МАТЕРИАЛЫ КОНФЕРЕНЦИИ

МЕЖДУНАРОДНАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ

«ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ И МЕДИЦИНСКИЕ БИОТЕХНОЛОГИИ»

Проводится в рамках Московского международного конгресса

«БИОТЕХНОЛОГИЯ: СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ»

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

Под патронатом
Правительства Москвы

Under the patronage
of Moscow Government

20 - 22 марта
2012
March, 22 - 22

BIO ТЕХНОЛОГИИ

СПОНСОРЫ СЕКЦИЙ КОНФЕРЕНЦИИ

Pfizer

GE Healthcare
imagination at work

SPONSORS OF SECTIONS OF THE CONFERENCE

СПОНСОР КОНКУРСА МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ:

ОАО «ИНСТИТУТ БИОТЕХНОЛОГИЙ
ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ»

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

INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONFERENCE

“PHARMACEUTICAL AND MEDICAL BIOTECHNOLOGY”

Within the framework of Moscow International Congress

“BIOTECHOLOGY: STATE OF THE ART AND PROSPECTS OF DEVELOPMENT”

CONFERENCE PROCEEDINGS

УДК 663.1+579+577.1
ББК 28.072
Б63

МЕЖДУНАРОДНАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ «ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ И МЕДИЦИНСКИЕ БИОТЕХНОЛОГИИ»

материалы Московской международной научно-практической конференции «Фармацевтические и медицинские биотехнологии» (Москва, 20–22 марта, 2012 г.)
М.: ЗАО «Экспо-биохим-технологии», РХТУ им. Д.И. Менделеева,
2012 – 568 с.

ISBN 5-7237-0372-2

УДК 663.1+579+577.1
ББК 28.072

ISBN 5-7237-0372-2

Настоящие материалы конференции созданы в ООО «Экспоконсалтинг» на основании информации, предоставленной организаторами, экспонентами и рекламодателями выставки и конгресса.
Заказчик: **© 2012 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.

INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONFERENCE "PHARMACEUTICAL AND MEDICAL BIOTECHNOLOGY"

Proceedings of the International Scientific Conference "Pharmaceutical and Medical Biotechnology" (March 20-22, 2012, Moscow, Russia),
Moscow: JSC "Expo-biochem-technologies", D.I. Mendeleyev University of Chemistry and Technology of Russia, 2012 – 568 p.

ISBN 5-7237-0372-2

This Conference 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: **© 2012 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 КОНФЕРЕНЦИИ И ВЫСТАВКИ:
THE ORGANIZERS OF THE CONFERENCE AND EXHIBITION ARE:

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

ОРГАНИЗАЦИИ, СОДЕЙСТВУЮЩИЕ ПОДГОТОВКЕ КОНФЕРЕНЦИИ 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-исследвательский 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)
ФГБОУ ВПО МГУПП
Всероссийский институт лекарственных растений (ВИЛАР)
МИТХТ им. М.В. Ломоносова
ГУ НИИ питания РАМН
РОАО «Росагробиопром»
Технологическая платформа "Медицина будущего"
Деловой Совет Средне-Атлантических штатов Америки и России
D. Mendeleyev University of Chemical Technology of Russia
M.M. Shemyakin and Yu.M. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, RAS
GE Scientific and Research Institute of Biomedical Chemistry of the RAMS
N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics of the Russian Academy of Sciences
Moscow State University of Food Production
The Departments of Chemistry and Biology of M.V. Lomonosov Moscow State University
Moscow State University of Fine Chemical Technologies Named after M.V. Lomonosov
Research Institute of Nutrition of the RAMS
Biomedical Technologies Center
ROAO "Rosagrobioprom"
Technology platform " The Future of Medicine"
Mid-Atlantic-Russian Business Council

СОСТАВ ПРОГРАММНОГО КОМИТЕТА МЕЖДУНАРОДНОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ «ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ И МЕДИЦИНСКИЕ БИОТЕХНОЛОГИИ» И X МЕЖДУНАРОДНОЙ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОЙ ВЫСТАВКИ «МИР БИОТЕХНОЛОГИИ 2012»

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, ***председатель***
Швец Виталий Иванович	академик РАМН, зав. кафедрой биотехнологии и бионанотехнологии МИТХТ им. М.В. Ломоносова, ***сопредседатель, председатель конкурса молодых ученых***
Цыб Сергей Анатольевич	к.э.н., директор Департамента химико-технологического комплекса и биоинженерных технологий Минпромторга РФ, ***сопредседатель***
Чехонин Владимир Павлович	д.м.н., профессор, академик РАМН, руководитель Отдела медицинских нанобиотехнологий РГМУ, ***руководитель Рабочей группы***
Алешников Владимир Евгеньевич	генеральный директор ЗАО «Экспо-биохим-технологии», ***ответственный секретарь Оргкомитета***
Береговых Валерий Васильевич	член-корр. РАМН, профессор, зав.кафедрой организации производства и реализации лекарственных средств Первого Московского Государственного Медицинского Университета им. И.М.Сеченова
Быков Виктор Александрович	д.т.н., генеральный директор ЗАО «Нанотехнология» МДТ»
Власов Валентин Викторович	академик РАН, директор Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск
Дмитриев Александр Валентинович	д.б.н., зам. директора НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН, г. Санкт-Петербург
Егоров Алексей Михайлович	академик РАМН, профессор, зав. лабораторией инженерной энзимологии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова
Vladimir Zelman	M.D., Ph.D., Department of Anesthesiology, University of Southern California, US
Захарченко Олег Сергеевич	к.т.н., заместитель директора ОАО «Институт биотехнологий ветеринарной медицины»
Иванов Сергей Викторович	генеральный директор Московского химико-фармацевтического производственного объединения им. Н.А. Семашко, ФГУП
Иващенко Андрей Александрович	д.т.н., председатель Совета директоров Центра высоких технологий «ХимРар»
Калинин Сергей Павлович	директор научно-производственного комплекса ЗАО «Биннофарм»
Kel Alexander	GeneXplain GmbH, Wolfenbuettel, Germany

Колесников Сергей Иванович	академик РАМН
Комиссаров Алексей Геннадиевич	к.э.н., Руководитель Департамента науки, промышленной политики и предпринимательства города Москвы
Красильников Игорь Викторович	д.б.н., профессор
Крюков Сергей Вениаминович	к.т.н., Председатель Совета Директоров РОАО «Росагробиопром»
Вэл Коган	президент Делового Совета Среднеатлантических штатов Америки и России, США
Меньшутина Наталья Васильевна	профессор, директор Российско-Швейцарского учебно-научного центра трансфера фармацевтических и биотехнологий, РХТУ им. Д.И. Менделеева
Наркевич Игорь Анатольевич	профессор, ректор Санкт-Петербургской государственной химико-фармацевтической академии
Овчинникова Татьяна Владимировна	профессор кафедры биотехнологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, руководитель Научно-образовательного центра Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, ***сопредседатель конкурса молодых ученых***
Огородова Людмила Михайловна	д.м.н., профессор, депутат Государственной Думы РФ
Поройков Владимир Васильевич	профессор, заведующий отделом биоинформатики Института биомедицинской химии В.Н. Ореховича РАМН
Савашинский Сергей Иванович	директор по внешним связям компании «Мерк Шарп и Доум Идеа»
Самуйленко Анатолий Яковлевич	академик РАСХН, профессор, директор Всероссийского научно-исследовательского и технологического института биологической промышленности
Silke Schumacher	директор по международным связям Европейской лаборатории молекулярной биологии (EMBL, Germany)
Тихонович Игорь Анатольевич	академик РАСХН, директор Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной микробиологии, г. Санкт-Петербург
Тутельян Виктор Александрович	академик РАМН, директор Государственное учреждение научно-исследовательский институт питания РАМН
Цыганов Дмитрий Игоревич	д.т.н., профессор, зав.кафедрой Медицинской техники и охраны труда Российской медицинской академии последипломного образования

PROGRAMME COMMITTEE OF THE INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONFERENCE "PHARMACEUTICAL AND MEDICAL BIOTECHNOLOGY"

Anatoly I. Miroshnikov	Academician of the Russian Academy of Sciences (RAS), Professor,Vice-Director of the M.M. Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the RAS, Chairman of the Scientific Council of the Pushchino Scientific Center, RAS, ***Chairman***
Vitaly I. Shvets	Academician of the Russian Academy of Medical Sciences (RAMS), Professor , Head of the Department of Biotechnology and bionanotechnology Lomonosov Moscow State Academy of Fine Chemical Technology, *Chairman of the Young Scientists Contest*, ***Co-chairman***
Sergey A. Tsyb	PhD, Director of Chemical Processing Complex and Bioengineering Technologies of Ministry of Industry and Trade of the Russia Federation, ***Co-chairman***
Vladimir P. Chekhonin	Academician of the of the Russian Academy of Medical Sciences (RAMS), N.I. Piragov State Medical University, ***Co-chairman of Working Group***
Vladimir E. Aleshnikov	General Director of the JSC "Expo-biochem-technologies", ***Executive Secretary of the Organizing Committee***
Valeriy V. Beregovyh	Corresponding Member of the Russian Academy of Medical Sciences (RAMS), Professor, the Head of Department of Managements Science for Medicine Manufacture and Pharmaceutical Supply System, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University
Victor A. Bykov	PhD, Professor, General Director of the "Nanotechnology MDT"
Valentin V. Vlasov	Academician of the Russian Academy of Sciences (RAS), Professor, Director of the Institute of Chemistry Biology and Fundamental Medical of the RAS, Novosibirsk
Alexander V. Dmitriev	PhD, Professor, Vice-Director of the Institute of Experimental Medicine of the NorthWest Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, St.Petersburg
Aleksey M. Egorov	Academician of the Russian Academy of Medical Sciences, Professor, M.V. Lomonosov Moscow State University
Oleg S. Zaharchenko	PhD, JSC "Institute of Biotechnology Veterinary Medicine"
Vladimir L. Zelman	M.D., PhD, Department of Anesthesiology, University of Southern California, US
Sergey V. Ivanov	General Director of the OJSC «Moshimfarmpreparaty N.A Semashko
Andrey A. Ivaschenko	PhD, Professor, The Chairman of the Committee of Directors "CHEMRAR"
Sergey .P. Kalinin	Company "Binnofarm"

Alexander Kel	PhD, GeneXplain GmbH, Wolfenbuettel, Germany
Sergey I. Kolesnikov	Academician of the Russian Academy of Medical Sciences (RAMS)
Alexey G. Komissarov	PhD, Head of Department of Science, Industry and Entrepreneurship, Moscow City Government
Igor V. Krasilnikov	PhD, Professor
Sergey V. Krukov	PhD, Professor, the Chairman of the Committee of Directors ROAO "Rosagrobioprom"
Natalia V. Menshutina	Ph.D, Professor, Dean of the Faculty of Information Technology and Management, Director of thRussian-Swiss Science and Education Center shuttle Pharmaceutical and Biotechnology, Mendeleev University of Chemical Technology of Russia
Igor A. Narkevich	PhD, Professor, rector of the St.-Petersburg State Chemical Pharmaceutical Academy
Tatiana V. Ovchinnikova	PhD, Chief of the Scientific and Eduction Center of the M.M.Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the RAS, Professor of the Department of Biotechnology of the I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, ***Co-chairman of the Young Scientists Contest***
Vladimir V. Poroikov	PhD, Professor, Head of the Department for Bioinformatics, Institute of Biomedical Chemistry of the RAMS
Sergey I. Savashinskiy	Director of External Relations Company Merck Sharp and Doun INK
Anatoly Ya. Samuylenko	Academician of the Russian Academy of Agricultural Sciences (RAAS), Professor, director of the All-Russian Scientific Research and Technological Institute of Biological Industry
Silke Schumacher	Dr., Director of International Relations, European Molecular Biology Laboratory, Heidelberg, Germany
Igor A. Tikhonovich	Academician of the Russian Academy of Agricultural Sciences (RAAS), Professor, director of the All-Russian Institute of Agricultural Microbiology of the Russian Academy of Agricultural Sciences , St. Petersburg
Victor A. Tutelyan	Academician of the Russian Academy of Medical Sciences (RAMS), Professor, Chief Academic Secretary of the Russian Academy of Medical Sciences Presidium, Director of Research Institute of Nutrition of the RAMS
Dmitry I. Tsyganov	PhD, Professor, head of Department of medical equipment and health of Russian medical Academy postgraduate education
Val Kogan	President of Mid-Atlantic-Russia Business Council, USA

СОСТАВ КОНКУРСНОЙ КОМИССИИ КОНКУРСА МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ.

СПОНСОР КОНКУРСА МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ: ОАО «ИНСТИТУТ БИОТЕХНОЛОГИЙ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ

Береговых Валерий Васильевич	член-корр. РАМН, д.т.н., профессор, зав.кафедрой организации производства и реализации лекарственных средств Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М.Сеченова
Быков Виктор Александрович	д.т.н., генеральный директор ЗАО «Нанотехнология» МДТ»
Гаппаров Минкаил Гаджиевич	член-корр. РАМН, д.м.н., зам. директора НИИ питания РАМН
Градова Нина Борисовна	профессор, д.б.н., кафедра биотехнологии РХТУ им. Д.И. Менделеева
Дзантиев Борис Борисович	профессор, д.б.н., зам. директора института по научной работе, зав. лабораторией иммунобиохимии, Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН
Егоров Алексей Михайлович	академик РАМН, д.б.н, профессор МГУ имени М.В.Ломоносова
Завриев Сергей Кириакович	член-корр. РАСХН, д.б.н., зав. отделом Института биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН
Захарченко Олег Сергеевич	к.т.н., зам. директора ОАО «Институт биотехнологий ветеринарной медицины»
Красильников Игорь Викторович	профессор, д.б.н.
Крюков Сергей Вениаминович	к.т.н., председатель Совета Директоров РОАО «Росагробиопром»
Kel Alexander	GeneXplain GmbH, Wolfenbuettel, Germany
Меньшутина Наталья Васильевна	профессор, директор Российско-Швейцарского учебно-научного центра трансфера фармацевтических и биотехнологий, РХТУ им. Д.И. Менделеева
Мурашев Аркадий Николаевич	профессор, д.б.н., рук. лаборатории биологических испытаний Филиала Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пущино
Николаев Евгений Николаевич	профессор, д.ф.-м.н., ИБХФ РАН, зав. лабораторией масс-спектрометрии биомакромолекул
Панфилов Виктор Иванович	профессор, д.т.н., проректор РХТУ им. Д.И. Менделеева
Поройков Владимир Васильевич	профессор, д.б.н., зав. отделом биоинформатики, зав. лабораторией структурно-функционального конструирования лекарств ФГБУ «ИБМХ» РАМН

Смирнова Ирина Валерьевна	профессор, директор Института процессов термального разделения Гамбургского технологического университета, Германия
Хамитов Равиль Авгатович	профессор, д.м.н., ГНЦ РФ ФГУП «ГосНИИгенетика»
Харченко Петр Николаевич	член-корр. РАСХН, д.б.н., директор ВНИИ Сельскохозяйственной биотехнологии Россельхозакадемии
Цыганов Дмитрий Игоревич	профессор, д.т.н., зав. кафедрой медицинской техники и охраны труда Российской медицинской академии последипломного образования
Шурыгин Александр Иванович	к.б.н., советник генерального директора РОАО «Росагробиопром»
Яненко Александр Степанович	профессор, д.б.н., зам. директора ФГУП ГНЦ ГосНИИгенетика
Представитель компании Мерк	

Ученый секретарь комиссии: **Крылова Лариса Петровна**, к.х.н., Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН

ПЛЕНАРНОЕ ЗАСЕДАНИЕ «ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ДЛЯ БИОФАРМАЦЕВТИКИ» 14
PLENARY SESSION “FUNDAMENTAL RESEARCHES FOR BIOPHARMACEUTICALS” 14

СЕКЦИЯ 1 «БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ» 15
SECTION 1 “BIOPHARMACEUTICALS PREPARATIONS” 15

СЕКЦИЯ 2. «БИОТЕХНОЛОГИЯ ГЕННО-ИНЖЕНЕРНЫХ ПРОДУЦЕНТОВ 100
SECTION 2 “BIOTECHNOLOGY GENETIC ENGINEERING PRODUCERS” 100

СЕКЦИЯ 3. «КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В МЕДИЦИНЕ» 129
SECTION 3 “CELLULAR TECHNOLOGY IN MEDICINE” 129

СЕКЦИЯ 4. «ДОКЛИНИЧЕСКИЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ ИСПЫТАНИЯ ПРИ РАЗРАБОТКЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ» 153
SECTION 4 “PRECLINICAL AND CLINICAL TRIALS FOR DRUG DEVELOPMENT” 153

СЕКЦИЯ 5 «ПРИМЕНЕНИЕ НАНОБИОТЕХНОЛОГИИ В МЕДИЦИНЕ» 192
SECTION 5 “APPLICATIONS OF NANOBIOTECHNOLOGIES IN MEDICINE” 192

СЕКЦИЯ 6. «ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ БИОТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ВЕТЕРИНАРИИ» 285
SECTION 6 “PHARMACEUTICAL BIOTECHNOLOGY IN VETERINARY MEDICINE” 285

СЕКЦИЯ 7 «СОВРЕМЕННЫЕ ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ» 330
SECTION 7 “MODERN INSTRUMENTAL METHODS OF INVESTIGATION” 330

СЕКЦИЯ 8 «ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КЛАСТЕРЫ И РАЗВИТИЕ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ.
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНАЯ СОБСТВЕННОСТЬ» 358
SECTION 8 “PHARMACEUTICALS AND THE DEVELOPMENT OF CLUSTERS OF PHARMACEUTICAL INDUSTRY.
INTELLECTUAL PROPERTY“ 358

СЕКЦИЯ 9 «НОВЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ В ТЕХНОЛОГИИ И АППАРАТУРНОМ ОФОРМЛЕНИИ
В БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ» 370
SECTION 9 “NEW DIRECTIONS IN THE TECHNOLOGY AND INSTRUMENTAL APPEARANCE
IN BIOPHARMACEUTICAL PROCESS” 370

СЕКЦИЯ 10 «ПОДГОТОВКА КАДРОВ» 416
SECTION 10 «TRAINING (INCLUDING POSTGRADUATE EDUCATION)» 416

КРУГЛЫЙ СТОЛ «БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЕ ОБРАЗОВАНИЕ И БОЛОНСКИЙ ПРОЦЕСС» 416
SEMINAR «BIOTECHNOLOGY EDUCATION AND BOLOGNA PROCESS» 416

«СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ И ПИЩЕВАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ» 441
“AGRICULTURE AND FOOD BIOTECHNOLOGY” 441

