОТЕХНОЛОГИИ ГРИБОВ Кузнецова О.В., Смотрова Н.Г., Лисицкая С.М.	340
PILOT STUDIES IN BIOTECHNOLOGY OF FUNGI Kuznetsova O.V., Smotrova N.G., Lisitskaya S.M.	341
БАКТЕРИРОДОПСИН СИНТЕЗИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ <i>HALOBACTERIUM SODOMENSE K91R</i> Лобанова К.В., Ташпулатов Ж.Ж., Гулямова Т.Г.	342
BACTERIORHODOPSIN SYNTHESIZING ACTIVITY OF <i>HALOBACTERIUM SODOMENSE K91R</i> Lobanova K.V., Tashpulatov J.J., Gulyamova T.G.	342
ИССЛЕДОВАНИЕ НОВОГО МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ КЛЕЙКОСТИ ХЛОПКОВОГО ВОЛОКНА Лусинян И.В., Сергеев К.В., Пехташева Е.Л., Масталыгина Е.Е.	343
RESEARCH OF NEW METHOD TO DETERMINE THE STICKINESS OF COTTON FIBRES Lusinyan I., Sergeev K., Pekhtasheva E., Mastaligina E.	344
ВНЕДРЕНИЕ МЕТОДОВ НАНОБИОТЕХНОЛОГИИ В РАЗЛИЧНЫЕ ОБЛАСТИ БИОИНДУСТРИИ Максимова Е.В., Воробьева Г.И., Максимова Г.Н.	344
IMPLEMENTATION OF METHODS OF NANOBIO TECHNOLOGY IN DIFFERENT BIOINDUSTRIES Maximova E.V., Vorobieva G.I., Maximova G.N.	345
ТЕРМОДИНАМИКА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МЕТИЛРЕЗОРЦИНА С ЛИЗОЦИМОМ Мартиросова Е.И., Плащина И.Г.	345
THERMODYNAMIC INTERACTIONS OF METHYLRESORCINOL AND LYSOZYME Martirosova E.I., Plashchina I.G.	346
АППАРАТЫ ДЛЯ АКТИВАЦИИ ВОДЫ И СОЗДАНИЕ БЕТОНОВ С БИОЦИДНЫМИ СВОЙСТВАМИ НА АКТИВИРОВАННОЙ ВОДЕ ЗАТВОРЕНИЯ Матвиевский А. А., Ерофеев В. Т., Федосов С. В., Митина Е. А., Емельянов Д. В., Юдин П. В., Богатов А. Д., Казначеев С. В.	347

DEVICES FOR ACTIVATION OF WATER AND CREATION OF CONCRETE WITH BIOCID CHARACTERISTIC ON ACTUATED WATER OF THE SHUTTERING

A. A. Matvievskiy , V. T. Yerofeev, S. V. Fedosov , E. A. Mitina,
D. V. Emelianov, P. V. Yudin, A. D. Bogatov, S. V. Kaznacheev 347

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БЕСПЛАЗМИДНОЙ ЭКСПРЕССИОННОЙ СИСТЕМЫ ДЛЯ БИОСИНТЕЗА ГОРМОНА РОСТА ЧЕЛОВЕКА В КЛЕТКАХ *E. COLI*

Мечев П.В., Шульга А.А., Гончарук Д.А., Скрыбин К.Г., Зейналов О.А. 348

THE USE OF PLASMID-FREE EXPRESSION SYSTEM FOR HUMAN GROWTH HORMONE BIOSYNTHESIS IN *E. COLI* CELLS

Mechev P.V., Schulga A.A., Goncharuk D.A., Skryabin K.G., Zeinalov O.A. 349

КОМПОЗИЦИОННЫЕ СОРБЕНТЫ НА ОСНОВЕ ПРОДУКТОВ ПЕРЕРАБОТКИ РИСОВОЙ ШЕЛУХИ

Мирзаев М.Н., Сопов Л.П., Почтарев А.Н., Мельницкая Т.И. 349

COMPOSITION SORBENTS ON THE BASIS OF PRODUCTS OF PROCESSING OF RICE HUSK

Mirzaev M.N., Sopov L.P., Pochtarev a.n., Melnitskaya T.I. 350

МЕМБРАННЫЕ СИСТЕМЫ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНВАЗИЙ КАК МИШЕНЬ ПРОТИВОПАРАЗИТАРНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Мирзаева К. М., Мельницкая Т.И., Милаев Е. Н., Мирзаев М.Н. 350

DIAPHRAGM SYSTEMS OF EXCITERS OF INVAZIY AS TARGET OF PROTIVOPARAZITARNYKH PREPARATIONS

Mirzaeva K.M., Melnitskaya T.I., Milaev E.N., Mirzaev M.N. 351

РАЗРАБОТКА ЭКОНОМИЧНОЙ И ЭФФЕКТИВНОЙ ТЕХНОЛОГИИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ГАЛОБАКТЕРИЙ В УСЛОВИЯХ КОНТРОЛИРУЕМОГО ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА

Можаев А.А., Каленов С.В., Кузнецов А.Е 352

DEVELOPMENT OF ECONOMIC AND EFFECTIVE TECHNOLOGY OF CULTIVATION HALOBACTERIUM UNDER CONDITIONS OF CONTROLLABLE OXIDATIVE STRESS

Mozhaev A.A., Kalenov S.V., Kuznetsov A.E..... 352

ИМПУЛЬСНОЕ ДИСПЕРГИРОВАНИЕ В ПРОИЗВОДСТВАХ СУБЛИМИРОВАННЫХ ПИЩЕВЫХ СИСТЕМ

Семенов Г.В., Орешина М.Н. 353

PULSE DISPERGATION IN PRODUCTION FREEZE-DRY FOOD SYSTEMS

Semenov G. V, Oreshina M. N..... 354

МЕЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ БАКТЕРИЙ РОДОВ *PSEUDOMONAS* И *GEOBACILLUS*

Никитин Д.Н., Новик Г.И. 354

MOLECULAR-GENETICAL IDENTIFICATION OF BACTERIA FROM GENERA <i>PSEUDOMONAS</i> AND <i>GEOBACILLUS</i> Nikitin D.N., Novik G.I.	355
ПОТЕНЦИАЛ И РЕАЛИЗАЦИЯ ФЕРМЕНТНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В ЦЕЛЛЮЛОЗНО-БУМАЖНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ Новожилов Е.В.	355
FACILITIES AND IMPLEMENTATION OF ENZYME TECHNOLOGIES IN PULP AND PAPER INDUSTRY E.V.Novozhilov	356
БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ КОМПЛЕКС ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОЦЕССОВ ГИДРОЛИЗА РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ Нуртдинов Р.М., Мухачев С.Г., Валеева Р.Т., Емельянов В.М., Харина М.В.	357
BIOTECHNOLOGICAL COMPLEX FOR STUDYING OF HYDROLYSIS OF PLANT RAW MATERIALS Nurtdinov R.M., Mukhachev S.G., Valeeva R.T., Emelyanov V.M., Kharina M.V.....	357
ВЫСОКОЭФФЕКТИВНЫЙ КОМПЛЕКС ЦЕЛЛЮЛАЗ РЕКОМБИНАНТНЫХ ШТАММОВ МИКРОМИЦЕТА <i>PENICILLIUM SP.</i> ДЛЯ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГИДРОЛИЗА БАГАССЫ Осипов Д.О., Рожкова А.М., Зоров И.Н., Синицын А. П.	358
HIGH PERFORMANCE CELLULOLYTIC COMPLEX OF RECOMBINANT MICROMYCETE <i>PENICILLIUM SP.</i> FOR ENZYMATIC HYDROLYSIS OF BAGASSE Osipov D.O., Sinitsyn A.P., Rozkova A.M., Zorov I.N.	359
ГЛУБОКАЯ ПЕРЕРАБОТКА ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР В РЕСПУБЛИКЕ КАЗАХСТАН Оспанкулова Г.Х.....	359
ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ НА ПРОДУКЦИЮ И СОСТАВ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДА ОБЛИГАТНОЙ МЕТИЛОТРОФНОЙ БАКТЕРИИ <i>METHYLOPHILUS QUAYLEI</i> Отман С.А.М., Пшеничникова А.Б., Шве́ц В.И.	360
INFLUENCE OF EXOGENOUS FATTY ACIDS ON PRODUCTION AND COMPOSITION OF EXOPOLYSACCHARIDE OF OBLIGATE METHYLOTROPHIC BACTERIUM <i>METHYLOPHILUS QUAYLEI</i> Othman C. A. M., Pshenichnikova A. B., Shvets V. I.....	361
МАТЕРИАЛ НА ОСНОВЕ МОДИФИЦИРОВАННОГО БИОРАЗЛАГАЕМОГО ПОЛИЭТИЛЕНА Панина Т.В., Сдобникова О.А., Самойлова Л.Г.....	362
A MATERIAL BASED ON MODIFIED BIO-DEGRADABLE POLYETHYLENE Panina T.V., Sdobnikova O.A., Samoilova L.G.	362

ТЕПЛОФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ВЛАГООБМЕН ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ СТАРЕНИИ

Поляков Н.А., Дубинская В.А., Быков В.А. 363

THERMAL PROPERTIES AND MOISTURE EXCHANGE OF EXCEPIENTS IN THE COURSE OF EXPERIMENTAL AGEING

N. A. Polyakov V. A. Dubinskaya, V. A. Bykov 363

ПОЛУЧЕНИЕ БИОДИЗЕЛЬНОГО ТОПЛИВА С ПОМОЩЬЮ ГЕТЕРОГЕННЫХ КАТАЛИЗАТОРОВ

Помешалкин Е.И., Гарабаджиу А.В., Козлов Г.В. 364

PRODUCTION OF BIODIESEL FUEL USING HETEROGENEOUS CATALYSTS

E.I. Pomeshalkin, A.V. Garabadzhiu, G.V. Kozlov 365

АППАРАТНАЯ СИСТЕМА УПРАВЛЕНИЯ В ОБЛАСТИ ПРОЦЕССОВ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГИДРОЛИЗА

Понкратов А.С., Нуртдинов Р.М., Емельянов В.М., Понкратова С.А. 365

A HARDWARE CONTROL SYSTEM FOR PROCESSES OF ENZYMOLYSIS

Ponkratov A.S., Nurtdinov R.M., Emelyanov V.M., Ponkratova S.A. 366

ПОЛУЧЕНИЕ ОПТИМАЛЬНОГО ГИДРОЛИТИЧЕСКОГО КОМПЛЕКСА НА ОСНОВЕ ЦЕЛЛЮЛАЗ *PENICILLIUM SP.* И В-ГЛЮКОЗИДАЗЫ *ASPERGILLUS JAPONICUS* ДЛЯ ЭФФЕКТИВНОГО ОСАХАРИВАНИЯ ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗНОГО СЫРЬЯ