РОССИЙСКО-ШВЕЙЦАРСКО-НЕМЕЦКИЙ СИМПОЗИУМ «ИННОВАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ
В БИОФАРМАЦЕВТИКЕ И ОБОРУДОВАНИЕ ДЛЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕДПРИЯТИЙ» 470
RUSSIAN-SWISS-GERMAN SYMPOSIUM “INNOVATIVE TECHNOLOGIES
IN BIOPHARMACEUTICAL AND EQUIPMENT FOR PHARMACEUTICAL COMPANIES” 470

МЕЖДУНАРОДНЫЙ СИМПОЗИУМ «НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОЕ СОТРУДНИЧЕСТВО: РОССИЯ – EMBL
(ЕВРОПЕЙСКАЯ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРИЯ) В ОБЛАСТИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ» 486
INTERNATIONAL SYMPOSIUM “SCIENTIFIC AND TECHNICAL COOPERATION: RUSSIA – EMBL
(EUROPEAN MOLECULAR BIOLOGY LABORATORY) IN MOLECULAR BIOLOGY” 486

BIO TECHOLOGIES

RUSSIA March 19-22, 2013 MOSCOW

Under the patronage of Moscow Government

VII MOSCOW INTERNATIONAL CONGRESS

BIOTECHNOLOGY:

STATE OF THE ART AND PROSPECTS OF DEVELOPMENT

SUBJECT OF THE CONGRESS:

PLENARY SESSION "FUNDAMENTAL RESEARCHES AND BIOTECHNOLOGY"
Section 1. "BIOTECHNOLOGY AND MEDICINE. Sciences, pharmaceutical industry, diagnostic"
Section 2. "BIOTECHNOLOGY AND AGRICULTURE"
SECTION 3. "BIOTECHNOLOGY AND INDUSTRY"
SECTION 4 "NANOBIOTECHNOLOGY"
SECTION 5. "BIOTECHNOLOGY AND FOOD FOR LIFE"
SECTION 6. "BIOTECHNOLOGY AND ENVIRONMENT"
SECTION 7. "BIOCATALYSIS AND BIOCATALYTIC TECHNOLOGIES"
SECTION 8. "BIOGEOTECHNOLOGY"
SECTION 9. "INNOVATIONS, FINANCES AND BUSINESS"
SECTION 10 "BIOTECHNOLOGY AND EDUCATION"
SECTION 11. "BIOINFORMATION SCIENCE"
PLENARY SESSION. "PROBLEMS OF BIOSAFETY. BIOETHICS"
INTERNATIONAL SYMPOSIA

XI INTERNATIONAL SPECIALIZED EXHIBITION

BIOTECH WORLD'2013

SUBJECT OF THE EXHIBITION:

The entire spectrum of biological products for pharmaceutical, food and agricultural industry, veterinary medicine, geology and industrial enterprises, biological products for protection and recovery of environment. Bioactive additives. Test systems for determination of water quality and biological activity, alcohol and drugs content. Biocatalysis and biocatalytic technologies, biodiesel, bioethanol. Nutrient mediums. Processes and devices for purification, preparation and activation of water. Equipment and instrumentation for determination of water activity, molecular structure and isotope oxygen-hydrogen structure of water for use in agriculture, food branches of industry, medicine, cosmetology and others. Industrial and laboratory safety.

INVITE YOU TO TAKE PART!

ЭКСПО-БИОХИМ-ТЕХНОЛОГИИ
EXPO-BIOCHIM-TECHNOLOGIES

CONTACT DETAILS:
Tel. / Fax: (7 495) 645-78-70, 645-82-57, 939-72-85
E-mail: lpkrylova@sky.chph.ras.ru, atv@biomos.ru, ser@biomos.ru
Internet: www.mosbiotechworld.ru

ПЛЕНАРНОЕ ЗАСЕДАНИЕ «ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ДЛЯ БИОФАРМАЦЕВТИКИ»

PLENARY SESSION "FUNDAMENTAL RESEARCHES FOR BIOPHARMACEUTICALS"

СФЕРОИДИЗОВАННЫЕ МАТЕРИАЛЫ НА ОСНОВЕ СТЕКЛА ДЛЯ ЯДЕРНОЙ МЕДИЦИНЫ

Саркисов П.Д.[1], **Сигаев В.Н.**[1], **А. Палеари**[1,2], **О.Б. Егоров**[3], **И.В. Синюков**[4]
[1]*Международная лаборатория функциональных материалов на основе стекла, РХТУ им. Д.И. Менделеева, Миусская пл., 9, Москва 125047, Россия*
[2]*Университет Милана-Бикокка, Via R. Cozzi 53, Милан I-20125, Италия*
[3]*Компания MedVio, Seattle, WA 98199, США*
[4]*ООО «БЕБИГ», ул. Твардовского, д. 8, стр. 1, Москва 123458, Россия*

Представлен обзор исследований сфероидизованных стеклообразных материалов для ядерной медицины, перспектив их использования в онкологии в качестве средств транспортировки терапевтических изотопов к внутренним органам человека (внутритканевой лучевой терапии — брахитерапии), в радиационной синовэктомии, в диагностических целях. Возможность в широких пределах варьировать состав стеклообразной матрицы, ее нано- и микроструктуру, пористость, тип и содержание радиоактивных изотопов, высокая термическая и радиационная стойкость стекол, позволяющая проводить их активацию в атомном реакторе, обусловили широкий поток исследований стекол на основе алюмосиликатной, боросиликатной, фосфатной и других систем. Наиболее широкое применение нашли микрошарики из YAS стекла состава $19Y_2O_3$-$17Al_2O_3$-$64SiO_2$ фирмы MDS Nordion, тогда как большинство материалов находится на разных стадиях разработки или клинических испытаний.

В РХТУ им. Д.И. Менделеева разработана технология стеклообразных микрошариков различных составов и размеров, в том числе с монодисперсным распределением, с поверхностным нано- или микрослоем, не содержащим радиоактивного изотопа, с регулируемой пористостью. Разработаны микрошарики из YAS стекла с повышенным содержанием Y_2O_3. Получено регистрационное удостоверение Росздравнадзора, разрешающее их производство, продажу и применение на территории России, проведены первые операции по радиоэмболизации печеночной артерии. Дальнейшее развитие терапии онкологических заболеваний и методов диагностики связывается нами с разработкой пористых микросфер с высокой удельной радиоактивностью и низкой плотностью, с комбинированием β- и γ-излучающих радиоизотопов.

SPHEROIDIZED GLASS-BASED MATERIALS FOR NUCLEAR MEDICINE

Sarkisov P.D.[1], **Sigaev V.N.**[1], **A. Paleari**[1,2], **O.B. Egorov**[3], **I.V. Sinyukov**[4]
[1]*International Laboratory of Functional Glass-Based Materials, D. Mendeleyev University of Chemical Technology, Miusskaya sq., 9, Moscow 125047, Russia*
[2]*University of Milan-Bicocca, Via R. Cozzi 53, Milan I-20125, Italy*
[3]*MedVio Company, Seattle, WA 98199, USA*
[4]*BEBIG Company, 8 ul. Tvardovskogo, Moscow 123458, Russia*

We present a review of spheroidized glassy materials for nuclear medicine, prospects of their applications in oncology as a tool for delivery of therapeutic isotopes to internal organs (interstitial

radiotherapy — brachytherapy), in radiation synovectomy and for diagnostic purposes. Opportunity of wide variation of the glass matrix composition, nano- and microstructure, porosity, type and content of radioactive isotopes together with the high thermal and radiation resistance of glass allowing to carry out their activation in a nuclear reactor resulted in a large number of studies of glasses in aluminosilicate, borosilicate, phosphate and other glass-forming systems. For the moment, the widest medical application has been found for YAS glass microspheres of the $19Y_2O_3$-$17Al_2O_3$-$64SiO_2$ composition manufactured by *MDS Nordion* company, whereas the majority of other materials are still at different stages of development or clinical trials. In Mendeleyev University of Chemical Technology of Russia, technology of glass microspheres of different chemical compositions and sizes has been developed, including those possessing the monodisperse size distribution, protective surface nano- or microlayers containing no radioactive isotopes, adjustable porosity. YAS glass microspheres with Y_2O_3 content increased to 23 mol.% have been elaborated. Registration certificate of Federal Service of Surveillance in Healthcare and Social Development authorize their manufacturing, sale and use in Russia. The first operations of radioembolization of the hepatic artery have already been performed. In our opinion, further development of cancer therapy and diagnostic techniques is closely related to elaboration of porous microspheres with high specific radioactivity, low density and combination of β- and γ-radioactive isotopes.

INNOVATIVE VACCINE DEVELOPMENT: ACADEMIC ALLIANCES WITH SANOFI PASTEUR

Roman M. Chicz
Sanofi Pasteur, Cambridge, USA

Sanofi Pasteur is the world's largest company completely dedicated to vaccines. Our strong commitment to global health and vision of a world where no one suffers or dies from a vaccine-preventable disease has a history of over 100 years. We maintain high standards and expertise in Research and Development and have built an extensive vaccine portfolio against 20 infectious diseases. Worldwide manufacturing sites and distribution networks make it possible to produce over 1.6 billion doses of vaccines and immunize over 500 million people annually. Vaccines produced by Sanofi Pasteur are renowned for exceptional quality and safety records, and to make them even more affordable and available Sanofi Pasteur expanded its presence in emerging regional markets. The most recent examples of these efforts are the acquisition of Shantha Biotechnics in India and our recent partnership with the Chumakov Institute in Russia.

Sanofi Pasteur has a strong commitment to develop new vaccines against infectious diseases with unmet medical needs. We invest over 1 million Euros in Research and Development every day, and employ over 2,000 scientists working on multiple vaccine projects at discovery, pre-clinical and clinical stages. Our current pipeline has 13 improved and innovative vaccine candidates (including Dengue fever, S. pneumonia, N. meningitides, M. tuberculosis, Rotavirus, C. difficile, and P. aeruginosa) in clinical development, and a Japanese encephalitis vaccine which has been licensed in some markets. Most of the vaccine candidates in our clinical pipeline and nearly our complete exploratory portfolio have come from partnerships. Our company has a legacy of collaborating and partnering with academic centers, research institutes, government and non-government organizations, and biotechnology and pharmaceutical companies from around the globe. Sanofi Pasteur continues to partner innovative opportunities at different stages of maturity – from early stage discovery vaccine candidates developed in academic laboratories to novel technology platforms for life cycle management of manufacturing processes.

Innovation in vaccine development is the driver for success in the current and future research climate. Novel protective antigens, premier antibody discovery and protein scaffold technologies, tools to characterize the human immune response, vaccine delivery systems and devices, and new vaccine candidates for clinical research, are among the cutting edge innovations that Sanofi Pasteur has been put into practice in recent years. The identification and implementation of external scientific innovations have been facilitated by placing the Sanofi Pasteur External R&D Centers of Excellence in biotechnology clusters, such as Cambridge, USA and Lyon, France. Sanofi Pasteur is a trusted partner with broad experience and expertise in vaccines, and we are searching for collaborative efforts based on the idea of openness in vaccine research innovations with the scientific community around the world.

СЕКЦИЯ 1 «БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ»
SECTION 1 "BIOPHARMACEUTICALS PREPARATIONS"

СПОНСОР СЕКЦИИ

SPONSOR SECTION

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

СТРУКТУРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ БЫЧЬЕГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА И ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНОГО ДЕКСТРАНА В ВОДЕ

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

Общепринято, что такой инертный полимер как декстран не взаимодействует с белками вследствии особенности его стерических и гидродинамических свойств. Однако изучение возможных взаимодействий между декстранами и малыми глобулярными белками является предметом особого внимания исследователей. Эти биополимеры широко применяются для биомедицинских целей вследствии их высокой растворимости, биосовместимости, и смешиваемости с другими биологическими макромолекулами.

В данной работе изучены специфические взаимодействия между бычьем сывороточным альбумином (БСА) и декстраном в воде, используя методы кругового дихроизма, флуоресцентной спектроскопии, и дифференциальной сканирующей микрокалориметрии (ДСК). Из полученных результатов следует, что декстран может взаимодействовать с БСА в воде если полисахарид представлен в избытке по отношению к белку, и белок находится в ассоциированном состоянии. Взаимодействие обусловлено образованием водородных связей между гидроксильными группами полисахарида и триптофановыми остатками на поверхности белковой глобулы. Декстран влияет на структуру воды и ослабляет водородные связи в третичной структуре белка. Эти взаимодействия приводят к частичной дестабилизации вторичной и третичной структур белка и к добавочной экспозиции гидрофобных триптофановых остатков к поверхности глобулы. Если суммарная концентрация биополимеров и весовая доля декстрана в смеси высоки, стабильность белка к термоагрегации и денатурации уменьшается как результат возрастания гидрофобности белка. Термическая агрегация белка в составе комплекса с декстраном опережает процесс термоденатурации белка, в то время как эти два явления сопровождают друг друга, согласно Привалову и Потемкину, в условиях отсутствия декстрана. Одно из важных следствий проведенной работы является то что информация об агрегации и денатурации должна быть принята во внимание, когда рассматривается поведение водных смесей, содержащих БСА и декстран для медицинских целей.

STRUCTURAL INVESTIGATION OF THE INTERACTION BETWEEN BOVINE SERUM ALBUMIN AND HIGH MOLECULAR WEIGHT DEXTRAN IN WATER

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

It has been generally accepted that dextran is essentially an inert polymer that does not interact with proteins due to its steric and hydrodynamic properties. However, study of possible interactions between dextrans and small globular proteins turned out to be of special interest. These biopolymers are widely used for biomedical purposes, because of the high solubility of the components, their biocompatibility, and their miscibility with other biological macromolecules.

This work reports on investigations, which were performed to study possible specific interactions in water between bovine serum albumin (BSA) and dextran by means of the following methods: circular dichromism, fluorescence spectroscopy, and deferential scanning calorimetry (DSC). The results obtained in the present study are summarized as follows: Dextran is able to interact with BSA in (bidistilled) water if the polysaccharide is in excess and if the protein is in its associated native state. This interaction is likely due to the formation of hydrogen bonds between the hydroxyl groups of the polysaccharide and the tryptophan residues located on the surface of the protein globule. It is also possible that dextran can affect the water structure and weaken the hydrophobic interactions in the tertiary structure of the protein. These interactions lead to the partial destabilization of the secondary and tertiary structures of the protein and to an additional exposure of the hydrophobic triptophan residues to the surface of the globule. If the total polymer concentration and the dextran/ protein ratio are high, the stability of the protein with respect to both unfolding and thermoaggregation is significantly decreased as a result of an increase in protein hydrophobicity. The thermal aggregation of protein within the protein/ dextran complex passes ahead of its thermal denaturation, whereas these two phenomena accompany each other in the absence of dextran according to Privalov and Potekhin. One important consequence of this study is that the information on denaturation and aggregation must be taken into account when interpreting the experimentally determined behavior of the ternary system water/BSA/dextran for medical application.

НОВАЯ ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ ВАКЦИНА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА В

Аракелов С.А.
компания Биоаваксс, г. Москва

Цена проблемы

По данным ВОЗ во всем мире более чем 350 миллионов человек имеют хроническую инфекцию вируса гепатита В (ВГВ). По оценкам МЗ РФ, на территории России проживает не менее 3 миллионов хронических носителей ВГВ.

- Рынок терапевтических препаратов для больных хроническим гепатитом В в России на сегодня удовлетворяется комбинацией препаратов ламивудин и пегилированный интерферон. Оба препарата импортные. Стоимость курса лечения составляет 240-600 тысяч рублей без учета стоимости больничного обслуживания и манипуляций.

Проблема остаётся.

- Интерфероны усиливают иммунный ответ, направленный на борьбу с вирусом гепатита В. Однако, интерфероны эффективны только у 20-30% пациентов. Выраженные побочные эффекты у 100% !

- Препараты с прямым противовирусным действием (ламивудин) подавляют размножение вируса. Однако со временем вирус мутирует и развивается устойчивость, что приводит к потере эффекта от лечения и дальнейшему прогрессированию болезни.

- Лечение может длиться от 6 месяцев до нескольких лет.

Возможное решение

- Вакцина 4-го поколения, с использованием ВСЕХ четырёх структурных антигенов вируса гепатита В, способная индуцировать широкий спектр противовирусных антител.

- За счет использования компонентов, специфичных для preS областей и HBcAg (core-антигена), вакцина должна иметь не только профилактическое действие широкого спектра, но и терапевтическое применение в лечении хронического гепатита В.

- Вакцинная терапия может стать хорошей альтернативой интерферону и ламивудину, потому что: 1 – обладает длительным противовирусным и иммуномодулирующим эффектом, 2 – вакцинотерапия обходится сравнительно дешевле и 3 – нет выраженных побочных эффектов.

Конкуренты

- Компания Дайнавакс (США) в 2011 году получила предварительные результаты вакцинотерапии хронического гепатита В с использованием двух антигенов (HBs и HBcor).

THE CHALLENGE TO PRODUCE BIOLOGICALS OF HIGH QUALITY: CULTIVATION OF ANIMAL CELLS IN SERUM-FREE MINIMAL MEDIA

Ferruccio Messi, PhD,
Cell Culture Technologies, Gravesano/Lugano, Switzerland

Cell Culture Technologies has elaborated particular culture methods for preserving, growing and transfecting established animal cell lines in minimal culture media totally free of proteins, peptones, peptides, chemically undefined additives and animal-derived ingredients. Such minimal media are used for growing several animal cell lines such as Chinese Hamster Ovary (CHO) cells, hybridomas and kidneyderived cells to produce recombinant glycoproteins, monoclonal antibodies and viral particles.

In 2003, we entered into a technical collaboration with the European Collection of Cell Cultures (ECACC), Porton Down UK, to adapt ECACC cell lines to serum-free proliferation in our minimal media, and to transfer our know-how relating to cultivation and cryopreservation of such newly adapted cell lines.

Today, the ECACC distributes several serum-free human and animal cell lines including Sp2/0, NS0, BHK-21, HEK 293, Vero, COS-1 and COS-7 banked in our minimal media. Biologicals made by animal cells grown in our minimal culture media are already on the worldwide market.

The application of our know-how could unlocks amazing prospects in the future of industrial animal cell culture in Russia. Evidence suggests that our technology positively affects typical bioprocess steps for producing glycoproteins, monoclonal antibodies and vaccines from mammalian cells, ranging from the stability of the master (working) cell banks to the downstream procedures. The use of a defined minimal medium for cell cultivation decreases the risk of variability in cell growth characteristics, genetic arrangement, product synthesis rate, and product integrity. Products can be harvested with almost no loss during purification. Last, but not least, the risk of contamination by adventitious agents is greatly reduced due to the elimination of chemically undefined additives from the culture media.

Cell Culture Technologies is looking for Russian biopharma companies and vaccine manufacturers interested in obtaining the above know-how through the provision of extensive technical support to

scientists and processors. Cell Culture Technologies' offer includes the transfer of know-how under permanent scientific and technical follow-up to the biopharmaceutical and vaccine industry.

For a detailed description of our activities, please refer to www.cellculture.com

ИССЛЕДОВАНИЕ ОСТАТОЧНОГО СОДЕРЖАНИЯ АНТИБИОТИКОВ В ВАКЦИНАХ С ПОМОЩЬЮ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

Гальвидис И.А., Буркин М.А.
НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова,
Москва, 105064, Малый Казенный пер., 5; burma68@yandex.ru

Для предотвращения бактериальной и грибковой контаминации при культивировании вакцинного вируса в условиях производства используют препараты группы аминогликозидов, полимиксин, хлортетрациклин, амфотерицин В, нистатин. Их присутствие в вакцинных препаратах в качестве дополнительных компонентов в настоящее время не нормировано, а содержание регламентируется фармакопейной статьей предприятий. Возможность же сенсибилизации у привитых возрастает при увеличении концентрации антибиотиков в вакцинах. Кроме того, учитывая популяционный масштаб профилактических прививок применению антибиотиков должно уделяться особое внимание в связи с ростом микробной устойчивости. Для оценки этого фактора проведено скрининговое исследование вакцин отечественного рынка. С помощью разработанных ИФА систем присутствие тетрациклина, гентамицина, неомицина, канамицина и стрептомицина определяли в 90 образцах вакцин против возбудителей гриппа (8), кори (14), краснухи (30), эпидимического паротита (21), полиомиелита (2), клещевого энцефалита (2), гепатита А (1) и В (2), и в комбинированных препаратах отечественного и импортного производства. В препаратах паротитных, паротитно-коревых, коревых и краснушных вакцин обнаружен гентамицин (32), неомицин (13) и канамицин (3), содержание которых, как правило, не превышало заявленный уровень. Птичьи эмбрионы, используемые для наработки ряда вакцинных вирусов, также могут являться источником попадания антибиотиков в вакцину и требуют соответствующего контроля. ИФА-скрининг 86 куриных и перепелиных яиц из 38 птицефабрик выявил присутствие левомицетина (5), тетрациклина (2), бацитрацина (4) ципрофлоксацина (16). Для дальнейшего повышения качества и безопасности вакцин содержание антибиотиков в сырье и готовых препаратах не должно остаться без внимания. ИФА антибактериальных соединений простой, эффективный и специфичный метод для проведения скринингового контроля, не подвержен влиянию со стороны вакцинного материала и других консервантов.

DETERMINATION OF ANTIBIOTIC RESIDUES IN VACCINES USING ENZYME IMMUNOASSAY

Galvidis I.A., Burkin M.A.
Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera,
Maliy Kazionniy per., 5a, Moscow, 105064, Russia; burma68@yandex.ru

To avoid bacterial and/or fungal contamination of vaccine virus culture during manufacturing process the drugs of aminoglycoside group, polymyxin, chlortetracycline, amphotericin B, nistatin are used. The residue limits of these substances as supplementary components in vaccines are not established at present, their content is regulated by manufacturer's monograph. The chances of sensitization in immunized persons are increased when antibiotic concentration in vaccine

increasing. Moreover, taking into account the population scale of prophylactic vaccination and microbial resistance expansion the usage of antibiotics is to be the focus of attention. To estimate this factor the screening study of vaccines from domestic market was done. The ninety vaccine samples against pathogens of influenza (8), measles (14), mumps (21), rubella (30), poliomyelitis (2), tick-borne encephalitis (2), hepatitis A (1) and B (2), and complex preparations of domestic and foreign manufacturers were tested using the developed enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs) to tetracycline, gentamicin, neomycin, kanamycin and streptomycin. Gentamicin (32), neomycin (13) and kanamycin (3) were revealed in mumps, mumps-measles, measles and rubella vaccines. Their content was not as a rule higher than declared level. Embryonated avain's eggs that used for accumulation of several vaccine viruses are also the issue of antibiotics in vaccines and have to be appropriate tested. Hen's and quail's eggs (n = 86) from 38 battery farms were ELISA screened and the residues of chloramphenicol (5), tetracycline (2), bacitracin (4) and ciprofloxacin (16) were detected. The further improvement of quality and safety means the content of antibiotics in raw materials and proprietary vaccines is noteworthy. The ELISA is simple, effective and specific method of antibacterial residues determination for screening control, it has no interference from vaccine material as well as other preservatives and stabilizers.

РАЦИОНАЛЬНАЯ ОПТИМИЗАЦИЯ АПТАМЕРОВ ДЛЯ ЛЕКАРСТВЕНОГО ПРИМЕНЕНИЯ. ПРОБЛЕМЫ И РЕШЕНИЯ

Головин А.В.[1,2], **Копылов А.М.**[1,2], **Решетников Р.В.**[2], **Мудрик Н.Н.**[2]
[1]*Московский Государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, Россия;*
[2]*ООО «АПТО-ФАРМ», г. Москва, Россия*

Стабильность третичной структуры и другие физико-химические свойства аптамеров зачастую определяют возможность их использования в фарма индустрии и современной биотехнологии. Самосборка и конформационная стабильность аптамеров зависит от многих факторов, таких как: стэкинг взаимодействия между азотистыми основаниями, водородных связей, электростатических контактов и гидратной оболочки. Наряду с основными факторами также существуют специфические. Некоторые аптамеры содержат квадруплексы субструктуры которые стабилизируются координацией катионов некоторых металлов, специфическими взаимодействиями с петлями, соединяющими разные тяжи квадруплекса. Длина и нуклеотидный состав имеют значительное влияние на эффективность самосборки структур содержащих гуаниновый квадруплекс.

Одна из важнейших задач при разработке терапевтического средства на основе аптамера, это оптимизация и унификация процесса формирования третичной структуры. К примеру стабильность гуанинового квадруплекса зависит от заряда и размера катиона между плоскостями квартетов. К сожалению основным методом определения третичной структуры небольших нуклеиновых кислот является ЯМР, возможности которого ограничены для определения положения катионов металлов.

В нашей работе, посвящённой тромбиновому аптамеру (15-TBA), мы применили комбинацию моделирования молекулярной динамики в явно заданном растворителе (около 30 траекторий с суммарным временем наблюдения 4 μs) и гибридного квантово-механического и молекулярно-механического подхода для изучения процесса связывания катиона с тромбиновым аптамером на атомарном уровне. Мы обнаружили, что индивидуальные акты связывания катиона регулируются динамикой петель, которые играют несколько ролей. Петли стабилизируют квадруплексную субструктуру пока стабилизирующий катион не попал в место связывания. В процессе проникновения катиона в полость петли могут определять дегидратацию катиона

и путь к месту связывания. При образовании конечной структуры петли помогают удержать катион внутри квадруплекса.

Наши наблюдения позволяют предложить ряд очевидных модификаций в структуре аптамера для улучшения координации катиона. Нами были синтезированы несколько новых модификаций тромбинового аптамера, которые проявили лучшую, чем 15-TBA, антикоагулянтную активность и эффективность самосборки.

Работа поддержана Минобрнауки 16.512.11.2009.

RATIONAL IMPROVEMENT APTAMERS TO GAIN THERAPEUTICS VALUE. PROBLEMS AND SOLUTIONS

Golovin A.[1,2], **Kopylov A.**[1,2], **Reshetnikov R.**[2], **Mudrik N.** [2]
[1]*Lomonosov Moscow State University;*
[2]*Apto-Pharm Ltd; Moscow, Russian Federation*

Structural stability and other aspects of physical chemistry of aptamers are important issues for the pharmacological industry and modern biology. The formation and structural stability of aptamers depend on several factors, such as stacking interactions between nucleic acid bases, hydrogen bonds between them, electrostatic interactions and hydration shell. In addition, some aptamers containing quadruplexes have also specific stability factors, namely, coordination of carbonyl oxygens by cations inside the G-DNA stems, and presence of connecting single-stranded loops in monomeric and dimeric G-DNA molecules. Loops' length and sequence have a strong influence on G-quadruplex stability and folding efficiency. One of primary tasks in development of therapeutic agent on base of aptamer is to optimize and unify the folding process. For example quadruplex substructure depends on cations size and charge. Most of small nucleic acid structures have been solved with NMR which has limited capability to detect stabilizing ions. In the present study on thrombin aptamer (15-TBA), a combination of explicit solvent molecular dynamics simulation (30 simulations, 4 μs in total), hybrid quantum mechanics/molecular mechanics approach and isothermal titration calorimetry was used to investigate the atomistic picture of ion binding to 15-TBA. We found that the individual ion binding events are effected by connecting loops, which play several roles. They stabilize the molecule during time periods when the bound ions are absent, they modulate the route of the ion into the G-stem, and they also stabilize, already coordinated ions by closing the gates through which the ions enter the quadruplex. Our observations leads to obvious modifications in aptamer structure. Newly synthesized seqences was tested and showed better anticoagulant activity and folding efficiency.

АНТИКОАГУЛЯЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ТРОМБИН-СВЯЗЫВАЮЩИХ АПТАМЕРНЫХ ДНК

Копылов А.М.[1,3], **Головин А.В.**[1,3], **Решетников Р.В.**[3], **Турчанинов Т.Р.**[3], **Юминова А.В.**[1,3], **Завьялова Е.Г.**[1,3], **Мудрик Н.Н.**[3], **Пантелеев Д.Ю.**[2,3], **Павлова Г.В.**[2,3]
[1]*Московский Государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, Россия;*
[2]*Институт биологии гена РАН, г. Москва, Россия;*
[3]*ООО «АПТО-ФАРМ», г. Москва, Россия*

Аптамерные ДНК являются перспективной альтернативой антителам в тераностике. SELEX получены ряд аптамеров к тромбину человека и другим факторам каскада коагуляции крови, но их структура и механизм действия неизвестны. Это сдерживает понимание взаимодействия аптамеров с тромбином, ингибирующего действия аптамеров, дальнейшую разработку

эффективных антикоагуляционных препаратов. Проведено всестороннее исследование нескольких аптамерных ДНК для установления корреляций «структура-функция». Симуляция молекулярной динамики (МД) на супер-компьютере позволила изучить поведение нескольких тромбин-связывающих аптамерных ДНК (ТВА), имеющих G-квадруплексный модуль. Рассмотрены две различные модели 15-мерного ТВА (с двумя петлями ТТ и одной — TGT), построенные на основе противоречивых моделей, полученных ЯМР и РСА. Симулированы варианты моделей 31-мера 31-ТВА, составленных из двух модулей, соединенных гибкими участками. G-квадруплекс стабилизирует соседний дуплекс, который сам по себе имеет низкую температуру плавления. Для симуляций МД портировано новое силовое поле. Построена модель принципиально нового модульного ДНК-аптамера RA-36. Методом КД изучена термостабильность G-квадруплексов. Получены данные по аффинности аптамеров двумя методами поверхностного плазмонного резонанса. Разработаны методы измерения активности тромбина, а также кинетические модели гидролиза фибриногена. 15-ТВА ингибирует тромбин при высоких концентрациях: 1 – 10 мкМ, в то время как RA-36 и 31-ТВА ингибируют тромбин при более низких концентрациях: 5 – 20 нМ; при этом тип ингибирования также отличается. Коагуляционные тесты показывают хорошие результаты при 1 мкМ RA-36: аптамер удваивает АЧТВ и показывает дозо-зависимый эффект для ТВ ПТВ и АЧТВ. В отличие от 31-ТВА, RA-36 высокоспецифичен для тромбина человека в тестах на тромбин человека и крысы, в связи с чем разработан специальный протокол для испытания аптамеров на экспериментальных животных. Время клиренса аптамера в крысе – около 7 мин, что делает его привлекательным для применения в сердечно-сосудистой хирургии. Работа поддержана Минобрнауки 16.512.11.2009.

ANTICOAGULANT ACTIVITY OF THROMBIN-BINDING DNA APTAMERS

Kopylov A.M.[1,3], **Golovin A.V.**[1,3], **Reshetnikov R.V.**[3], **Turchaninov T.R.**[3], **Yuminova A.V.**[1,3], **Zavyalova E.G.**[1,3], **Mudrik N.N.**[3], **Panteleyev D.Yu.**[2,3], **Pavlova G.V.**[2,3]

[1]*Lomonosov Moscow State University;*

[2]*Institute of Gene Biology, Russian Academy of Sciences;*

[3]*Apto-Pharm Ltd; Moscow, Russian Federation*

Nucleic acid based aptamers are promising alternative to antibodies for application in theranostics. Several DNA aptamers against human thrombin and other factors of blood coagulation have been developed by SELEX, but structures and mechanism of action are not known yet. This obstacle hindered understanding nature of interactions with thrombin, aptamer inhibiting activity, and further development of effective anticoagulant drugs. We have performed thorough study of several DNA aptamers to establish structure – function relations. Molecular dynamics simulation (MD) using super-computers has been applied to explore structures of several thrombin-binding DNA aptamers (TBA) having G-quadruplex module. Two different models of 15-mer TBA (having two TT and one TGT loops connecting two G-quartets, 15TGT) based on the controversial NMR and X-ray data were considered. Variants of 31TGT models have been MD simulated; each consists of two modules connected by flexible hinge region. G-quadruplex stabilizes neighboring duplex, which has low melting temperature along. Improved force field for MD simulations has been developed, and the novel modular DNA aptamer, RA-36, has been created. Thermal stability of G-quadruplexes has been studied by circular dichroism spectra. Microfluidic chip capillary electrophoresis data, as well as surface plasmon resonance data on aptamers affinity to human thrombin are presented. Thrombin activity assay, as well as specific kinetics calculations, has been originated. 15-TBA inhibits thrombin at rather high concentrations, 1 – 10 mkM, while RA-36 and 31-TBA are effective at much lower concentrations, 5 – 20 nM; the type of inhibiting is also different. Coagulation tests require about 1

mkM RA-36: the aptamer could double *APTT*; and it shows dose-dependent effect for TT, PT, and APTT. Contrary to 31-TBA, RA-36 is highly specific for human thrombin in human vs rat tests, therefore a special protocol for aptamer animal testing has been developed. Rat half-life time is about 7 min, which suitable for further application in cardiovascular surgery. The work has been supported by Ministry of Education and Science of Russian Federation, 16.512.11.2009.

РЕКОМБИНАНТНАЯ ВАКЦИНА ПРОТИВ ГЕПАТИТА В: РЕШЕННЫЕ И НЕРЕШЕННЫЕ ВОПРОСЫ

Кюрегян К.К.[1], **Михайлов М.И.**[1], **Николаев Т.М.**[2], **Калинин С.П.**[2]
[1]*ФГБУ Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им.М.П.Чумакова РАМН;*
[2]*ЗАО «Биннофарм»*

Вакцина против гепатита В является первой рекомбинантной вакциной, нашедшей широкое применение. Внедрение генно-инженерной вакцины позволило решить основные проблемы, связанные с любым вакцинным препаратом – в отличие от плазменных вакцин, рекомбинатная вакцина против гепатита В обладает, наряду с иммуногенностью и профилактической эффективностью, высокой степенью безопасности. Эти свойства вакцины обеспечили ее широкое внедрение, что позволило решить важнейшие вопросы профилактики гепатита В. Во-первых, удалось снизить в десятки раз заболеваемость острым гепатитом В в Российской Федерации. Это привело к значительному сокращению циркуляции вируса среди населения и резкому уменьшению источников инфекции. Во-вторых, удалось значительно уменьшить частоту летальных исходов и формирования хронических заболеваний, в том числе первичного рака печени. В докладе представлены данные, полученные с помощью математической модели для оценки влияния массовой вакцинации против гепатита В. Установлено снижение на 90% прогнозируемых показателей морбидности и смертности, ассоциированных с гепатитом В, и как следствие, увеличение продолжительности жизни. Следует отметить, что вакцинация позволяет предупредить и случаи одновременного заражения вирусами гепатита В и дельта, ибо патологическое действие последнего может иметь место только при наличии репликации вируса гепатита В.

Однако остаются нерешенные вопросы. Как и в других странах мира, в России отсутствует научно обоснованная тактика применения бустерной вакцинации против гепатита В. Ряд факторов определяет необходимость ее проведения нашей стране. Представлены результаты исследования по оценке частоты и напряженности ответа на вакцинацию против гепатита В в разных регионах РФ, проводившейся в рамках федеральной программы «Здоровье» вакциной «Регевак». Полученные результаты свидетельствуют о необходимости разработки и внедрения программы поствакцинального аудита.

ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ПРЕПАРАТ НА ОСНОВЕ ПЕПТИДА МОЛОКА ЧЕЛОВЕКА – ЛАКТАПТИНА

Рихтер В.А.[1], **Коваль О.А.**[1], **Каледин В.И.**[2], **Фомин А.С.**[1], **Потапенко М.О.**[1], **Кулигина Е.В.**[1], **Семенов Д.В.**[1]

[1]*Учреждение РАН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск 630090, Пр. Лаврентьева, 8*

[2]*Учреждение РАН Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск 630090, Пр. Лаврентьева, 10*

Ранее было обнаружено, что в человеческом молоке содержится пептид, вызывающий апоптоз клеток аденокарциномы молочной железы человека MCF-7. Было установлено, что исследуемый пептид является протеолитическим фрагментом каппа-казеина человека. Учитывая происхождение пептида и его апоптотические свойства, его назвали **лактаптином**.

Были созданы штаммы-суперпродуценты генно-инженерных аналогов лактаптина и изучена противоопухолевая и апоптотическая активность этих аналогов на различных линиях клеток млекопитающих. Показано, что генно-инженерные аналоги подавляют жизнеспособность онкотрансформированных клеток и не влияют на немалигнизированные клетки человека.

Был разработан способ лечения злокачественных заболеваний животных рекомбинантным аналогом лактаптина (RL2). Показано, что при внутривенном введении RL2 мышам рост солидной опухоли замедляется по сравнению с контрольной группой животных. В экспериментах по моделированию процессов метастазирования установлено, что при внутривенном введении RL2 подавляет процесс метастазирования, и продолжительность жизни животных увеличивается. Установлено, что RL2 не оказывает общего токсического действия на мышей.

В настоящее время начаты доклинические исследования противоопухолевого препарата на основе рекомбинантного аналога лактаптина RL2.

Работа поддержана грантами: РФФИ № 10-04-01109-а, № 11-04-12100 офиМ, ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» № 02.740.11.0715 и ФЦП «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу» № 16.N08.12.1009.

ANTITUMOR DRUG ON THE BASIS OF THE HUMAN MILK PEPTIDE — LACTAPTIN

Richter V.A.[1], **Koval' O.A.**[1], **Kaledin V.I.**[2], **Fomin A.S.**[1], **Potapenko M.O.**[1], **Kuligina E.V.**[1], **Semenov D.V.**[1]

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

[2]*Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Lavrentiev Ave., 10, Novosibirsk, 630090, Russia*

Recently we have isolated and characterized the human milk peptide that induced apoptosis of cultured human MCF-7 cells. This peptide was identified as proteolytic fragment of human kappa-casein. Taking into account nature of the peptide and its apoptotic properties it was named **lactaptin**.