Правильников А.Г., Проскурина О.В., Сеницын А. П. 366

CREATION OF AN OPTIMAL HYDROLYTIC COMPLEX BASED ON *PENICILLIUM SP.* CELLULASES AND B-GLUCOSIDASE *ASPERGILUS JAPONICUS* FOR EFFECTIVE HYDROLYSIS OF LIGNOCELLULOSIC FEEDSTOCKS

Pravilnikov A.G., Proskurina O.V., Sinitsyn A.P. 367

ВЛИЯНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ОРГАНИЧЕСКОГО РАСТВОРИТЕЛЯ И УСЛОВИЙ, НА СОХРАНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ПОЛИФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ В ТЕЧЕНИЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ПЕРИОДА ВРЕМЕНИ

Белов А. А., Марквичев Н.С., Россинец Е.А., Мышенков Н.П. 367

INFLUENCE OF THE MAINTENANCE OF ORGANIC SOLVENT AND CONDITIONS, ON PRESERVATION OF ACTIVITY OF POLYFERMENTAL PREPARATIONS DURING THE LONG PERIOD OF TIME

A.A.Belov, N.S.Markvicev, E.A. Rossinets, N.P. Myshenkov. 368

ИССЛЕДОВАНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГИДРОЛИЗА БЕЛКОВ МОЛОЧНОЙ СЫВОРОТКИ

Рытченкова О.В., Красноштанова А.А. 369

RESEARCH OF ENZYMATIC HYDROLYSIS OF WHEY PROTEINS

Rytchenkova O.V., Krasnoshtanova A.A. 369

ИЗУЧЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

Сажина Н.Н., Мисин В.М., Короткова Е.И. 370

STUDY OF BIOLOGICAL OBJECTS ANTIOXIDANT PROPERTIES BY ELECTROCHEMICAL METHODS

Sazhina N.N., Misin V.M., Korotkova E.I. 371

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ КОМПЛЕКС ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ АЭРОБНЫХ ПРОЦЕССОВ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО СИНТЕЗА

Шавалиев М.Ф., Мухачев С.Г., Емельянов В.М., Валеева Р.Т., Шагивалеев И.В. 371

BIOTECHNOLOGICAL COMPLEX FOR STUDYING AEROBIC PROCESSES OF MICROBIOLOGICAL SYNTHESIS

Shavaliyev M.F., Mukhachev S.G., Emeliyanov V.M., Valeeva R.T., Shagivaleev I.V. 372

МЕМБРАННЫЙ ИНОКУЛЯТОР СО СПИРАЛЬНЫМ КАНАЛОМ ДЛЯ АЭРОБНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ДРОЖЖЕЙ

Шеремук М.А., Шавалиев М.Ф., Мухачев С.Г., Буйлин А.М. 373

MEMBRANE INOCULATOR WITH A SPIRAL CHANNEL FOR AEROBIC CULTIVATION OF YEAST

Sheremuk M.A., Shavaliyev M.F., Mukhachev S.G., Builin A.M. 373

НОВЫЕ КАТАЛИЗАТОРЫ НА ОСНОВЕ ИММОБИЛИЗОВАННОЙ ПЕРОКСИДАЗЫ ХРЕНА ДЛЯ СИНТЕЗА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Шиманская Е.И., Долуда В.Ю. 374

NOVEL CATALYSTS ON A BASIS OF IMMOBILIZED HORSE RADISH PEROXIDASE FOR BIOLOGY ACTIVE SUBSTANCES SYNTHESIS

Shimanskaya E.I., Doluda V.Y. 374

АУКСОТРОФНОСТЬ ПРОМЫШЛЕННЫХ ПРОДУЦЕНТОВ ЛИЗИНА

Андряш А.С., Бейко Н.Е., Заболотная Г.М., Тигунова Е.А., Ткаченко А.Ф., Шульга С.М. 375

THE AUXOTROPHY OF INDUSTRIAL PRODUCER STRAINS

Andriyash A.S., Beyko N.E., Zabolotna G.M., Tigunova E.A., Tkachenko A.F.,
Shulga S.M. 375