Strains producing lactaptin recombinant analogues were constructed and generated analogues were assayed for apoptotic activity on cultured human tumor cell lines. It was shown these analogues to reduce the viability of oncotranformed cells and had no influence on non-malignant human cells.

The method of animal malignant tumors treatment by lactaptin recombinant analogue RL2 was developed. It was demonstrated RL2 intravenous injection inhibited mice solid tumor growth,

suppressed metastasis process and increased animal life span. RL2 was proved to be nontoxic for mice.

For today preclinical examination of antitumor drug based on lactaptin recombinant analogue has been started.

This work was supported by grants: RFBR № 10-04-01109-a and № 11-04-12100, Federal target program "Scientific and scientific-pedagogical personnel of innovative Russia" № 02.740.11.0715, Federal target program «The Development of the Pharmaceutical and Medical Industries of the Russian Federation until 2020 and Beyond» № 16.N08.12.1009.

NOVEL AND EXPERIMENTAL VACCINES AGAINST FLAVIVIRUSES DEVELOPED BY SANOFI PASTEUR

Alexander Rumyantsev
Director, External R&D, Sanofi Pasteur Biologics Co, Cambridge, USA

Sanofi Pasteur is the world largest vaccine company with a portfolio of 20 vaccines preventing infectious diseases in children and adults around the world. Addressing the unmet medical need in protecting local populations and travelers in the regions endemic for vector-transmitted flaviviruses, Sanofi Pasteur committed to develop novel vaccines against Dengue fever and Japanese encephalitis viruses. Transmitted by the mosquitos, Japanese encephalitis is endemic to Asia-Pacific, while Dengue Fever is endemic to regions of Asia-Pacific, Africa and South America. Dengue virus alone causes more than 100 million infections resulting in 24,000 deaths estimated annually with children bearing the bulk of the disease burden.

Sanofi Pasteur developed a new live flavivirus vaccine platform (ChimeriVax®) to utilize one of the safest and effective live vaccines against Yellow fever (YF). By keeping the genetic backbone of the vaccine virus YF17D and replacing the major antigenic glycoproteins – preM and E, with those from either Japanese encephalitis or Dengue viruses, Sanofi Pasteur generated live attenuated chimeric virus vaccines. The ChimeriVax® vaccines demonstrated favorable safety profiles in pre-clinical evaluations and were found more attenuated than the YF17D vaccine, while also resulting in strong, durable and efficacious adaptive immunity against the targets – Dengue or Japanese encephalitis viruses.

Our live attenuated vaccine against Japanese encephalitis, IMOJEV®, expresses the prM and E antigens from the SA14-14-2 JE attenuated viruses. In adults, a single dose immunization with IMOJEV® induced an immune response similar to three doses of the inactivated vaccine JE-VAX®. The immune response is long-lasting with no need of a booster before 5 years. In pediatric populations, the immunization schedule is a single dose for primary immunization. IMOJEV® has been licensed in Australia and Thailand.

Our vaccine candidate for Dengue fever virus is a 3 dose tetravalent live attenuated virus formulation. ChimeriVax-DEN was found safe and immunogenic in humans, with a high rate of seroconversion against all 4 Dengue serotypes. This vaccine candidate is currently enrolling subjects for our phase 3 clinical trials.

Tick-borne encephalitis (TBE) is one of the most medically important enzootic neuroinfections in Europe and Asia. The increasing medical demand coupled with the multiple-dose and boosting requirements for current inactivated virus vaccines warrants development of a more potent vaccine. To develop a new single dose vaccine against TBE, Sanofi Pasteur evaluated a new discovery platform — RepliVax® – a replication-defective virus vaccine obtained by introducing a large deletion in the capsid protein. A single cycle live RepliVax-TBE vaccine candidate was found avirulent in mice, and a single dose immunization with RepliVax-TBE induced protective

and durable immunity similar to 3 doses of human inactivated vaccine in non-human primate and mouse pre-clinical studies.

Expansion of Sanofi Pasteur travel and endemic vaccines portfolio with novel flavivirus vaccines will allow protecting and saving lives to millions of people around the world.

ТЕХНОЛОГИИ ФРАКЦИОНИРОВАНИЯ ОСАДКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ВИРУСБЕЗОПАСНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Староверов С.М.[1], **Красильников И.В.**[2],

[1]*ЗАО «БиоХимМак СТ», 119992, г. Москва,Ленинские горы, д.1, стр.77*

[2]*ФГУП «НПО «Микроген», 115088, г. Москва, ул. 1-ая Дубровская, д. 15*

Современные технологии фракционирования плазмы крови основаны на включении в технологический процесс стадий специальной обработки, разрушающих большинство известных вирусов, и промышленную хроматографическую очистку, обеспечивающую требуемую степень очистки.

Основными по клинической значимости являются препараты внутривенного иммуноглобулина, альбумина и факторы свертывания.

Нами разработаны оригинальные технологические решения получения высокоочищенных иммуноглобулина и плазминогена. Технологии основаны на предварительной хроматографической очистке осадка, сольвент-детергентной обработке раствора и окончательной очистке в соответствии с требованиями к препарату.

Сырьем для получения иммуноглобулина G является осадок II+III по Кону. Предварительная очистка осуществляется в двухколоночном, а окончательная в системе из последовательно соединенных трех колонок с анионообменным, гидрофобным и катионообменным сорбентами в одной по составу подвижной фазе, что значительно увеличивает производительность и выход целевого продукта. Время технологического цикла уменьшено до 44 часов, степень очистки возросла до 99%, а выход иммуноглобулина увеличился в 1,7 раза, что особенно важно в условиях дефицита донорской крови. Технология реализуется в автоматическом режиме при минимальном участии оператора.

Подготовку сырья для получения церулоплазмина (фракция IV-I по Кону) проводят в режиме «кипящего слоя» анионообменного сорбента, что позволяет автоматизировать процесс и повысить выход продукта. Окончательная очистка на карбоксильном катионите после проведения вирусной инактивации позволяет получить продукт, отвечающий требованиям ВОЗ и Европейской фармакопеи.

Для реализации указанных технологий разработаны и прошли испытания в реальных промышленных условиях автоматизированные хроматографические комплексы с колоннами аксиальной компрессии диаметром 300 мм и объемом до 70 литров. Оборудование защищено в РФ и за рубежом торговой маркой “AXIOMA®”.

FRACTIONATION TECHNOLOGY FOR PRODUCTION OF VIRUS SAFE COMPONENTS FROM BLOOD PLASMA PRECIPITATES

Staroverov S.M.[1], **Krasilnikov I.V.**[2],
[1]*JSC "BioChemMack S&T", Leninskie Gory, b.1/77, Moscow, Russia, 119992*
[2]*FGUP «NPO «Microgen», 1st- Dubrovskaya, b.15, Moscow, Russia, 115088*

The modern technologies of blood plasma fractionation use as a main step a special treatment, which destroy the most viruses followed by scale-up chromatography purification, which provide the demand purity. The basic components by clinical effects are immunoglobulin, albumin and coagulations factors.

We have developed the original purification technologies for immunoglobulin G (IgG) and ceruloplasmin. The technologies include previous chromatography purification followed by solvent-detergent treatment and final purification in accordance with demands to the product.

As a raw material for IgG productions we use precipitate A (II+III by Cohn). The first chromatography purification step use two chromatography columns system and the final purification procedure provide using the system of three columns with DEAE, hydrophobic and SP sorbents in one eluent for all the columns, which gives the growing of productivity and yield. The technological time reduces to 44 hours, the purity increase up to 99% and yield growing in 1.7 times. The last value especially important for donor blood deficit. The technology works in automatic mode with minimum operators involving.

The first purification step for ceruloplasmin (from precipitate IV-I by Cohn) provide based on "fluid bad" chromatography process using anion exchanger, which gives the possibility to works in automatic mode and rise the yield of the product. The final purification procedure realize on carboxylic exchanger after virus inactivation step. The realization this technological scheme gives the product with the purity in accordance with WHO and European Pharmacopeia demands.

For realization of these technologies we have developed and investigate in real industrial conditions automatic chromatography systems with axial compression columns with diameter 300 mm and the volume of the sorbent up to 50 liters. This equipment have received a registered trade mark "AXIOMA®" in Russia and EU.

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ И МЕДИЦИНСКИЕ БИОТЕХНОЛОГИИ ОТ ТП «МЕДИЦИНА БУДУЩЕГО»

Огородова Л.М.[1], **Жданов В.В.**[2]
[1]*ГБОУ ВПО СибГМУ Минздравсоцразвития России, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2*
[2]*ФГБУ "НИИ фармакологии" СО РАМН, 634028, г. Томск, пр. Ленина 3*

Основной целью государственной политики Российской Федерации по развитию национальной фармацевтической промышленности на период до 2020 года является создание условий для ее перехода на инновационную модель развития. В первую очередь это касается биотехнологических лекарственных средств, поскольку прогноз развития мировой фармацевтической промышленности указывает на то, что большая часть препаратов на основе сложных белковых молекул будет создаваться с использованием генной инженерии и усовершенствованных биотехнологий. Кроме того, важнейшее место в лечении многих социально значимых заболеваний в перспективе займут такие биомедицинские технологии, как генная терапия, различные виды клеточной трансплантации и др.

Развитие соответствующих секторов экономики требует формирования банков инновационных разработок, которые могут быть в дальнейшем внедрены в практическое здравоохранение в виде новых биоинженерных фармпрепаратов и биомедицинских технологий. Одним из новых инструментов осуществления научно-технической и инновационной политики являются технологические платформы, как форма реализации института государственно-частного партнерства. ТП «Медицина будущего» поддерживает финансирование комплексных биотехнологических проектов через систему федеральных целевых программ, участвует в экспертной оценке проектов. При участии ТП МБ на настоящий момент рассмотрена 51 заявка для реализации в рамках ФЦП «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу», утверждено финансирование 25 заявок. Из 63 заявок, поданных на формирование тематики в ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007—2013 годы», утверждено финансирование 21 заявки по биотехнологическим продуктам.

PHARMACEUTICAL AND MEDICAL BIOTECHNOLOGIES FROM TP "MEDICINE OF FUTURE"

Ogorodova L.M.[1], **Zhdanov V.V.**[2]

[1]*Siberian State Medical University, 2 Moscowski Trakt, Tomsk, 634050, Russia*

[2]*FSBI "RI of Pharmacology" SB RAMS, 3 Lenin avenue, Tomsk, 634028, Russia*

Main objective of state policy of the Russian Federation on development of national pharmaceutical industry for the period till 2020 is creation of conditions for its transition to innovative model of development. First of all it concerns biotechnological drugs as the forecast of world pharmaceutical industry development specifies that the most part of preparations on the basis of difficult protein molecules will be created with use of gene engineering and advanced biotechnologies. Besides, in perspective such biomedical technologies, as gene therapy, different kinds of cellular transplantation and others will occupy the major place in treatment of many socially significant diseases.

Development of corresponding sectors of economy demands formation of innovative workings banks which can be introduced further in practical public health services in the form of new bioengineering pharmaceuticals and biomedical technologies. Technological platforms as the form of state-private partnership institute realization are one of new tools of scientific technical and innovative policy actualization. TP «Medicine of future» supports financing of complex biotechnological projects through system of federal target programs, participates in an expert estimation of projects. With the participation of TP MF it 51 requests for realization within the limits of FTP «Development of pharmaceutical and medical industry of the Russian Federation for the period till 2020 and further prospect» were examined, financing of 25 requests was confirmed. From 63 requests, submitted on formation of subjects in FTP «Researches and workings out on priority directions of development of scientifically-technological complex of Russia for 2007-2013», financing of 21 relative to biotechnological materials was confirmed.

МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА К ТИРЕОИДНОЙ ПЕРОКСИДАЗЕ В ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Зубков А.В., Кузьмина Н.С.
ФГБУ НИИВС им. И.И. Мечникова РАМН,
105064, г.Москва, Малый Казённый пер., д. 5а

Введение. Современные исследования аутоиммунных заболеваний щитовидной железы (АИЗ ЩЖ) сосредоточены на выявлении эпитопов молекул основных аутоантигенов: тиреопероксидазы (ТПО) и рецептора тиреотропного гормона, к которым направлены специфические аутоантитела. Имеющиеся данные убедительно свидетельствуют о том, что у пациентов с различными формами АИЗ ЩЖ эти эпитопы могут различаться.

Целью работы являлось изучение эпитопной направленности аутоантител к тиреоидной пероксидазе при различных заболеваниях ЩЖ с использованием полученной нами коллекции моноклональных антител к ТПО.

Материалы и методы. ТПО выделяли методом аффинной хроматографии с использованием МкАт. Эпитопную специфичность аутоантител из сыворотки крови пациентов диффузным токсическим зобом (ДТЗ) и гипотиреозом (ГТ) определяли в конкурентном ИФА с использованием коньюгатов МкАт с пероксидазой из корня хрена.

Результаты. По данным конкурентного ИФА, двенадцать моноклональных антител взаимодействовали с пятью иммуногенными участками тиреопероксидазы: доменом 1, в состав которого входили эпитопы трёх МкАт – 1, 70, 88; доменом 2 – 2, 82, 45; доменом 3 – 55, 77, 79, 10; доменом 4 – 3; и доменом 5 – 76. Показано, что в конкуренции за центры связывания ТПО с аутоантителами из сыворотки крови больных ДТЗ и ГТ участвовали 10 МкАт к эпитопам 1, 70, 82, 88, 2, 3, 10, 45, 77 и 79. Максимальное подавление связывания отмечено для аутоантител, направленных к конформационному эпитопу 3, при ДТЗ и ГТ оно достигало 60-80% и не зависело от концентрации АТ в сыворотке крови. Для МкАт 45, в отличие от других МкАт, была выявлена четкая взаимосвязь между уровнем антител в сыворотке крови больных с ДТЗ и ГТ и степенью подавления связывания антител с ТПО. При концентрации АТ к ТПО до 100 МЕ/мл не наблюдалось специфического ингибирования; степень ингибирования связывания при уровне АТ к ТПО от 100 до 300 МЕ/мл составляла 19-25%; от 300 до 500 МЕ/мл — 32–41%; от 500 до 1000 МЕ/мл — 40–50%; более 1000 — 60%. Аутоантитела в сыворотке больных ГТ подавляли связывание МкАт к эпитопу 77 значительно сильнее, чем в сыворотке больных с ДТЗ: 36,3 ± 17,2% и 54,3 ± 9,6%, соответственно ($p \leq 0,05$).

Заключение. Оценка конкурентных взаимодействий аутоантител сыворотки крови пациентов с ГТ и ДТЗ с нашей коллекцией МкАт позволила выявить иммунодоминантные эпитопы ТПО, определяющие специфичность аутоантител при этих заболеваниях.

THE MONOCLONAL ANTIBODIES TO THE THYROID PEROXIDASE (TPO) IN THE AUTOIMMUNE DISEASES DIFFERENTIAL DIAGNOSIS

Zubkov A.V., Kuzmina N.S.
FSBF Mechnicov Research Institute Vaccine & Serum Russian Academy of Medical Sciences, Maly Kazenny pereulok, 5 a, Moscow, 105064, Russia

Introduction. The recent research of the thyroid autoimmune diseases concentrated on the revealing of the basic autoantigenes molecular epitopes: thyroid peroxidase (TPO) and the thyro-tropin receptor (TSHR), to which the specific autoantibodies (Ab) are directed. The existing data strongly state that these epitopes are different for the patients with different types of thyroid diseases. **Aim.**

The main goal of this work is the research of the epitope direction of Ab to TPO in case of different types of thyroid diseases using the earlier obtained collection of the monoclonal anti-bodies (mAb) to TPO.

Materials and methods. TPO has been obtained by the means of affinity chromatography using mAb. The epitope specific of the Ab taken from the serum of the patients with Graves' disease (GD) and Hashimoto·s thyroiditis (HT) has been researched by the competitive method of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using mAb conjugates with the peroxidase extracted from horseradish root.

Results. The competitive ELISA has indicated that twelve mAb interacted with five immuno-genic TPO sites: domain 1, contained epitopes of three mAb – 1, 70, 88: domain 2 – 2, 82, 45; domain 3 – 55, 77, 79, 10; domain 4 – 3; and domain 5 – 76. It was shown, that 8 mAb to epi-topes 1, 70, 82, 88, 2, 3, 77 and 79 participate in the competition for the binding centers of TPO and Ab taken GD and HT patients' serum. The maxima of the binding inhibition has been mar-ked for the conformation epitope mAb 3, in case of GD and HT it amounted to 60-80% and did not depend on the concentration of the Ab in serum. The correlation between the concentration of the Ab in GD and HT patients' serum and the binding inhibition of Ab with TPO has been de-tected for mAb 45, as for any other mAb it is not true. The specific inhibition did not occur while the concentration of Ab to TPO was no more the 100 IU/mL, the level of binding inhibition in case of the concentration of Ab to TPO from 100 to 300 IU/mL amounted to 19-25%, from 300 to 500 IU/mL — 32–41%, from 500 to 1000 IU/mL-40–50%, more than 1000 IU/mL-60%. Ab in the serum of the HT patients inhibited the binding of mAb to epitope 77 much more effectively, than in the serum of the GD patients: accordingly, $36.3 \pm 17.2\%$ and $54.3 \pm 9.6\%$ ($p \leq 0.05$).

Conclusion. The assessment of the competitive interactions between mAb and Ab in serum of patients with GD and HT enabled to detect immunodominant TPO epitopes that define the specific of Ab in these cases.

ВАЛИДАЦИЯ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ СТАДИЙ ПО ЭЛИМИНАЦИИ И ИНАКТИВАЦИИ ВИРУСОВ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ ВНУТРИВЕННОГО ИММУНОГЛОБУЛИНА G ЧЕЛОВЕКА

Зубкова Н.В.[1], **Красильников И.В.**[1], **Лобастова А.К.**[1], **Казьянин А.В.**[1], **Лаптева Л.К.**[2], **Кюрегян К.К.**[3], **Глотова Т.И.**[4]

[1]*ФГУП «НПО «Микроген» Минздравсоцразвития России, г. Москва*

[2]*ФГУ НЦЭСМП Минздравсоцразвития России, г. Москва*

[3]*ИПВЭ им. М.П.Чумакова, г. Москва*

[4]*ГНУ Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока Россельхозакадемии*

Безопасность лечебных препаратов из плазмы крови доноров гарантируется не тестами на вирусные маркеры в готовом продукте, а уверенностью, что технологический процесс обеспечивает уровень вирусной редукции больше, чем возможный уровень вирусной нагрузки в плазменном пуле. Для создания такой уверенности любая технология, претендующая на промышленную, должна быть валидирована.

В РФ правила валидации вирусинактивирующих технологий не регламентированы. В отношении плазмы крови для фракционирования и лекарственных средств, получаемых из донорской крови или плазмы, обычно применяют соответствующие рекомендации ВОЗ (WHO Technical Report, Series N924, 2004) и нормативные документы Европейского агенства по оценке медицинских продуктов (CPMP/BWP/269/95; CPMP/BWP/268/95). Исследования выполняют не

в условиях производства, а в лаборатории на уменьшенной копии технологического процесса с использованием патогенных и модельных гемотрансмиссивных вирусов, отдавая предпочтение их наиболее резистентным представителям.

Процедура валидации должна включать три этапа: контаминацию объекта исследования вируссодержащим материалом, моделирование изучаемой технологической стадии в лабораторных условиях с адекватным масштабированием процесса, оценку кинетики инактивации и уровня вирусной редукции в логарифмической прогрессии.

Целью настоящего исследования было в опытах с использованием вируса гепатита С человека (ВГС), а также модельных вирусов гепатита В утят (ВГВУ) и возбудителя вирусной диареи — болезни слизистых крупного рогатого скота (ВВД-БС КРС) оценить эффективность элиминации и инактивации вирусов при производстве препарата иммуноглобулина G человека для внутривенного введения «Имбиоглобулина».

Для оценки вирусного клиренса, полученного вследствие удаления вирусов гелем гидроокиси алюминия, использовали количественный метод полимеразной цепной реакции (ПЦР). Показано, что при максимальной дозе геля в расчете на 1 литр раствора иммуноглобулина, составляющей 100-150 мл с содержанием 0,1-0,15 г Al_2O_3, уровень редукции ВГС составил более 3 $\log_{10}$ МЕ/мл.

Эффективность сольвент-детергентной стадии инактивации вирусов оценивали на культуре клеток с ВВД-БС КРС в опытах *in vitro*, а также, моделируя ВГВУ-инфекцию на утятах, в опытах *in vivo*. Экспериментально подтверждено, что при обработке раствора иммуноглобулина G сольвент-детергентной смесью в конечной концентраций ТБФ 0,3% и натрия холата 0,2%, температуре инкубации от 30±1 ºС до 36±1ºС, времени контакта 6 часов происходило эффективное снижение инфекционных свойств модельных вирусов. Уровень редукции ВВД-БС КРС составил более 6 $\log_{10}$ ТЦД 50/мл, а ВГВУ – более 5 log ID50.

В целом, первый отечественный опыт по валидации нового технологического процесса, основанный на использовании разных типов патогенных и модельных гемотрансмиссивных вирусов и способов их детекции, может быть полезен при разработке соответствующих нормативных документов, необходимых для повышения вирусной безопасности препаратов из плазмы крови доноров, и позволит привести их качество в соответствие с международными стандартами.

VALIDATION OF TECHNOLOGICAL STAGES ON ELIMINATION AND INACTIVATION OF VIRUSES IN THE MANUFACTURE OF INTRAVENOUS HUMAN IMMUNOGLOBULIN G

Zubkova N.V.[1], **Krasilnikov I.V.**[1], **Lobastova A.K.**[1], **Kazyanin A.V.**[1], **Lapteva L.K.**[2], **Kyuregyan K.K.**[3], **Glotova T.I.**[4]

[1]*FGUP "NPO Microgen" Ministry of Public Health and Social Development of Russia, Moscow*

[2]*FGU SCEMMA (Scientific Center for Expertise of Means of Medical Application) of Ministry of Public Health and Social Development of Russia, Moscow*

[3]*IPVE (Institute for Poliomyelitis and Viral Encephalitis Research) n.a. M.P.Chumakov, Moscow*

[4]*GNU (State Scientific Institution) Institute of Experimental Veterinary Science for Siberia and Far East of Russian Agricultural Academy*

Safety of plasma donor derived products is guaranteed not by finished preparations virus marker tests but by a confidence that the manufacturing process ensures a virus reduction level which is higher than possible level of viral load in the plasma pool. In order to ensure such a confidence, any technology professing to be an industrial one shall be validated.

Virus technology validation rules are not regulated in the Russian Federation. With regard to blood plasma for fractionation and medicinal preparations made from donor blood or plasma, they generally apply respective WHO recommendations (WHO Technical Report, Series N924, 2004) and regulatory documents of European Medicines Evaluation Agency (CPMP/BWP/269/95; CPMP/BWP/268/95). The research is carried out under manufacture conditions but in a laboratory using a scaled down production process and pathogenic and model viruses, giving preference to their most resistant representatives.

Validation procedure shall comprise three stages: test subject contamination with virus containing material, simulation of technological stage involved in a laboratory environment with adequate process dimensional scaling, assessment of inactivation kinetics and virus reduction level in logarithmic progression.

The purpose of this research was to set experiments using human hepatitis C virus (HCV) and also model duck hepatitis B virus (DHBV) and bovine viral diarrhea virus (BVDV) in order to assess efficiency of virus elimination and inactivation in the manufacture of human immunoglobulin G for intravenous administration of "IMBIOGLOBULIN".

In order to assess virus clearance obtained through virus elimination with aluminum hydroxide gel, they used polymerase chain reaction (PCR) quantitative method. It was demonstrated that under the highest dose of gel per 1 liter of immunoglobulin solution which makes 100-150 ml containing 0.1-0.15 g Al_2O_3, the HCV reduction level exceeded 3 $\log_{10}$ IU/ml.

Efficiency of solvent detergent stage of virus inactivation was assessed using BVDV in in vitro experiments, and also simulating DHBV-infection on ducklings in in vivo experiments. It was substantiated by experiments that after immunoglobulin G solution treatment with solvent-detergent mixture at final TNBP concentration of 0.3% and sodium cholate of 0.2%, incubation temperature from 30+1 ºC to 36+1ºC, contact time of 6 hours, model virus infectivity was reduced effectively. BVDV reduction level exceeded 6 $\log_{10}$ TCID 50/ml, and DHBV reduction level exceeded 5 log ID50.

Upon the whole, the first domestic experiment on new technological process validation based on use of different types of pathogenic and model viruses and methods of their detection can be useful when developing corresponding regulatory documents required for improvement of plasma donor derived products safety and bringing their quality in line with international standards.

ПОСТЕРЫ
POSTERS

ДЕЙСТВИЕ НЕКОТОРЫХ ГИДРОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ НА СПОРЫ И БИОМАССУ ГРИБА PYTHIUM

Белов А.А., Марквичев Н.С., Буланов А.Г., Титова Д.Г., Васильева А.В.,
РХТУ им. Д.И.Менделеева, каф. биотехнологии;
E-mail: ABelov2004@ yandex.ru

Среди возбудителей инфекционных болезней грибы — самая многочисленная группа, насчитывающая более 100 тыс. видов (всего известно около 250 тыс. видов грибов). В 1959 г. профессор Э. Стэкмен и доктор Дж. Харрар в книге «Основы патологии растений» писали: «патология растений является наукой об общественном здравоохранении». Сегодня это положение становится особенно актуальным. Фитосанитарная обстановка на наших полях явно ухудшилась в последние годы, увеличилась распространенность сапротрофных видов грибов, способных продуцировать микотоксины и вызывать микотоксикозы и оппортунистические микозы, то есть заболевания, возникающие в результате поражения грибами организмов с ослабленными иммунными функциями. Необходимы постоянный мониторинг фитосанитарной ситуации на посевах сельскохозяйственных культур, тщательный микологический и микотоксикологический контроль сельскохозяйственной продукции, совершенствование видовой диагностики грибов и регулярный медицинский контроль состояния людей с пониженным иммунным статусом [1].

Биологический метод рассматривается как альтернативный в системе защитных мероприятий и в то же время в силу своих специфических особенностей является основой для разработок экологически безопасных, экономичных и долговременных программ борьбы с вредными организмами. Использование различных биопрепаратов для контроля фитопатогенов является одним из перспективных методов биологической защиты растений от микозов, бактериозов, вирозов и фитонематод. Поскольку клеточные стенки грибов содержат микрофибриллы глюкана и хитин, погруженные в белковый матрикс, в лизисе их клеток, вероятно, участвуют в основном глюканазы, хитиназы и протеазы. Исходя из данных о структуре грибной клеточной оболочки, очевидно, что для ее разрушения должен быть, использован комплекс ферментов с различной субстратной специфичностью. Многие исследователи считают протеазу необходимым ферментом для осуществления лизиса клеточной стенки фитопатогенных грибов.

Нами было исследовано действие некоторых гидролитических ферментов: ферментативный комплекс лизоамидаза (ЛА), протеолитический комплекс из гепатопанкреаса краба (ПК), лизоцим (Лз), целловиридин, панкреатические (КРС) трипсин (Тр) и химотрипсин (Хтр) на споры и биомассу гриба *Pythium*. В качестве средств контроля использовали: микроскопирование, увеличение количества редуцирующих сахаров в пробах после инкубации образцов с растворами ферментных препаратов и измерение количества живых спор гриба после инкубации спор с растворами ферментных препаратов изученных гидролаз методом «висящей капли». Как было нами установлено, наиболее эффективным фунгицидом из исследованных гидролаз являются растворы ЛА, как по воздействию на споры, так и на биомассу гриба *Pythium* при различных значениях pH среды (6,0-8,0) и температуры (20-37°C).

Литература

1. М.М. Левитин Фитопатогенные грибы и болезни человека //Проблемы фитосанитарии, 2009, с.24-25.

Данная работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (Гос. контракт № 16.M04.11.0015 от 29.04.2011)

ACTION OF SOME HYDROLYTIC ENZYMES ON THE DISPUTES AND THE BIOMASS OF THE FUNGUS OF PYTHIUM

A.A.Belov, N.S.Markvicev, A.G.Bulanov, D.G. Titova, A.V.Vasileva
RCTU him. D.I.Mendeleeva, ch. Biotechnologies.
E-mail: ABelov2004@ yandex.ru

Among the agents of infectious diseases fungi — most numerous group, which counts more than 100 thousand forms (in all are known about 250 thousand the forms of fungi). In 1959. professor 3.Stekmen and doctor J. Kharrar in the book "Bases of the pathology of plants" they wrote: "the pathology of plants is the science about public public health". Today this position becomes especially urgent. Fitosanitarnaya situation in our fields clearly deteriorated in recent years, increased the prevalence of the saprotrofnykh forms of fungi, capable of producing mycotoxins and of causing mycotoxicoses and opportunistic micose, i.e., the diseases, which appear as a result defeat by the fungi of organisms with the weakened immune functions. Are necessary a constant monitoring of fitosanitarnoy situation on sowings of agricultural crops, the thorough mycological and mycotoxicological control of agricultural production, the improvement of specific diagnostics of fungi and the regular medical checking of the state of people with lowered immune status [1].

Biological method is considered as alternative in the system of shielding measures and in view of its specific special features it is at the same time basis for the developments of the ecologically safe, economical and long-range programs of fight with the harmful organisms. The use of different biological preparations for the control of fitopatogenov is one of the promising methods of the biological protection of plants from the micose, bacterioses, virozov and fitonematod. The major fluctuations of the quantitative and qualitative composition of cellular walls depending on the age of culture and conditions of its cultivation are observed in yeast(s) and mycelial fungi. Since the cellular walls of fungi contain the microfibrils of glucane and chitin, submerged in the protein matrix, in the lysis of their cells, probably, they participate in essence of glyukanazy, chitinase and protease. , it is obvious, that for its destruction it must be on the basis of the data about the structure of fungus cell wall, is used the complex of ferments with different substratal specificity. Many researchers consider protease the necessary ferment for the realization of the lysis of the cellular wall of phytopathogenic fungi.

We investigated the action of some hydrolytic enzymes: the fermentative complex of lizoamidaza (LA), proteolytic complex from gepatopankreasa of crab (PK), lysozyme (Lz), tselloviridin, pancreatic (KRS) trypsin (tr) and chymotrypsin ([Khtr]) to the disputes and the biomass of the fungus Of pythium. They used as the means of control: microscoping, an increase of the quantity of reduced sugar in the tests after the incubation of models with the solutions of fermentation preparations and the measurement of a quantity of living spores of fungus after the incubation of spores with the solutions of the fermentation preparations of studied hydrolases by the method "hanging drop". As we have been established, the most effective fungicide from investigated hydrolases are solutions LA both on the action on the disputes and on the biomass of the fungus of *Pythium* with the different values of pH of medium (6,0-8,0) and temperature (20-37°C).

Literature

1. М.М. Левитин Фитопатогенные грибы и болезни человека //Проблемы фитосанитарии, 2009, с.24-25.

This work is executed with the financial support to Minobrnayk RF (State. the contract of № of 16.M.04.11.0015 from 29.04.2011)

ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА РЕКОМБИНАНТНЫХ ИЗОФОРМ ЛИПИД-ТРАНСПОРТИРУЮЩЕГО БЕЛКА ЧЕЧЕВИЦЫ

Богданов И.В., Финкина Е.И., Баландин С.В., Стукачева Е.А., 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.

Ранее нами в проросших семенах чечевицы *Lens culinaris* было обнаружено семейство из восьми изоформ липид-транспортирующего белка (Lc-LTP1-8). Четыре изоформы (Lc-LTP2,4,7,8) были выделены и охарактеризованы как белки, обладающие антибактериальной и противогрибковой активностью. Кроме того, было установлено, что изоформа Lc-LTP2, как и ряд других растительных LTP, является перекрёстно-реагирующим пищевым аллергеном. Новый аллерген был зарегистрирован нами в базе данных Международного союза иммунологических обществ (IUIS) под аббревиатурой Len c 3.

Для проведения сравнительных структурно-функциональных исследований, а также получения ответа на вопрос, являются ли другие изоформы липид-транспортирующего белка чечевицы аллергенами, подобно Len c 3, были созданы системы для гетерологической экспрессии Lc-LTP1,3 в клетках *E.coli* BL21(DE3) в виде гибридных конструкций с тиоредоксином А и октагистидиновой последовательностью под контролем промотора Т7. Схема выделения и очистки рекомбинантных белков Lc-LTP1,3 включала получение растворимой (в случае Lc-LTP3) или нерастворимой (в случае Lc-LTP1) фракции клеточного белка, выделение гибридных белков методом металлохелатной хроматографии с последующим их расщеплением бромцианом, повторную аффинную хроматографию и обращенно-фазовую ВЭЖХ. Гомогенность полученных препаратов и идентичность рекомбинантных аналогов природным белкам подтверждали с помощью электрофореза в ПААГ, МАЛДИ-времяпролётной масс-спектрометрии и автоматического секвенирования по методу Эдмана. Сравнительное исследование антимикробной активности рекомбинантных изоформ Lc-LTP1,2,3 в отношении фитопатогенных грибов было проведено методом серийных разведений в жидкой питательной среде. Методом иммуноблоттинга с использованием поликлональных антител к Lc-LTP2 было показано сходство свойств трёх изоформ липид-транспортирующего белка чечевицы (Lc-LTP1,2,3).

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).

PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF RECOMBINANT LENTIL LIPID TRANSFER PROTEIN ISOFORMS

Bogdanov I.V., Finkina E.I., Balandin S.V., Stukacheva E.A., Ovchinnikova T.V.
Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Miklukho-Maklaya str., 16/10, 117997 Moscow, Russia

Previously, we discovered a family of eight lipid transfer protein isoforms, termed Lc-LTP1-8, in the lentil *Lens culinaris* germinated seeds. Four proteins (Lc-LTP2,4,7,8) having antibacterial and antifungal activity were purified and characterized. The Lc-LTP2 isoform was found to be a cross-reactive food allergen like some other plant LTPs. A novel allergen was registered by us in the International Union of Immunological Societies (IUIS) database as Len c 3.

In order to carry out comparative investigations of structural, functional and allergenic properties of different lentil LTP isoforms, heterologous expression systems for Lc-LTP1,3 production were constructed. The recombinant isoforms were expressed in *E. coli* BL21(DE3) cells as fusion proteins contained N-terminal histidine octamer and thioredoxin A. Purification of the recombinant Lc-LTP1,3 involved their isolation from soluble (in case of Lc-LTP3) or insoluble (in case of Lc-LTP1) protein fraction by immobilized metal-chelate affinity chromatography (IMAC) with subsequent CNBr cleavage of the fusion proteins, repeated IMAC and final reversed-phase HPLC. Homogeneity of the obtained recombinant LTP isoforms and their identity to the natural proteins were estimated by SDS-PAGE, MALDI-TOF mass spectrometry and N-terminal protein sequencing. Antifungal activity of the recombinant isoforms Lc-LTP1,2,3 was examined by 96-well microplate method of serial dilutions in liquid media. Immunoblotting with polyclonal antibodies against Lc-LTP2 revealed similarities between the three lentil lipid transfer protein isoforms (Lc-LTP1,2,3).

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, state contract P1159).

ВЛИЯНИЕ α-ЛИПОЕВОЙ КИСЛОТЫ НА МОЗГ КРЫС ПОСЛЕ ТЯЖЕЛОЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ

Дроздов К.А.[1], **Полякова Н.В.**[2], **Клименко В.Е.**[3], **Полещук А.В.**[3]

[1]*Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН, Владивосток, 690022;*

[2]*Институт химии ДВО РАН, Владивосток, 690022;*

[3]*Владивостокский государственный медицинский университет*

Возникающее в результате тяжелой черепно-мозговой травмы (тЧМТ) вторичное повреждение головного мозга характеризуется ухудшением параметр-ов микроциркуляции, увеличением гидратации, активацией свободно-радикального повреждения, истощением антиоксидантной системы и приводит к увеличению поражения нервной ткани. Изменение содержания микроэлементов в тканях животных свидетельствуют о физиологическом состоянии клеток и орга-нов, или о патологических процессах. Например, высокое содержание внутри-клеточного кальция говорит о начале необратимого процесса разрушения, так называемой «кальциевой смерти». Одним из потенциально эффективных нейро-протекторов является α-липоевая кислота, которая, будучи ловушкой свободных радикалов и активных форм кислорода, способствует восстановлению пула антиоксидантной системы, регулирует метаболизм углеводов и клеточное дыха-ние, устраняет эндотелиальную дисфункцию и улучшает вазомоцию средних артерий. Мозг интактных и травмированных крыс был исследован с помощью МРТ (PharmaScan US 70/16 "Bruker" (Germany) мощность магнитного поля 7 Тл. Участки мозга исследовались на содержание микроэлементов с помощью флуоре-сцентного анализатора TXRF 8030C (FEI Company, Germany).