ВЛИЯНИЕ КОМПОНЕНТОВ ФЕРМЕНТАЦИОННОЙ СРЕДЫ НА БИОСИНТЕЗ ТРИПТОФАНА

Шульга С.М., Ткаченко А.Ф., Тигунова Е.А., Бейко Н.Е., Хоменко А.И. 376

EFFECT OF COMPONENTS OF FERMENTATION MEDIUM ON THE BIOSYNTHESIS OF TRYPTOPHAN

Shulga S.M., Tkachenko A.F., Tigunova E.A., Beyko N.E., Khomenko A.I. 377

ИССЛЕДОВАНИЕ PTS-НЕЗАВИСИМОГО ТРАНСПОРТА ГЛЮКОЗЫ ВНУТРЬ КЛЕТОК *E. COLI* С ПРИМЕНЕНИЕМ ФЛЮОРЕСЦЕНТНОГО АНАЛОГА D-ГЛЮКОЗЫ

Сливинская Е. А., Ямпольская Т. А., Рыбак К.В. 377

THE INVESTIGATION OF NON-PTS D-GLUCOSE TRANSPORT INTO *E. COLI* CELLS WITH FLUORESCENT ANALOG OF GLUCOSE

Slivinskaya E.A. Yampolskaya T.A, Rybak K.V. 378

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА ВЫДЕЛЕНИЯ КАРОТИНОИДОВ ИЗ ГАЛОФИЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ *HALOBACTERIUM HALOBIVM*

Тимошенко К.А., Красноштанова А.А. 379

RESEARCH OF PROCESS OF EXTRACTION OF CAROTINOIDS FROM HALOPHILIC BACTERIA *HALOBACTERIUM HALOBIVM*

Timoshenko K.A., Krasnoshtanova A.A. 380

ПОЛУЧЕНИЕ ТРОМБОЛИТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ИЗ ГРИБА РОДА *COPRINUS*, ИССЛЕДОВАНИЕ ЕГО АКТИВНОСТИ

Тозик Е.В., Шамцян М.М. 380

PRODUCTION OF THROMBOLYTIC AGENT OF THE FUNGUS GENUS *COPRINUS*, AND STUDY OF ITS ACTIVITY

E.V. Tozik, M.M. Shamtsyan 381

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ NAD

Цыренов В.Ж., Санданов А.А., Островский Д.Н., Козин В.А. 382

PRODUCING OF NAD BY MICROBIOLOGICAL SYNTHESIS

Tsyrenov V.Zh., Sandanov A.A., Ostrovsky D.N., Kozin V.A. 382

ПОВЕРХНОСТНОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ГРИБА *METARHIZIUM ANISOPLIA*

Васильева А.В., Марквичёв Н.С. 383

SOLID-STATE FERMENTATION OF FUNGI *METARHISIUM ANISOPLIA*

Vasil`eva A.V., Markvichev N.S. 383

РАЗРАБОТКА НОВЫХ ЭНЕРГОЭКОНОМНЫХ МАССООБМЕННЫХ УСТРОЙСТВ ДЛЯ ПРОМЫШЛЕННЫХ АЭРОТЕНКОВ

Винаров А.Ю., Соколов Д.П., Смирнов В.Н., Шитиков Е.С. 384

DEVELOPMENT OF NEW ENERGY- EFFICIENT MASS-TRANSFER DEVICES FOR INDUSTRIAL BIOLOGICAL AIR-TANK FOR TREATMENT OF LIQUID WASTE

A.Vinarov, D.Sokolov, V.Smirnov, E. Shitikov 385

ПОЛУЧЕНИЕ ОПТИМАЛЬНОГО ФЕРМЕНТАТИВНОГО КОМПЛЕКСА ЦЕЛЛЮЛОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ ДЛЯ ОСАХАРИВАНИЯ ИЗМЕЛЬЧЕННОЙ ОСИНОВОЙ ДРЕВЕСИНЫ

Волков П.В., Рожкова А.М., Сеницын А.П. 385

OBTAINING OF THE OPTIMAL CELLULASE COMPLEX FOR SACCHARIFICATION OF THE PRETREATED ASPEN WOOD

Volkov P.V., Rozhkova A.M., Sinitsyn A.P. 386

СТРУКТУРНО-МЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КРАХМАЛА, ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ ГЕННО-МОДИФИЦИРОВАННОГО КАРТОФЕЛЯ

Вассерман Л. А., Васильев В.Г., Канарский А.В., Камионская А.М. 386

STRUCTURAL-MECHANICAL PROPERTIES OF STARCH, EXTRACTED FROM GENE MODIFIED POTATO

L. A. Wasserman , V.G. Vasil'ev , A.V. Kanarskiy , A.M. Kamionskaya 387

КОЛЛАГЕНОЛИТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ, СЕКРЕТИРУЕМЫЕ НЕКОТОРЫМИ ВИДАМИ ДЕЙТЕРОМИЦЕТОВ

Яковлева М.Б., Никитина З.К., Сухосырова Е.А., Быков В.А. 387

COLLAGENOLYTIC ENZYMES SECRETION BY SOME SPECIES OF DEUTEROMYCETES

Yakovleva M.B., Nikitina Z.K., Suhosyova E.A., Bykov V.A. 388

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ КИНЕТИКИ НАКОПЛЕНИЯ О-АНТИГЕНА В ХОДЕ ГЛУБИННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ХОЛЕРНОГО ВИБРИОНА

Ульянов А.Ю., Никифоров А.К., Комиссаров А.В., Еремин С.А. 389

MATHEMATICAL MODEL OF KINETICS OF O-ANTIGEN ACCUMULATION IN THE COURSE OF SUBMERGED CULTIVATION OF *VIBRIO CHOLERAE*

Ul'yanov A. Y., Nikiforov A. K., Komissarov A.V., Eremin S.A. 390

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ *RIBA*, *RIBG* РИБОФЛАВИНОВОГО ОПЕРОНА *BACILLUS SUBTILIS* В УСЛОВИЯХ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА

Якутик И.А., Филиппенков И.Б., Белодед А.В., Склорова С.А., Миронов А.С., Кузнецов А.Е. .. 390

THE INFLUENCE OF OXIDATIVE STRESS ON THE EXPRESSION OF *RIBA* AND *RIBG* GENES OF RIBOFLAVIN OPERON OF *BACILLUS SUBTILIS*

Yakutik I. A., Filipenkov I. B., Beloded A. V., Sklyarova S.A., Mironov A. S., Kusnetzov A. E. 391

БИОКОСМЕТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ФУНКЦИЙ КОЖИ: ИННОВАЦИОННЫЕ ПРОДУКТЫ, ЭКОКОНЦЕПТУАЛЬНЫЙ ПОДХОД

Ермолова Л.С., Ермолов И.А. 392

REVITALIZING BIOCOSMETICS: INNOVATIVE PRODUCTS AND ECOCONCEPTUAL APPROACH

Yermolova L.S., Yermolov I.A. 392

РАЗРАБОТКА БИОСЕНСОРОВ НА ОСНОВЕ ДРОЖЖЕВОЙ АЛКОГОЛЬОКСИДАЗЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ НИЗШИХ СПИРТОВ

Зайцев М.Г., Решетилов А.Н., Алферов В.А. 393

DEVELOPMENT OF YEAST ALCOHOL OXIDASE BASED BIOSENSORS FOR THE DETERMINATION OF LOWER ALCOHOLS

Zaytsev M.G., Reshetilov A.N., Alferov V.A. 394

АКТИВНОСТЬ И КИНЕТИКА КАТАЛИТИЧЕСКОГО СУБСТРАТА НА ОСНОВЕ ИНУЛАЗЫ, ИММОБИЛИЗОВАННОЙ НА НАНОТРУБКАХ ИЗ ДВУОКИСИ ТИТАНА

Голубев В.Н., Тереза Бланко Адвардо, Жидков А.И. 394

ACTIVITY AND KINETICS OF CATALYST SUBSTRATE ON BASIS OF INULASE IMMOBILIZED ON TITANIUM DIOXIDE NANOTUBES

Golubev V.N., Teresa Blanco Advarado, Zhidkov A.I. 395

РАЗРАБОТКА БЕЗОТХОДНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В ПРОИЗВОДСТВЕ ГЕТЕРОЛОГИЧНОГО АНТИРАБИЧЕСКОГО ИММУНОГЛОБУЛИНА

Жулидов И.М., Никифоров А.К., Абрамова Е.Г., Еремин С.А., Антонычева М.В., Белоусов А.Д., Киреев М.Н., Шульгина И.В., Лобовикова О.А., Аленкина Т.В., Базлов Г.В., Васин Ю.Г. 396

DEVELOPMENT OF NON-WASTE TECHNOLOGIES IN HETEROLOGOUS ANTI-RABIES IMMUNOGLOBULIN PRODUCTION

Zhulidov I.M., Nikiforov A.K., Abramova E.G., Eremin S.A., Antonycheva M.V., Belousov A.D., Kireev M.N., Shulgina I.V., Lobovikova O.A., Alenkina T.V., Bazlov G.V., Vassin Yu.G. 397

СПОСОБ ИДЕНТИФИКАЦИИ БУТИРИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ ИЗ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЛОШАДИ

Жуковский Ю. Г., Кузнецова Л. П., Никитина Е.Р., Сочилина Е. Е. 398

THE METHOD FOR IDENTIFICATION OF HORSE SERUM BUTYRYLCHOLINESTERASE

Zhukovskii Yu.G., Kuznetsova L.P., Nikitina E.R., Sochilina E.E. 399

ПРИМЕНЕНИЕ БУТИРИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МИКРОКОЛИЧЕСТВ ЦЕТИЛТРИМЕТИЛАММОНИЯ

Жуковский Ю.Г., Жуковская В.А., Кузнецова Л.П., Никитина Е.Р., Сочилина Е.Е. 400

APPLICATION OF BUTYRYLCHOLINESTERASE FOR EVALUATION OF MICROCONCENTRATION OF CETYLTRIMETHYLAMMONIUM

Zhukovskii Yu.G., Zhukovskaya V.A., Kuznetzova L.P., Nikitina E.R., Sochilina E.E. 401