Наши исследования показали, что использование α-липоевой кислоты у животных с черепно-мозговой травмой способствует уменьшению отека тканей головного мозга в зоне вторичного повреждения, достоверно подтверждаемым морфологическими и нейровизуализационными методами (рис. 1). Обнаружены достоверные различия в содержании *P, S, K, Zn, Fe* и *Ca* в мозге интактных и травмированных крыс. После внутрибрюшинного введения α-липоевой кислоты через 3 часа после травмы концентрация *P, K, Zn, Fe* и *Ca* в зоне отека не отлича-лась от контрольных травми- рованных крыс, но концентрация *S* была достоверно выше, приближаясь к интактным крысам. Одним из механизмов фармаколо-гической активности препарата α-липоевой кислоты является его способность регулировать процессы локальной

гемоциркуляции за счет влияния на систему синтеза оксида азота. *NO*-модулирующее действие препарата развивается доста-точно быстро, реализуется в течение первых 3-х суток его применения, что позволяет рассматривать его в качестве эффективного компонента экстренной терапии при травмах нервной системы.

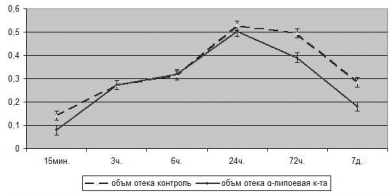


Рис. 1 Динамика изменения объема отека головного мозга у крыс с тЧМТ. Сплошная линия – введение α-липоевой кислоты; пунктирная – контроль.

INFLUENCE OF *α*-LIPOIC ACID IN RATS AFTER HEAVY CRANIOCEREBERAL TRAUMA

Drozdov K.A.,[1] **Polyakova N.V.**[2]**, Klimenko V. Ye.**[3]**, Aleksey V. Poleshchuk** [3]**,**
[1]*Pacific institute of bioorganic chemistry FEB RAS,*
pr. 100 let Vladivostoku, 159 B, Vladivostok 690022;
[2]*Institute of chemistry FEB RAS,*
pr. 100 let Vladivostoku, 159 B, Vladivostok 690022;
[3]*Vladivostok State Medical University*

The secondary tissue damage of brain after heavy craniocereberal trauma is defined with worsening of microcirculation of the blood, increasing of hydratation, activation of free radical cellular damage. The changing of microelement contents indicates on beginning of irreversible destruction process, so called "calcium death". *α*-lipoic acid is potential effective neiroprotector. It is the trap of free radical and active oxygen forms and it regulates of carbohydrate metabolism and cell respiration, removes of endothelian disfunction and improves of circulation of middle artery.

The brain of the rats was investigated by MRI PharmaScan US 70/16 "Bruker" (Germany) with resonant frequency for protons 300 MHz. The brain of rats from one control and one group of injured animals was exposed to histologic research and the RFA-analysis of the relative contents of elements in fabrics of a brain. Elements were defined on roentgen fluorescent analyzer TXRF 8030C (FEI Company, Germany). Time of measurement was 500 sec, sources of excitation were WLβ, MoKα, WBr32.

Our studies showed that use of *α*-lipoic acid in rats after heavy craniocereberal trauma promotes decrease of brain tissue edema in zone of secondary injury. This reliably confirm by morphological and neurovisual methods (fig.). Our researches have shown authentic distinction in contents of P, S, K, Zn, Fe and Ca for a brain injured and intact animals. The contents of P, K, Zn, Fe and Ca after bringing in of *α*-lipoic acid in edema zone were the same in control and injured rats, but content of S was for certain over bringing closer to intact rats. This allows to regard *α*-lipoic acid as effective component of emergency therapy during injury of nerve system.

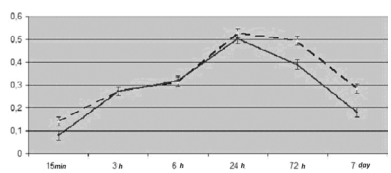


Fig 1. Dynamics of brain tissue edema changes in rats after heavy craniocereberal trauma. Solid line – bringing in peritoneum of *α*-lipoic acid; dotted line – the control.

ТЕРМОДИНАМИЧЕСКАЯ СТАБИЛЬНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ГЛОБУЛЯРНЫХ БЕЛКОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УСЛОВИЙ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С ХИТОЗАНОМ В РАСТВОРЕ

Феоктистова Н.А., Плащина И.Г.

Институт Биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН,
119334 г Москва, ул. Косыгина, 4, Тел. 8(495)939-74-02; e-mail: natalifeoktistova@yahoo.com

Природный поликатион хитозан, благодаря биосовместимости, биодеградируемости, низкой токсичности, высоким адгезивным и гемостатическим свойствам, находит широкое биомедицинское применение, в частности, для микрокапсулирования и адресной доставки белков, для создания биосенсоров, создания новых биоматериалов для хирургии. Фундаментальной проблемой при создании такого рода систем является учет влияния хитозана на конформационную стабильность белков в их составе в зависимости от условий взаимодействия белок-полисахарид. Термодинамическая стабильность белка определяет как его функциональность, так и структуру, и физическую стабильность системы в целом.

Цель работы заключалась в изучении влияния хитозана на конформационную стабильность ряда глобулярных белков в водно-солевых смешанных с хитозаном растворах в зависимости от характера взаимодействий (ассоциативных или сегрегативных), задаваемых величиной pH раствора.

Объектами исследования служили глобулярные белки (лизоцим, овальбумин и легумин V.f.) и природный поликатион линейного строения – хитозан (M_η = 180 кДа, DD = 84,6%). Мерой термодинамической стабильности белков является изменение свободной энергии при полной денатурации. Для ее определения использовали метод дифференциальной адиабатной сканирующей микрокалориметрии (ДАСМ).

Методом ДАСМ проведено исследование влияния величины pH 3.0-6.0 на термодинамические параметры денатурации белков (температуру, энтальпию, инкремент теплоемкости, энтропию, свободную энергию денатурации) в бинарных и смешанных с хитозаном водно-солевых растворах. Установлено, что в условиях ассоциативных взаимодействий эффект хитозана на конформационную стабильность глобулярных белков зависит как от природы белка, так и от величины pH раствора. Хитозан понижает конформационную стабильность овальбумина во всем исследованном диапазоне pH. Конформационная стабильность легумина не изменяется в условиях сегрегативных взаимодействий (pH<4.0) и растет в условиях ассоциативных взаимодействий (pH 4.0-6.0). В случае лизоцима хитозан проявляет стабилизирующий эффект в диапазоне pH 4.0 – 6.0, и заметный дестабилизирующий эффект при pH 3.0. Вероятно, что эффект хитозана на термодинамическую стабильность лизоцима обусловлен, отчасти дополнительным вкладом специфических взаимодействий.

THERMODYNAMIC STABILITY OF SOME GLOBULAR PROTEINS IN AQUEOUS SOLUTIONS IN DEPENDING ON INTERACTION CONDITIONS WITH CHITOSAN

Feoktistova N.A., Plashchina I.G.

N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Science,
119334 Moscow, Kosygin Str, 4, 8(495)939-74-02; e-mail: natalifeoktistova@yahoo.com

Natural polycation chitosan owing to biocompatibility, biodegradability and low toxicity, high adhesive and hemostatic properties has wide biomedical applications such as microencapsulation and protein delivery carriers, to fabricate biosensors and new biomaterials for surgical thread, wound healing and tissue regeneration materials.

The fundamental problem to design such systems is to account the effect of chitosan on the thermodynamic stability of proteins in their composition depending on protein-polysaccharide interaction conditions. Protein stability determines as well the protein functionality as structure and physical stability of the system as a whole.

The aim of this work is to study the effect of chitosan on the conformational stability of some globular proteins in their mixed with chitosan solutions depending on the interaction conditions (associative or segregative) which were specified by pH value.

The objects of investigation are the globular proteins (hen egg white lysozyme, ovalbumin, legumin of *Vicia faba beans)* and natural polycation of linear structure — chitosan (M_η = 180 кДа, DD = 84,6%). Standart free energy change in the process of full denaturation usually consider as a measure of the protein themodynamic stability.

Using DSMC method, the investigation of pH effect in the range 3.0-6.0 on the thermodynamic parameters of protein denaturation in individual and mixed with chitosan solutions were carried out. It was established that effect of chitosan on the stability of protein depends both on the protein structure and pH value. Chitosan decreases the stability of ovalbumin in all pH range. Conformational stability of legumin does not change in segregative interaction conditions (pH<4.0) and increases in associative interaction conditions (pH 4.0-6.0). The stability of lysozyme enhances in pH 4.0-6.0 range under chitosan action and decreases measurably at pH 3.0. It is possible that effect of chitosan in thermostability of lysozyme in some extent is caused by specific interactions with chitosan.

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПРЕПАРАТИВНОГО ПОЛУЧЕНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПЕПТИДА ЛАКТАПТИНА

Фомин А.С., Коваль О.А., Кулигина Е.В., Семенов Д.В., Потапенко М.О., Трошкова Г.П., Рихтер В.А.

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

При исследовании цитотоксических факторов молока человека нами был выделен и охарактеризован пептид — лактаптин, индуцирующий апоптотическую гибель раковых клеток аденокарциномы молочной железы человека MCF-7. Для исследования противоопухолевой активности лактаптина in vitro и in vivo был сконструирован его генно-инженерный аналог, который вызывал апоптоз клеток MCF-7 в культуре. Показано, что аналог лактаптина RL2 специфически подавляет жизнеспособность онкотрансформированных клеток и не влияет на рост немалигнизированных клеток человека.

Разработана технология препаративного получения фармацевтической субстанции, содержащей генно-инженерный аналог противоопухолевого пептида лактаптина. В основе технологии лежат современные методы ферментации биомассы *E.coli*, технологии рекомбинантных ДНК, методы хроматографической очистки белков и современные методы контроля качества получаемой субстанции.

Технология препаративного получения противоопухолевого пептида лактаптина включает 4 основные стадии: наработку биомассы продуцента, выделение субстанции, обогащенной по содержанию лактаптина, очистку и контроль качества субстанции. Данная технология позволяет получать 5 мг целевого пептида из 1 г биомассы продуцента. Методы контроля качества субстанции заложены в проекте фармакопейной статьи предприятия и включают 4 основных раздела: контроль подлинности целевого пептида, анализ специфической активности субстанции, анализ токсичности субстанции на животных и анализ чистоты субстанции.

Работа поддержана грантами: РФФИ № 10-04-01109-а, № 11-04-12100 офиМ, ФЦП «Научные

и научно-педагогические кадры инновационной России» № 02.740.11.0715 и ФЦП «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности РФ на период до 2020 года и дальнейшую перспективу» № 16.N08.12.1009.

DEVELOPMENT OF PREPARATIVE-SCALE TECHNOLOGY OF ANTITUMOR PEPTIDE LACTAPTIN

Fomin A.S., Koval O.A., Kuligina E.V., Semenov D.V., Potapenko M.O., Troshkova G.P., Richter V.A.

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

We isolated and characterized bioactive peptide from human milk that induced apoptosis of mammary adenocarcynoma MCF-7 cells — lactaptin. To investigate the biological properties of lactaptin we have constructed the recombinant analog of lactaptin (RL2) which is capable to induce apoptosis of MCF-7 cells. It was shown that RL2 decreased the viability of malignant cells whereas normal non-malignant cells were resistant to RL2 effects.

Here we present the technology of preparative scale production of antitumor pharmaceutical substance of engineered analog of lactaptin. The technology based on biomass fermentation, recombinant DNA techniques, chromatographic purifications and biochemical quality control.

Preparative scale lactaptin production technology contains four main stages: growing of the transformed *E.coli* cells, isolation of lactaptin-rich fraction from biomass, serial steps of purification of targeted product and final quality control. The yield of purified antitumor peptide lactaptin was 5 mg of the peptide per 1 g of *E.coli* biomass. Control of the identity, specific activities, purity and animal toxicity of antitumor pharmaceutical substance were enclosed into the protocols of pharmacopeia article of lactaptin.

This work was supported by grants: RFBR № 10-04-01109-a and № 11-04-12100, Federal target program "Scientific and scientific-pedagogical personnel of innovative Russia" № 02.740.11.0715, Federal target program «The Development of the Pharmaceutical and Medical Industries of the Russian Federation until 2020 and Beyond» № 16.N08.12.1009.

СКРИНИНГ ИНГИБИТОРОВ ТЕЛОМЕРАЗНОЙ АКТИВНОСТИ

Готовцева В.Ю.[1], Бибикова М.В.[1], Жданов Д.Д.[2], Коваленко Н.А.[2]

[1]*ООО «Виорин», 115230, г. Москва, Хлебозаводский проезд, д.7, стр.9.*

[2]*Первый Московский Государственный Медицинский Университет им. Сеченова, 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2.*

В последние годы большой интерес представляет поиск и изучение ингибиторов теломеразной активности, что связано с перспективностью их применения в качестве избирательных средств воздействия на раковые клетки.

В данной работе мы проводили скрининг ингибиторов теломеразы, выделенной из опухолевых клеток. Были исследованы комплексные препараты, полученные из мицелиальной массы и нативного раствора, после биосинтеза 43 штаммов микромицетов и 72 штаммов актиномицетов, выделенных ранее в лаборатории Коллекции культур ГНЦА.

В результате проведенных опытов нами был отобран штамм Streptomyces sp. 12/96, экстракт из мицелия которого проявил выраженную ингибирующую активность в отношении образования фермента теломеразы. Экстракт был очищен методами тонкослойной, колоночной и

высокоэффективной жидкостной хроматографии. Полученный очищенный препарат проверяли in vitro на клеточных линиях раковых опухолей предстательной и молочной желез. Наибольшую активность препарат проявил на клеточных линиях Jurcat, вызывая отсроченную гибель клеток по типу апоптоза, и не влиял на контрольные клетки фибробластов.

В настоящее время нами ведется работа по изучению физико-химических свойств и установлению структуры препарата. Полученные данные позволяют предположить, что отобранный нами штамм является продуцентом нового соединения, являющегося перспективным как для разработки в качестве потенциального противоопухолевого средства, так и для изучения механизмов действия фермента теломеразы.

SCREENING FOR INHIBITORS OF TELOMERASE ACTIVITY

Gotovtseva V.Y.[1], **Bibikova M.V.**[1], **Zhdanov D.D.**[2], **Kovalenko N.A.**[2]
[1] *"Viorin", 115230, Moscow, Hlebozavodsky pr., 7-9.*
[2] *First Moscow State Medical University,*
119991, Moscow, ul. Trubetskaya, 8-2.

In recent years there has been a great interest in searching and studying of telomerase activity inhibitors, which is associated with its promising use as highly specific remedy against cancer.

In our research we carried out screening for telomerase inhibitors. Telomerase ferment was isolated from the tumor cells. We tested complex compounds obtained from mycelial masses and native solutions of 43 strains of micromycetes and 72 strains of actinomycetes isolated in laboratory of cultures in State Research Center of Antibiotics.

As a result of these tests we selected strain of Streptomyces sp. 12/96. Its mycelium extract showed strongly pronounced inhibitory activity against telomerase enzyme. Extract was purified by TLC, column chromatography and HPLC. The resulting purified preparation was tested in vitro on cell lines of prostate and breast cancer. The most activity was marked on Jurcat cell lines. Compound caused a delayed cell death in type of apoptosis and had no effect on fibroblast control cells.

Currently we are working on the study of physico-chemical properties and the establishment of the structure of the drug. The latest data suggests that the selected strain is a producer of a new compound, which is highly promising for development as a potential antitumor agent and for studying of telomerase operation mechanisms.

СРЕДСТВА ДОСТАВКИ В ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА БЕТУЛИНА – ПРИРОДНОГО ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО СОЕДИНЕНИЯ, ПОЛУЧЕННОГО CO_2 - ЭКСТРАКЦИЕЙ ИЗ КОРЫ БЕРЕЗЫ

Каштанов Е.А., Урьяш В.Ф., Кокурина Н.Ю., Кочеткова М.С.
Научно-исследовательский институт химии Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского
603950, г. Нижний Новгород,
пр. Гагарина, д.23, корп.5

Для доставки биологически активных веществ (БАВ) к органу-мишени в организме человека необходимы эффективные средства. В качестве таковых могут быть использованы полисахариды, в частности, целлюлоза (Ц) и хитозан (ХТЗ). Для конструирования полимерных систем-носителей БАВ нужно знать как последние влияют на физико-химические свойства полимера. Бетулин (БТ) – природное биологически активное вещество, представляющее

собой пентациклический тритерпеновый спирт ряда лупана. Он оказывает антисептическое, антивирусное, желчегонное, гастро- и гепатопротекторное действие. БТ был выделен из CO_2-экстракта коры березы. Нами методом дифференциального термического анализа в области 80-600 К были изучены релаксационные переходы в Ц, ХТЗ, БТ и их бинарных смесях. Изучен крабовый ХТЗ , полученный ЗАО «Биопрогресс» (г. Щелково МО). Мол. масса его была $8.3*10^5$ D, степень деацетилирования – 85%. Исследовали облагороженную древесную Ц «Тайрцелл» (98% α-целлюлозы) с нулевым индексом кристалличности. Бинарные смеси ХТЗ и Ц с БТ готовили сорбцией полисахаридом низкомолекулярного вещества из раствора его в хлороформе. Содержание БТ в полисахариде определяли по изменению массы последнего. У Ц и ХТЗ проявился весь спектр релаксационных переходов (g-, b-, $\pm_1$ и α_2), характерных для полисахаридов. Температуру расстеклования высокоупорядоченных микрообластей ХТЗ БТ понижает только на 2°С, т.е. БТ практически не проникает в эти микрообласти. БТ проникает в аморфные микрообласти ХТЗ. Их насыщение происходит при содержании БТ>16 мас.%. Насыщение аморфных микрообластей Ц происходит при концентрации БТ 8-9 мас.%. Т.о., совместимость БТ с Ц меньше, чем с ХТЗ, поэтому последний является более перспективным средством доставки БТ в организм человека.

MEANS OF DELIVERY OF BETULIN – NATURAL ANTITUMORAL COMPOUND OBTAINED BY CO_2-EXTRACTION FROM BITCH BARK TO THE HUMAN ORGANISM

Kashtanov E.A., Uryash V.F., Kokurina N.Yu. and Kochetkova M.S.
Research Institute of Chemistry, Nizhny Novgorod State University,
603950, Nizhny Novgorod, Gagarin prosp., 23, block 5

The delivery of biologically active substances (BAS) to the target organ in the human organism requires effective means. Polysaccharides, in particular cellulose (C) and chitosan (CHS), can serve as promising candidates. For the polymer (BAS) carrier-systems to be constructed, it is necessary to know how (BAS) affect physical-chemical properties of a polymer. Betulin (BT) is a natural biologically active substance representing a pentacyclic tryterpene alcohol of the lupane series. It has an anticeptic, antiviral, cholagogic, and gastro- and hepatoprotective effect. (BT) was extracted from the CO_2–extract of the birch bark. Using the method of differential thermal analysis in the 80–600 K range, we studied relaxation transitions in (C), (CHS), (BT), and their binary mixtures. The crab (CHS) produced by ZAO "Bioprogress" (Shelokovo, Moscow Region) was investigated. Its molecular weight was $8.3*10^5$ D, and the deacetylation degree was 85%. The purified wood cellulose "Tairecell" (98% of α-cellulose) with the zero crystallinity index was studied. The binary mixtures of (CHS) and (C) were prepared using polysaccharide sorption of a low-molecular substance from its solution in chloroform. The concentration of (BT) in polysaccharide was determined based on variations in the polysaccharide mass. Both (C) and (CHS) demonstrated the entire spectrum of relaxation transitions (g-, b-, α_1 and α_2) typical for polysaccharides. The devitrification temperature in the highly ordered (CHS) microregions is reduced by (BT) by only 2°C, i.e., (BT) does not practically penetrate these microregions. However, (BT) penetrates into amorphous (CHS) regions. Their saturation takes place at the (BT) concentration of >16 mass%. These amorphous microregions are saturated with (C) at the (BT) concentration of 8–9 mass%. Thus, the (BT) compatibility with (C) is lower than that with (CHS), thus making the latter a more promising candidate for the (BT) delivery into the human organism.

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ШТАММОВ BACILLUS MEGATERIUM

Маланичева И.А.[1], **Козлов Д.Г.**[1], **Зенкова В.А.**[1], **Катруха Г.С.**[1], **Резникова М.И.**[1], **Тарасова О.Д.**[2], **Синеокий С.П.**[2], **Ефременкова О.В.**[1]

[1]*Институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе РАМН;*
119021, Москва, Б. Пироговская, 11; ovefr@narod.ru
[2]*Институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов;*
117545 Москва, 1-й Дорожный проезд, 1; odtar@yandex.ru

Для изыскания новых природных антибиотиков проводится исследование антибиотической активности ряда культивируемых организмов, в том числе эубактерий. Один из природных изолятов (штамм ИНА 01083) показал высокий уровень антибиотической активности в отношении грамположительных бактерий, в том числе метициллин-резистентного штамма *Staphylococcus aureus* ИНА 00761 (MRSA) и устойчивого к гликопептидным антибиотикам штамма *Leuconostoc mesenteroides* ВКПМ В-4177. На основании физиолого-морфологических признаков и ПЦР-анализа гена 16SrRNA установлена принадлежность этого штамма к виду *Bacillus megaterium*, у которого ранее был описан ряд антибиотиков (рассмотренных в статье Маланичевой с соавт., Микробиология, 2012, т. 81, № 2, с. 1–9). Нами было показано, что в общей сложности из 10 штаммов *B. megaterium* (выделенного штамма ИНА 01083 и девяти штаммов из Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (ВКПМ)) 9 образуют антимикробные соединения. У трех штаммов ИНА 01083, ВКПМ В-603 и ВКПМ В-605 с наивысшем уровнем активности и отличающимися антимикробными спектрами исследовали химическую природу антибиотиков. Установлено, что эти штаммы образуют 1, 2 и 2 антибиотика, соответственно. Три антибиотика эффективны в отношении штамма *S. aureus* INA 00761 (MRSA) и два – в отношении штамма *L. mesenteroides* ВКПМ В-4177. По результатам химического исследования (УФ- и ИК-спектры, масс-спектрометрия MALDI-MS, ТСХ) и на основе их сопоставления с базой данных BNPD (J. Berdy) показано, что три из пяти антибиотиков ранее не были описаны.

Таким образом, *B. megaterium* является полиморфным видом по признаку биосинтеза антибиотиков и перспективен в качестве продуцента новых антибиотиков, преодолевающих лекарственную устойчивость бактерий.

ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF BACILLUS MEGATERIUM

Malanicheva I.A.[1], **Koslov D.G.**[1], **Zenkova V.A.**[1], **Katrukha G.S.**[1], **Resnikova M.I.**[1], **Tarasova O.D.**[2], **Sineokiy S.P.**[2], **Efremenkova O.V.**[1]

[1]*Gause Institute of New Antibiotics Russian Academy of Medical Sciences;*
119021 Moscow, Bolshaya Pirogovskaya str., 11; ovefr@narod.ru
[2]*Institute for Genetics and Selection of Industrial Microorganisms;*
117545 Moscow, 1-st Dorozhniy pr., 1; odtar@yandex.ru

The search for new natural antibiotics we study antibiotic activity of a number of cultured organisms, including eubacteria. One of the natural isolates (strain INA 01083) showed high levels of antibiotic activity against gram-positive bacteria, including methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* INA 00761 (MRSA) and resistant to glycopeptide antibiotics the strain *Leuconostoc mesenteroides* VKPM B-4177. Based on physiological and morphological characteristics and PCR analysis of gene 16SrRNA established affiliation of this strain to the species *Bacillus megaterium*, which has previously been described as producer of several antibiotics (reviewed in the article Malanicheva I.A. et al., Microbiology, 2012, v. 81, № 2, pp. 1-9). We have shown that a total of 10 strains of *B. megaterium* (isolated strain INA 01083 and nine strains of the All-Russian Collection of Industrial Microorganisms (VKPM))

9 form an antimicrobial compounds. Three strains (INA 01083, VKPM B-603 and VKPM B-605 with the highest level of activity and different antimicrobial spectra have investigated the chemical nature of antibiotics. It is established that these strains produce 1, 2 and 2 antibiotics, respectively. Three antibiotics are effective against test-culture *S. aureus* INA 00761 (MRSA) and two of them are effective against test-culture *L. mesenteroides* VKPM B-4177. By results of chemical analysis (UV and IR spectra, mass spectrometry, MALDI-MS, TLC) and on the basis of comparison with a database BNPD (J. Berdy) it was shown that three out of five antibiotics had not been previously described.

Thus, *B. megaterium* is a polymorphic species on the biosynthesis of antibiotics and is promising as a producer of new antibiotics, overcoming drug resistance in bacteria.

НОВЫЕ АНТИБИОТИКИ, ОБРАЗУЕМЫЕ ШТАММАМИ BACILLUS SUBTILIS

Козлов Д.Г.[1], **Маланичева И.А.**[1], **Зенкова В.А.**[1], **Катруха Г.С.**[1], **Резникова М.И.**[1], **Борщевская Л.Н.**[2], **Тарасова О.Д.**[2], **Синеокий С.П.**[2], **Ефременкова О.В.**[1]

[1]*Институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе РАМН;*
119021, Москва, Б. Пироговская, 11; ovefr@narod.ru
[2]*Институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов;*
117545 Москва, 1-й Дорожный проезд, 1; odtar@yandex.ru

Для изыскания новых природных антибиотиков нами проводится выделение микроорганизмов – предполагаемых продуцентов антибиотиков, из различных экологических ниш, в том числе из плодовых тел высших грибов. В ходе этой работы из плодового тела базидиомицетного гриба чешуйчатки обыкновенной (*Pholiota squarrosa*) были выделены два штамма бактерий, обладающих выраженной антибиотической активностью в отношении грамположительных бактерий, в том числе в отношении метициллин-резистентного штамма *Staphylococcus aureus* ИНА 00761 (MRSA) и устойчивого к гликопептидным антибиотикам штамма *Leuconostoc mesenteroides* ВКПМ В-4177. На основании физиолого-морфологических признаков и ПЦР-анализа гена 16SrRNA установлена принадлежность указанных штаммов к виду *Bacillus subtilis*, у которого ранее было описано более 20 антибиотиков различной химической природы. Оба штамма образуют не менее чем по два ранее неописанных антибиотика, при этом штамм **3316** образует антибиотики пептидной и полиеновой группы, и у штамма **3952** один из антибиотиков также является пептидом (мол. масса указанных пептидов 1505 и 2059 Да, соответственно). Пептидный антибиотик **3952** содержит аминокислоты Asp, Gly, Leu, Pro, Tyr, Thr, Trp, Phe, а антибиотик штамма **3316**, помимо перечисленных аминокислот, содержит еще две неидентифицированные аминокислоты. Отрицательная нингидриновая реакция в обоих случаях указывает на отсутствие свободных α-аминогрупп, и таким образом выделенные нами новые антибиотики относятся к группе циклополипептидов. Из приведенных данных следует, что даже у такого хорошо изученного вида, как *B. subtilis*, возможно изыскание новых антибиотиков, преодолевающих устойчивость патогенных бактерий.

NEW ANTIBIOTICS PRODUCED BY STRAINS OF BACILLUS SUBTILIS

Koslov D.G.[1], **Malanicheva I.A.**[1], **Zenkova V.A.**[1], **Katrukha G.S.**[1], **Resnikova M.I.**[1], **Borshchevskaya L.N.**[2], **Tarasova O.D.**[2], **Sineokiy S.P.**[2], **Efremenkova O.V.**[1]

[1]*Gause Institute of New Antibiotics Russian Academy of Medical Sciences;*
119021 Moscow, Bolshaya Pirogovskaya str., 11; ovefr@narod.ru
[2]*Institute for Genetics and Selection of Industrial Microorganisms;*
117545 Moscow, 1-st Dorozhniy pr., 1; odtar@yandex.ru

To search new natural antibiotics we perform a screening of microorganisms – potential producers of antibiotics isolated from a variety of ecological niches, including the fruit bodies of higher fungi. Two strains of bacteria that have expressed antibiotic activity against gram-positive bacteria, including the methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* INA 00761 (MRSA) and glycopeptide antibiotic-resistant strain *Leuconostoc mesenteroides* VKPM B-4177, were isolated from the fruit body of basidiomycete fungus *Pholiota squarrosa.* Based on physiological and morphological characteristics and PCR analysis of gene 16SrRNA set belonging to the species mentioned strains Bacillus subtilis, which has previously been described for more than 20 antibiotics of different chemical nature. Both strains form at least two previously undescribed antibiotic, while strain **3316** forms a polyene antibiotic and the peptide antibiotic, and in strain **3952** is one of the antibiotics is also a peptide (molecular weight of these peptides 1505 and 2059 Da, respectively). The peptide antibiotic **3952** contains amino acids Asp, Gly, Leu, Pro, Tyr, Thr, Trp, Phe, and antibiotic of the strain **3316** besides the above amino acids contains two additional unidentified amino acids. Negative ninhydrin reaction indicates the absence of free α-amino groups in molecules and thus both antibiotic are cyclopolypeptides.

The data of our investigation suggest that even such a well-studied species, as *B. subtilis*, may be the source of new antibiotics, that overcome resistance of pathogenic bacteria.

РАЗРАБОТКА И ХАРАКТЕРИЗАЦИЯ НАНОКАПСУЛИРОВАННОЙ ФОРМЫ РЕКОМБИНАНТНОГО ЭРИТРОПОЭТИНА ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ ПЕРОРАЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Колесова М.Е., Хрипко О.П., Вараксин Н.А., Рябичева Т.Г., Нечаева Е.А.

Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»,
Новосибирская обл., Новосибирский р-он, наукоград Кольцово

Современная биотехнология открывает новые возможности для развития высокоэффективных технологий получения лекарственных средств. В последние годы особенно актуальными становятся исследования по созданию терапевтических систем направленного действия с регулируемым высвобождением активного вещества. Цель работы заключается в конструировании нанокапсулированной формы эритропоэтина (ЭПО) для перорального применения и исследовании ее биофармакологических свойств.

В качестве системы адресной доставки ЭПО были использованы pH-зависимые биодеградируемые полимеры природного и синтетического происхождения. В основе способа получения нанокапсулированной формы лежит технология коацервации рчЭПО в водном растворе полимера с введением стабилизаторов и последующим лиофильным высушиванием. Получены экспериментальные образцы препаратов, среди которых один образец – ЭПО, не включенный в капсулы в качестве контроля, и капсулированные формы рчЭПО с каждым из выбранных полимеров. По данным атомно-силовой микроскопии размер частиц ЭПО, не включенного в полимерные капсулы, составил 5–10 нм, а для капсулированных форм варьировал в среднем

от 20 до 100 нм в зависимости от полимера и его концентрации в препарате. Содержание ЭПО в препаратах составило 1000±100 МЕ/ампула. Стабильность нанокапсулированных препаратов рчЭПО исследовали методом режимного хранения. Показано, что препараты сохраняют стабильность в течение 1 года хранения при температуре (2–8) °С. В экспериментах на мышах линии ICR установлено, что капсулированные препараты достоверно повышали содержание ретикулоцитов в периферической крови по сравнению с контролями. Таким образом, можно предположить, что полимеры защищают ЭПО от ферментативного разрушения и повышают его биодоступность. Исследование фармакологической кинетики препаратов рчЭПО показало, что капсулирование позволяет добиться более высокого уровня концентрации препарата в крови и пролонгации его действия в 2 раза.

DEVELOPMENT AND CHARACTERIZATION OF NANOENCAPSULATED RECOMBINANT HUMAN ERYTHROPOIETIN FOR ORAL USE

Kolesova M.E., Khripko O.P., Varaksin N.A., Rjabicheva T.G., Nechaeva E.A.
The Federal Budget Institution of Science «The State Research Center of Virology and Biotechnology «VECTOR» (SRC VB VECTOR),
Novosibirsk region, Koltsovo

Modern biotechnology offers new opportunities for the development of highly efficient technologies for producing drugs. In recent years particularly relevant are studies on development of therapeutic systems with direct-acting controlled release of active substance. The purpose of this work is in the construction of nanoencapsulated form of recombinant human erythropoietin (rhEPO) for oral administration and study its biopharmacological properties.

As the targeted delivery of erythropoietin (EPO) has been used pH-sensitive biodegradable polymers of natural and synthetic origin. At the core of ways to get nanoencapsulated form is the technology rhEPO coacervation in an aqueous solution of the polymer with the introduction of stabilizers and subsequent lyophilic drying. Experimental samples of drugs, including one sample EPO not included in the capsule as a control and capsulated forms rhEPO with each of the selected polymers. According to atomic force microscopy, particle size of EPO not included in the polymer capsules was 5–10 nm, and for the encapsulated forms ranged from an average of 20 to 100 nm depending on the polymer and its concentration in the product. The content of EPO preparations was 1000 ± 100 IU/ampoule. The stability of nanoencapsulated drugs was investigated by method of regime storage. It is shown that the drugs are stable for 1 year of storage at a temperature (2–8) °C. In experiments on ICR mice found that the encapsulated drugs significantly increased the content of reticulocytes in the peripheral blood compared with controls. It can be assumed that the polymers protect EPO from enzymes destruction and increase its bioavailability. The study of pharmacological kinetics of drugs rhEPO showed that encapsulation allows achieving higher levels of drug concentration in blood and prolongation of its action in 2 times.

РАЗРАБОТКА ЛИПОСОМАЛЬНЫХ И ЭМУЛЬСИОННЫХ СИСТЕМ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ НА ОСНОВЕ КАТИОННЫХ ДИМЕРНЫХ АМФИФИЛОВ

Колоскова О.О., Кононова К.И., Буданова У.А., Себякин Ю.Л.
Московский государственный университет тонких химических технологий им.М.В. Ломоносова,
119571, Москва, пр. Вернадского, 86, e-mail: c-221@yandex.ru

Многие лекарственные средства имеют ограниченную растворимость в воде, а также оказывают общее токсическое действие на организм. Решением данной проблемы является включение таких веществ в наноагрегаты. Липосомы и эмульсии являются двумя наиболее подходящими классами коллоидных систем, используемых для доставки лекарственных веществ.

В качестве основы систем доставки биологически активных веществ перспективными соединениями являются катионные димерные амфифилы. Липосомы на их основе представляют собой эффективные транспортные системы вследствие облегченного взаимодействия получаемых частиц с эпителием, повышенной скорости транспорта конъюгатов в биологических жидкостях, высокой эффективости проникновения внутрь клетки. Кроме того, благодаря своей амфифильной структуре эти соединения являются хорошими эмульгаторами, причем могут стабилизировать эмульсию путем понижения межфазного поверхностного натяжения и придания частицам эмульсии электрических зарядов, одинаковых по знаку. Это способствует защите частиц от взаимного слияния при их столкновении за счет электростатического отталкивания.

В данной работе осуществлен синтез катионных димеров на основе липодипептидов, различающихся природой спейсера между полярными головками. Проведено системное изучение физико-химических свойств липосомальных дисперсий на их основе. Подобраны оптимальные соотношения компонентов эмульгирующей смеси, содержащей синтезированные соединения, с целью получения наиболее стабильной эмульсии.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 10-04-01382 и № 11-04-01618)

DEVELOPMENT OF LIPOSOMAL AND EMULSION DRUG DELIVERY SYSTEMS BASED ON CATIONICDIMERIC AMPHIPHILES

Koloskova O.O., Kononova K.I., Budanova U.A., Sebyakin Yu.L.
Moscow State University of Fine Chemical Technology named after M.V. Lomonosov
119571 Moscow, pr.Vernadskogo, 86, e-mail: c-221@yandex.ru

Many drugs have limited solubility in water, provide a general toxic effect on the body. The solution of this problem is the inclusion of such substances in nanoaggregate. Liposomes and emulsions are the most appropriate classes of colloidal systems used for drug delivery.

Dimeric cationic amphiphiles are the promising compounds as the basis for delivery systems of bioactive substances. Liposomes based on them are efficient transport system because of facilitating interaction of the particles with epithelium, increased rate of transport of conjugates in biological fluids, highly effective penetration into the cell. In addition, they are good emulsifiers due to amphiphilic structure of these compounds, they can stabilize the emulsion by lowering the interfacial surface tension and make the emulsion particle electric charges. This helps to protect the particles from fusion due to electrostatic repulsion.

In this work, cationic dimers based on lipodipeptides with differing nature of the spacer between the polar heads were synthesized. A systemic study of the physicochemical properties of liposomal

dispersions based on them was performed. The optimal ratio of components of emulsifying mixture containing the synthesized compounds, in order to obtain the most stable emulsion, was choosen.

This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research (grant № 10-04-01382 and № 11-04-01618)

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ИНТЕРФЕРОНА-ГАММА

Курбанова Е.[1,2], **Гусарова В.**[2], **Соколова И.**[2], **Воробьева Т.**[2], **Резяпкин А.**[3], **Духовлинов И.**[3], **Гусаров Д.**[2], **Баирамашвили Д.**[2]

[1]*Московский государственный университет тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, 119571 Москва (Россия), пр-т Вернадского, 86.*

[2]*Учреждение Российской академии наук Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997 Москва (Россия), ул. Миклухо-Маклая, 16/10.*

[3]*ООО «Фарма Ген», 194064 Санкт-Петербург (Россия), Тихорецкий пр., 4, литер «А»*

Разработка эффективной терапии повсеместно распространенных хронических вирусных инфекций остается важнейшей проблемой современной медицины. Препараты на основе интерферона-гамма привлекают внимание в отношении возможностей повышения эффективности лечения: многочисленных ОРВИ; «птичьего» гриппа; гепатита С и ВИЧ-инфекций; туберкулезной инфекции; онкологических заболеваний. Цель нашей работы — разработать эффективную технологию производства препарата на основе рекомбинантного интерферона-гамма.