**СЕКЦИЯ 4.1. «ПРОЕКТНЫЕ, ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ И АППАРАТНЫЕ
РЕШЕНИЯ ПРИ МОДЕРНИЗАЦИИ СУЩЕСТВУЮЩИХ И ПРОЕКТИРОВАНИИ
НОВЫХ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ И БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДСТВ»
SECTION 4.1. “PROJECT, TECHNOLOGICAL AND HARDWARE SOLUTIONS IN
MODERNIZATION OF CURRENT AND DESIGN OF NEW BIOTECHNOLOGICAL AND
BIOPHARMACEUTICAL PRODUCTION”**

**ПРИ ПОДДЕРЖКЕ WWW.FERMENTER.RU
SUPPORT: WWW.FERMENTER.RU**

**УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS**

**ЭЛЕКТРООПТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ И ОСМОТИЧЕСКИХ
СОБЫТИЙ В БАКТЕРИЯХ**

Angersbach A., Bunin V. EloSystems GbR, Germany 402

**ПРАКТИКА ЭЛЕКТРООПТИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА И ОПТИМИЗАЦИИ
ПРОЦЕССОВ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ БАКТЕРИЙ**

Angersbach A., Bunin V., EloSystems GbR, Germany 403

**ТЕХНОЛОГИЯ ПРОМЫШЛЕННОЙ ОЧИСТКИ ВАКЦИН: ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ
И ТЕХНИКО-ЭКОНОМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ МЕТОДОВ ХРОМАТОГРАФИИ И
УЛЬТРАЦЕНТРИФУГИРОВАНИЯ ДЛЯ ОЧИСТКИ И КОНЦЕНТРИРОВАНИЯ ВАКЦИН**

Троицкий Е.Н. 404

**СЕКЦИЯ 5. «НАНОБИОТЕХНОЛОГИЯ»
SECTION 5. “NANOBIOTECHNOLOGY”**

**УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS**

**ВЛИЯНИЕ НАНО- И МИКРОЧАСТИЦ НА ФАЗОВОЕ РАЗДЕЛЕНИЕ И СТРУКТУРУ
ПОЛУРАЗБАВЛЕННЫХ БИОПОЛИМЕРНЫХ СМЕСЕЙ**

Антонов Ю.А., Молденаэр Р. 406

**THE EFFECT OF NANO- AND MICROPARTICLES ON PHASE SEPARATION AND THE
STRUCTURE OF SEMIDILUTE BIOPOLYMER MIXTURES**

Antonov Y.A., Moldenaers 407

**СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ ОРГАНИЗАЦИИ ГЕНОМА В
НАНОМЕТРОВОМ МАСШТАБЕ**

Глазко В.И. 407

**STRUCTURAL-FUNCTIONAL ELEMENTS OF GENOME ORGANIZATION IN
NANOMETER SCALE**

Glazko V. I. 409

МОНИТОРИНГ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ЕДИНИЧНЫХ МОЛЕКУЛ ФЕРМЕНТОВ С ПОМОЩЬЮ АСМ

Иванов Ю.Д., Бухарина Н.С., Арчаков А.И. 410

MONITORING OF THE SINGLE-MOLECULE ENZYME FUNCTIONING USING AFM

Ivanov Yu.D., Bukharina N.S., Archakov A.I. 410

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ НАНОЭМУЛЬСИЙ И МИЦЕЛЛЯРНЫХ РАСТВОРОВ В БИОТЕХНОЛОГИИ

Оксинойд О.Э., Рылеев С.В., Каплун А.П., Швец В.И. 411

CURRENT STATE AND APPLICATION PROSPECTS OF NANOEMULSIONS AND MICELLAR SOLUTIONS IN BIOTECHNOLOGY

Oxinoid O. E, Ryleev S.V., Kaplun A.P., Shvets V. I. 411

ПОЛУЧЕНИЕ КОМПЛЕКСНОГО ПРЕПАРАТА ЛИПОСОМ

Краснопольский Ю.М., Григорьева А.С., Конахович Н.Ф., Степанов А.Е., Швец В.И. 411

MANUFACTURE OF A COMPLEX LIPOSOME PREPARATION

Krasnopsky Yu.M., Griygorieva A.S., Konakhovich N.F., Stepanov A.E., Shvets V.I. 412

ПОСТЕРЫ И ПУБЛИКАЦИИ POSTERS AND PUBLICATIONS

СИНТЕЗ АНАЛОГОВ ИНОЗИТСОДЕРЖАЩИХ ФОСФОЛИПИДОВ И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ЛИПОСОМАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Баранова Е. О., Шастина Н. С. 413

THE SYNTHESIS OF INOSITOL CONTAINING PHOSPHOLIPIDS DIMER ANALOGUES AND ITS USAGE FOR PREPARATION OF LIPOSOMAL FORMULATION

Baranova E.O., Shastina N.S. 414

КОМПЛЕКС ISSR-PCR МАРКЕРОВ, ДИФФЕРЕНЦИРУЮЩИХ ПОРОДЫ ЛОШАДЕЙ

Бардуков Н. В., Эркенов Т.А., Глазко В.И. 414

COMPLEX ISSR-PCR MARKERS DIFFERENTIATING OF GENE POOLS OF HORSE BREEDS

Bardukov N. V, Erkenov T.A., Glazko V. I. 415

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА С МОЛЕКУЛАМИ ГЛЮТАТИОНА

Болтовец П.Н., Кравченко С.А., Снопко Б.А. 415

INTERACTION OF ARGENTUM NANOPARTICLES WITH GLUTATHIONE MOLECULES

Boltovets P.N., Kravchenko S.A., Snopok B.A. 416

СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ НОВЫХ ЛИПОФИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 2',3'-ДИДЕГИДРО-3'-ДЕЗОКСИТИМИДИНА ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЕГО ПЕРОРАЛЬНОЙ БИОДОСТУПНОСТИ

Дьякова Л.Н., Шастина Н. С. 417

SYNTHESIS AND PROPERTIES STUDING OF NOVEL LIPOPHILIC DERIVATIVES OF 2',3'-DIDEHYDRO-3'-DEOXYTHYMIDINE FOR IMPROVEMENT ITS ORAL BIOAVAILABILITY

D'yakova L.N., Shastina N.S. 417

РОЛЬ БРАССИНОСТЕРОИДОВ КАК ВОЗМОЖНЫХ НАНОРЕГУЛЯТОРОВ БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ

Егоров М.А. 418

THE ROLE OF BRASSINOSTEROIDS AS POSSIBLE NANOREGULATORS OF BIOLOGICAL SYSTEMS

M. A. Egorov 419

РАЗРАБОТКА ИММУНОФЕРМЕНТНОГО МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФУЛЛЕРЕНА C₆₀

Федюнина Н.С., Дзантиев Б.Б. 420

DEVELOPMENT OF IMMUNOENZYME ASSAY FOR FULLERENE C₆₀

Fedyunina N.S., Dzantiev B.B. 420

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НАНОРАЗМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ СОРБЦИИ ИЗ РАСТВОРОВ НЕКОТОРЫХ АНТИБИОТИКОВ-ПОЛИПЕПТИДОВ

Ильина М.В., Тимофеева А.В., Иванова В.Т., Баратова Л.А., Градова Н.Б., Катруха Г.С. 421

THE USE OF NANOSCALE MATERIALS FOR THE SORPTIONS OF POLYPEPTIDE ANTIBIOTICS FROM SOLUTIONS

Ilyina M.V., Timofeeva A.V., Ivanova V.T., Baratova L.A., Gradova N.B., Katrukha G.S. 422

УЛЬТРАТОНКИЕ ПЛЕНКИ ПОЛИАНИЛИНА – КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ НАНОМАТЕРИАЛЫ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ И СЕЛЕКТИВНЫХ БИОСЕНСОРОВ НА ВИРУСЫ ГРИППА

Исакова А.А., Райтман О.А., Иванов В.Ф., Иванова В.Т., Ванников А.В. 422

ULTRATHIN POLYANILINE FILMS AS A PERSPECTIVE NANOMATERIAL FOR DEVELOPING OF HIGHLY SENSITIVE AND SELECTIVE BIOSENSORS FOR INFLUENZA VIRUSES

Isakova A.A., Raitman O.A., Ivanov V.F., Ivanova V.T., Vannikov A.V. 423

СОРБЦИЯ ПАНДЕМИЧЕСКИХ ВИРУСОВ ГРИППА А(H1N1)V НАНОРАЗМЕРНЫМИ АЛМАЗАМИ И ИХ КОМПЛЕКСАМИ С ПОЛИАНИЛИНОМ

Иванова М.В., Исакова А.А., Спицин Б.В., Трушаква С.В., Бурцева Е.И., Иванова В.Т. 424

SORPTION OF PANDEMIC INFLUENZA VIRUSES A(H1N1)V BY THE NANODIAMONDS AND IT'S COMPLEXES WITH POLYANILINE

Ivanova M.V., Isakova A.A., Spitsyn B.V., Trushakova S.V., Burtseva E.I., Ivanova V.T. 424

ОБНАРУЖЕНИЕ ВИРУСНЫХ ЧАСТИЦ ГЕПАТИТА С С ПОМОЩЬЮ КОМБИНИРОВАННОГО ПОДХОДА НА БАЗЕ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ И МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

Кайшева А.Л., Иванов Ю.Д., Плешакова Т.О., Арчаков А.И. 425

HEPATITIS C VIRAL PARTICLES DETECTION WITH COMBINED ATOMIC FORCE MICROSCOPY AND MASS SPECTROMETRY.

Kaysheva A.L., Ivanov Y.D., Pleshakova T.O., Archakov A.I. 426

ДНК МИКРОМАТРИЦЫ В ИССЛЕДОВАНИЯХ ОРГАНОСПЕЦИФИЧНЫХ ПРОФИЛЕЙ ГЕННОЙ ЭКСПРЕССИИ У СВИНЕЙ

Хлопова Н.С., Глазко Т.Т., Глазко В.И. 426

DNA MICROARRAYS IN REVEALING ORGANSPECIFIC GENE EXPRESSION PROFILES IN PIGS

Khlopova N.S., Glazko T.T., Glazko V.I. 427

ХАРАКТЕРИСТИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ УСТОЙЧИВОСТИ КОМПОНЕНТОВ НАНОБИОПРЕПАРАТА, СОДЕРЖАЩЕГО АНАЛОГ ИНТЕРФЕРОНА-ГАММА

Коровина О.С., Назарова А.А., Левагина Г.М., Масычева В.И. 427

CHARACTERIZATION OF RESISTANCE OF THE COMPONENTS OF THE NANOBIOOPREPARATION CONTAINING INTERFERON-GAMMA ANALOG

Korovina O.S., Nazarova A.A., Levagina G.M., Masycheva V.I. 428

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ УЛЬТРАДИСПЕРСНОГО УГЛЕРОДНОГО СОРБЕНТА УДУС ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ АНТИБИОТИКОВ А-887 И А-1149 ИЗ КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ ШТАММОВ-ПРОДУЦЕНТОВ

Лапчинская О.А., Тимофеева А.В., Терехова Л.П., Буравцев В.Н., Толстых И.В., Степашкина Е.А., Гладких Е.Г., Галатенко О.А., Баратова Л.А., Катруха Г.С. 429

ISOLATION OF ANTIBIOTICS A-887 AND A-1149 FROM STRAIN-PRODUCER CULTURAL BROTH BY ULTRADISPERS CARBON SORBENT (UDCS)

Lapchinskaya O.A., Timofeeva A.V., Terekhova L.P., Buravtsev V.N., Tolstykh I.V., Stepashkina E.A., Gladkih E.G., Galatenko O.A., Baratova L.A., Katrukha G.S. 429

ГИБРИДНЫЕ МАГНИТОУПРАВЛЯЕМЫЕ КОНСТРУКЦИИ КАК ОСНОВА СОЗДАНИЯ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНЫХ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ СИСТЕМ

Лыткина О.А., Сазонов А.Э. 430

HYBRID MAGNETIC CONSTRUCTIONS AS A BASIS FOR CREATION OF EFFECTIVE MAGNETO-SENSITIVE BIOSENSORS

Lytkina O.A., Sazonov A. E. 431

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ISSR-PCR МАРКЕРОВ ДЛЯ ВЫЯСНЕНИЯ ОСОБЕННОСТЕЙ ГЕНОФОНДОВ НЕКОТОРЫХ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ И ДИКИХ ВИДОВ ЖИВОТНЫХ

Феофилов А.В. 431

USING OF ISSR-PCR MARKERS TO REVEAL GENOFOND FEATURES OF SOME AGRICULTURAL AND WILD ANIMAL SPECIES

Pheophilov A.V. 432

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОВЕРХНОСТИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ОБРАЗЦОВ НАНОПОРИСТОГО УГЛЕРОДНОГО КОМПОЗИТА МЕТОДОМ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ

Кнорре Д.Г., Лихолобов В.А., Годовикова Т.С., Пьянова Л.Г.,
Бакланова О.Н., Седанова А.В. 433

ATOMIC FORCE MICROSCOPY STUDY OF THE SURFACE OF MODIFIED NANOPOROUS CARBON COMPOSITE

D.G. Knorre , V.A. Likholobov , T.S. Godovikova ,
L.G. P'yanova, O.N. Baklanova , A.V. Sedanova 434

ПОЛУЧЕНИЕ L-А-ЛЕЦИТИНА И ЛИПОСОМАЛЬНЫХ НАНОЕМУЛЬСИЙ ИЗ ПОДСОЛНЕЧНОГО ФОСФАТИДНОГО КОНЦЕНТРАТА

Шульга С.М., Глух И.С., Иващенко Т.А. 435

OBTAINING OF L-A-LECITHIN AND LIPOSOMAL NANOEMULSIONS FROM SUNFLOWER PHOSPHATIDE CONCENTRATE

Shulga S.M., Glukh I.S., Ivashchenko T.A. 435

НАНОЧАСТИЦЫ НА ОСНОВЕ ФОСФОЛИПИДОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ХЛАМИДИОЗА

Рукосуева Н.В., Захарова Д.А., Озерова А.М., Безруков Д.А., Каплун А.П. 436

NANOPARTICLES ON THE BASE OF PHOSPHOLIPIDS FOR CHLAMYDIA TREATMENT

Rukosueva N.V., Zakharova D.A., Ozerova A.M., Bezrukov D.A., Kaplun A.P. 437

ХАРАКТЕРИСТИКА ПРЕПАРАТОВ РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА ТВИ – КОМПОНЕНТА ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВИЧ, ПОЛУЧЕННЫХ РАЗНЫМИ СПОСОБАМИ

Волосникова Е.А., Лебедев Л.Р., Масычева В.И. 437

CHARACTERISTICS OF A COMPONENT OF THE VACCINE AGAINST HIV, RECOMBINANT TBI PROTEIN, ISOLATED BY DIFFERENT METHODS

Volosnikova E.A., Lebedev L.R., Masycheva V.I. 438

НАНО- И БИОТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОГО МЕТОДА АНАЛИЗА NANO- AND BIOTECHNOLOGY FOR THE ELECTRIC-CHEMICAL ANALYSES

Драчева Л.В. 439

ДЛЯ ЗАМЕТОК

FOR NOTES

Lined area for taking notes.

ДЛЯ ЗАМЕТОК