Белок биосинтезировали в продуценте E.coli, после чего его выделяли в ненативной форме (в составе тел включения, ТВ), разрушая бактериальные клетки, и отмывали различными буферными системами. В рамках разработки эффективного «даун-стрим» процесса нами оптимизировались такие технологические этапы, как солюбилизация ТВ и восстановление рекомбинантного белка; ренатурация (рефолдинг) белка. Для солюбилизации и восстановления применяли хаотропные агенты (мочевина, гуанидин-гидрохлорид), а также тиолатные агенты (цистеин, дитиотреитол и др.). Изучали следующие способы ренатурации: прямое разведение буферными системами; разведение с добавлением окислительно-восстановительных пар (цистин-цистеин; окисленный-восстановленный глутатион); ренатурация перебуферированием с одновременным концентрированием с помощью тангенциальной фильтрации; ренатурация с помощью хроматографии. Кроме того, были разработаны методы внутрипроизводственного контроля, включающие электрофорез в полиакриламидном геле и высокоэффективную эксклюзионную хроматографию.

DEVELOPMENT OF THE TECHNOLOGY FOR THE PRODUCTION OF RECOMBINANT HUMAN INTERFERON-GAMMA

E.Kurbanova[1,2], V.Gusarova[2], I.Sokolova[2], T.Vorobjeva[2], A.Rezyapkin[3], I.Dukhovlinov[3], D.Gusarov[2], D.I.Bairamashvili[2].

[1]*Lomonosov Moscow State University of Fine Chemical Technologies, 119571 Moscow (Russia), Vernadskogo av., 86.*

[2]*Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, 117997 Moscow (Russia), Mikloukho-Maklaya st., 16/10.*

[3]*Pharma Gen, ltd, 194064 St-Petersburg (Russia), Tikhoretskiy pr., 4, liter «A».*

The development of the effective therapy of everywhere widespread chronic viral infections is known to remain the main problem in modern medicine. Preparations based on the interferon-gamma attract attention to the possibilities to increase the treatment efficiency of different upper respiratory tract infections (URTI); 'bird' flu (type I INF and type II IFN acting together); hepatitis C and human immunodeficiency virus (HIV); tubercular infections; oncologic diseases.

The goal of our work was to develop the efficient technology of the interferon-gamma API (active pharmaceutical ingredient) production.

Protein was biosynthesized in *E.coli* producer and then it was isolated in the non-native form (composed of inclusion bodies, Ibs), destroying the bacterial cells, and was washed with different buffer systems. In the context of effective "down-stream" process we optimized such technological steps as Ibs solubilization and recombinant protein reduction; renaturation (refolding) of the protein. To study the solubilization and reduction we used denaturating agents (urea, guanidine HCl) as well as thiol-agents (cysteine, dithiothreitol etc.). We studied the following approaches of renaturation: direct dilution with buffer solutions; dilution with addition of oxidation-reduction pairs (cystine-cysteine, Ox/Red glutathione), rebuffering renaturation with similtaneous concentration by cross flow filtration; renaturation by chromatography. Furthermore, different analyses based on SDS-PAGE and HILIC (SEC) were developed as methods for the in-process control.

ВОЗМОЖНОСТИ РЕГУЛИРОВАНИЯ ПРОДУКЦИИ ОКСИДА АЗОТА В МАКРОФАГАХ

Куроптева З.В.[1], Байдер Л.М.[1], Белая О.Л.[2], Наглер Л.Г.[1], Богатыренко Т.Н.[3]

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

[2]*Медико-стоматологический университет, Москва, ул. Делегатская, 10/1*

[3]*Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка, Московская обл.*

e-mail: zvk@sky.chph.ras.ru

Состояние клеточного (врожденного) иммунитета определяется функциональной активностью клеток иммунной системы – лейкоцитов и тканевых макрофагов. Известно, что после перенесенных длительных стрессовых ситуаций, при многих патологических состояниях и фармакологических воздействиях, хронических заболеваниях, а также с возрастом иммунитет человека снижается. Причем, показано, что количество лейкоцитов и макрофагов не уменьшается, а снижается функциональная активность этих клеток, в результате чего они не могут в полной мере осуществлять свои функции. Попытки стимулировать макрофаги для борьбы с инфекцией с использованием иммуноактивных цитокинов и ряда других соединений не принесли ожидаемых результатов.

В последние два десятилетия было установлено, что одно из самых простых химических соединений – оксид азота (NO), образующийся ферментативным путем в различных клетках

организма, участвует во множестве биохимических процессов, в том числе и в работе иммунной системы. Установлено, что NO, вырабатываемый лейкоцитами и макрофагами, является их главным оружием при уничтожении бактерий, вирусов, опухолевых клеток. Поэтому возможность регулирования синтеза NO в клетках иммунной системы имеет важное значение для повышения эффективности терапии и профилактики инфекционных заболеваний. В клетках NO синтезируется из L-аргинина и кислорода с участием специальных ферментов — NO-синтаз. Три известные для клеток млекопитающих изоформы NO-синтаз катализируют продукцию NO по одному и тому же пути, который состоит из двух последовательных монооксигеназных реакций: одна молекула L-аргинина окисляется с образованием одной молекулы NO и одной молекулы L-цитруллина.

При этом, эндотелиальная и нейрональная NO-синтазы продуцируют десятки микромолей NO в течение минут в ответ на стимулы. А индуцируемая NO-синтаза (iNOS) в макрофагах мышей может осуществлять синтез NO в течение нескольких часов или даже дней, что приводит к образованию миллимолярных концентраций. Изучая процессы образования NO макрофагами, мы попытались выяснить, каким образом эти клетки обеспечивают продукцию высоких количеств оксида азота. Методом ЭПР и Грисса было исследовано образование NO в макрофагах и тканях печени и показано, что количество продуцируемого клетками NO увеличивается при инкубации клеток с цитруллином и хлоридом аммония. Из этого следует, что образующийся при синтезе оксида азота из аргинина второй продукт цитруллин, считавшийся побочным продуктом, может быть использован клеткой для синтеза вначале аргинина, а затем снова для синтеза NO.

Кроме того, ранее нами было показано, что использование аскорбата (АК) приводило к увеличению продукции NO макрофагами и лейкоцитами. Проведенные в последние годы исследования показали, что АК способна восстанавливать один из ключевых кофакторов NO-синтаз – тетрагидробиоптерин BH_4. Из полученных данных следует, что МФ могут сами обеспечивать себя аргинином для необходимого синтеза NO, если имеются необходимые субстраты и кофакторы индуцируемой NO-синтазы. При истощении запасов соединений, обеспечивающих работу NO-синтазы, уменьшается и выработка NO. Это приводит к снижению функциональной активности лейкоцитов и макрофагов.

POSSIBILITIES FOR REGULATION OF NITRIC OXIDE IN MACROPHAGES

Kuropteva Z.V.[1], **Baider L.M.**[1], **Belaia O.L.**[2], **Nagler L.G.**[2], **Bogatyrenko T.N.**[3]
[1]*Emanuel Institute of Biochemical Physics RAS, Moscow 119334, Kosygin str., 4*
[2]*Moscow state medical stomatological university, Moscow, Delegatskaia str., 10/1*
[3]*Institute of Problems of Chemical Physics RAS, Chernogolovka, Moscow Region.*
E-mail: zvk@sky.chph.ras.ru

The state of the immune system determined the functional activity of cells — white blood cells and tissue macrophages. It is known that after a long-term stress situations, in many pathological conditions and pharmacological effects, chronic diseases, as well with age human immunity is reduced. Moreover, it is shown that the number of leukocytes and macrophages is not reduced, but reduced functional activity of these cells, thus they can not fully carry out its functions. Attempts to stimulate the MP to fight infection with the use of immunoactive cytokines and other compounds have not yielded the expected results.

In the past two decades, it was found that one of the most common chemicals — nitric oxide (NO), produced in a variety of body cells, is involved in many biochemical processes, including the immune system. Found that NO, produced by leukocytes and macrophages, is their main weapon in destroying bacteria, viruses, tumor cells. Therefore, the possibility of regulation of NO synthesis in the cells of the immune system is essential to improve treatment and prevention of infectious diseases. NO is

synthesized from L-arginine and oxygen, with the participation of specific enzymes — NO-synthase. Three known isoforms of mammalian cells for the NO-synthase catalyzes the production of NO in the same way, which consists of two successive monooxygenase reactions, one molecule of L-arginine is oxidized to form one molecule of NO and one molecule of L-citrulline.

Thus, endothelial and neuronal NO-synthase produce tens of micromoles of NO within minutes in response to stimuli. And inducible NO-synthase (iNOS) in macrophages of mice can carry out the synthesis of NO in a few hours or even days, which leads to the formation of millimolar concentrations. By studying the processes of formation of NO by macrophages, we attempted to determine how these cells provide high amounts of nitric oxide. ESR and Griess method was to study the formation of NO in macrophages and liver tissues and it is shown that the amount of NO produced by cells increases during the incubation of cells with citrulline and ammonium chloride. It follows from this that formed during the synthesis of nitric oxide from arginine, citrulline, which was considered as a by-product, can be used for the synthesis at beginning of arginine, and then again for the synthesis of NO. In addition, we have previously shown that the use of ascorbic acid (AA) led to an increase in NO production by macrophages and leukocytes. In recent years studies have shown that AK is capable of restoring a key cofactor of NO-synthase — tetrahydrobiopterin BH_4. From these data suggest that MF may themselves provide a synthesis of arginine required for NO, if they have the necessary substrates and cofactors of inducible NO-synthase. When substrates and cofactors are running out and production of NO is reduced. This leads to a decrease in functional activity of leukocytes and macrophages.

АМИНОГЛИКОЗИДНЫЕ АНТИБИОТИКИ, ОБРАЗУЕМЫЕ МУТАНТНЫМИ ШТАММАМИ STREPTOALLOTEICHUS CREMEUS SUBSP. TOBRAMYCINI

Лапчинская О.А., Гладких Е.Г., Погожева В.В., Орлова Г.И., Лаврова М.Ф., Пономаренко В.И., Федорова Г.Б., Катруха Г.С.
ФГБУ НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе РАМН;
119021, Москва, Б. Пироговская, 11;
e-mail: lapchinskaya@rambler.ru

Небрамициновый комплекс аминогликозидных антибиотиков, синтезируемый некоторыми видами актиномицетов, образован 18 аминоциклитольными соединениями, из которых 3’-дезоксиканамицин В (тобрамицин) и апрамицин являются основными и практически значимыми компонентами. В НИИНА им. Г.Ф.Гаузе РАМН были созданы промышленные продуценты тобрамицина и апрамицина на основе почвенной культуры *Streptoalloteichus cremeus* subsp. *tobramycini.*

В результате работ по мутагенезу и селекции с использованием устойчивости к аналогам первичных метаболитов получены мутантные штаммы, образующие канамицин С и 3’-дезоксиканамицин С в виде индивидуальных компонентов, неизвестных ранее в составе небрамицина. При этом канамицин С впервые обнаружен в карбамоильной форме, в отличие от синтезируемого промышленным продуцентом канамицина А, а 3’-дезоксиканамицин С – впервые как природное соединение. Благодаря отсутствию в его структуре аминогруппы в положении С-3, 3’-дезоксиканамицин С активен в отношении штаммов патогенных бактерий, инактивирующих аминогликозиды в этом положении. Терапевтический индекс 3’-дезоксиканамицина С в большинстве случаев выше по сравнению с тобрамицином при лечении сепсиса белых мышей, так как антибиотик в 3-6 раз менее токсичен.

Из мицелия мутантного штамма № 5733 экстракционными методами нами выделен и изучается антибиотик, отличающийся по антимикробному спектру действия от известных компонентов небрамицина.

ANTIBACTERIAL AMINOGLYCOSIDES ANTIBIOTICS PRODUCED BY MUTANT STRAINS STREPTOALLOTEICHUS CREMEUS SUBSP. TOBRAMYCINI

Lapchinskaya O.A., Pogozheva V.V., Orlova G.B., Lavrova M.F., Ponomarenko V.I., Fedorova G.B., Katrukha G.S.

Gause Institute of New Antibiotics Russian Academy of Medical Sciences;
119021 Moscow, Bolshaya Pirogovskaya str., 11
e-mail: lapchinskaya@rambler.ru

Some species *Streptomyces* 2-deoxystreptamine aminocyclitolls known as nebramycin complex, the main components being carbamoyltobramycin, carbamoylkanamycin B and apramycin. The industrial tobramycin, apramycin producers were obtained in Gause Institute of New Antibiotics according the strain *Streptoalloteichus cremeus* subsp**.** *tobramycini.*

Producers of aminoglycoside antibiotics unknown before in nebramycine complex (carbamoylkanamycin C, 3'-deoxykanamycin C (3'-DK) has been obtained among the mutants resistant to the structural analogs of some primary metabolites. Because of the absence into the structure amino groups at C-3 the new natural 3'-DK is active against pathogens resistant to tobramycin, apramycin and amikacin. 3'-DK has been demonstrated high efficiency in the treatment of experimental albino mice septicemia in comparison with tobramycin as 3'-DK toxicity is 3-6 times less.

ПОВЫШЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ЛИЗОЦИМА ПОД ДЕЙСТВИЕМ МЕТИЛРЕЗОРЦИНА

Мартиросова Е.И., Плащина И.Г.

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН,
119334 Москва, ул. Косыгина,4,
e-mail: ms_martins@mail.ru

Широкое применение антибактериального лекарственного препарата лизоцима в медицине для лечения инфекционных заболеваний, в пищевой и косметической промышленности для предотвращения бактериальных заражений продуктов является причиной приобретения микроорганизмами устойчивости к его действию. Одним из решений этой проблемы является модификация структуры лизоцима с помощью слабых неспецифических взаимодействий с метилрезорцином (МР). МР оказывает множественные эффекты на структуру и функции лизоцима, в частности, в концентрациях 10^{-7}–10^{-3}М вызывает повышение каталитической активности фермента в отношении специфических и неспецифических субстратов, изменяет субстратную специфичность, расширяет температурный и pH диапазоны работы фермента, изменяет его термодинамическую стабильность и другие физико-химические свойства.

Цель работы заключалась в изучении влияния концентрации МР на поверхностную активность лизоцима, динамику формирования и реологические свойства его адсорбционных слоев на границе раствор (0,05М PBS, pH 7,4)/ воздух. Методом динамической капельной тензиометрии и дилатометрии изучена адсорбция МР в индивидуальных и смешанных с лизоцимом растворах при 25^{O}C в диапазоне концентраций МР (0,16-128 мМ) и постоянной концентрации лизоцима 3,4 10^{-6} М.

Установлено, что МР обладает поверхностной активностью, сравнимой по величине с таковой у ионогенных ПАВ. Обнаружена способность МР к самоорганизации в растворе, с образованием «мицеллоподобной структуры». Показано, что МР изменяет термодинамическое сродство лизоцима к растворителю в зависимости от концентрации. Ниже условной величины критической концентрации мицеллообразования (ККМ) МР повышает гидрофильность белка, а выше ККМ –

повышает его гидрофобность. В исследуемых условиях МР и лизоцим способны конкурировать в процессе адсорбции на границе воздух/вода, о чем свидетельствует увеличение ККМ МР в присутствии лизоцима. Значение ККМ в смеси и концентрация МР, при которой активность лизоцима в присутствии МР достигает максимального значения и сохраняется постоянной при дальнейшем увеличении в широких пределах, практически совпадают. Можно предположить, что самоорганизация МР служит стерическим препятствием для его проникновения в активный центр лизоцима, вследствие чего дальнейшее увеличение концентрации лиганда в системе перестает влиять на активность фермента.

Поведение адсорбционных слоев как интактного, так и модифицированного лизоцима является «твердообразным» (слабая частотная зависимость комплексного модуля вязкоэластичности $\mathbf{E}_0$ и преобладание его упругой составляющей $\mathbf{E}'$ над вязкостной $\mathbf{E}''$). С увеличением концентрации МР наблюдается повышение $\mathbf{E}'$ и увеличение инкремента его частотной зависимости при практически неизменной величине $\mathbf{E}''$, что свидетельствует о повышении вязкоэластичности слоев.

Наблюдаемые эффекты могут быть использованы для получения антибактериальных фармакологических препаратов эмульсионного и пенообразного типа с повышенной физической стабильностью и увеличенным сроком действия при более высокой ферментативной активности и расширенной субстратной специфичности.

IMPROVE THE FUNCTIONAL PROPERTIES OF HEN EGG WHITE LYSOZYME BY THE ACTION OF METHYLRESORCINOL

Martirosova E.I., Plashchina I.G.
Emanuel Institute of Biochemical Physics RAS,
Kosygin st. 4, Moscow 119334, Russia,
e-mail: ms_martins@mail.ru

Wide using of lysozyme in medicine for the treatment of various infections and in food and cosmetic industry to prevent bacterial contamination of the stuffs leads to production of the big problem — resistance of microorganisms to lysozyme action. In recent years, a great deal of attention has been devoted to the investigations aimed at studying lysozyme modifications affecting lysozyme properties while retaining its activity. One of the ways to solve this problem is modification of lysozyme structure with using weak nonspecific interaction with methylresorcinol (MR). It is known numeral effects of MR on the structure and functions of lysozyme. In particularity, in concentration range of 10^{-7}–10^{-3}M MR raises specific and nonspecific enzymatic activity and extends its substratum specificity, expands temperature range of lysozyme catalysis, changes its thermodynamic stability and other physical properties.

The aim of this work is to study the effect of MR on the surface activity of lysozyme, dynamic of formation and rheological properties of its adsorptive layers at the air/solution (0.05M PBS, pH 7.4) interface. Adsorption of individual MR solutions and mixed with lysozyme at the depending on MR concentration (0.16-128 mM) and constant lysozyme concentration 3.4 10^{-6} M at 25^{O}C was investigated by dynamic drop tensiometry and dilatometry methods.

It is shown that MR possesses surface activity, which value is comparable with ionic surfactant ones. The capability of MR to self-assembly with formation of «micelle-like structure» is established. MR was also shown to change thermodynamic affinity of lysozyme to the solvent depending on MR concentration. MR enhances the hydrophilicity of protein at concentration < CMC_{MR} and enhances it hydrophobicity at concentration > CMC_{MR}. Under used conditions MR and lysozyme can compete in adsorption process at air/water interface, evidenced by an increase CMC_{MR} in the presence of

lysozyme. It should be noted, that the value of CMC_{mix} and MR concentration at which the activity of lysozyme in the presence of MR reaches a maximum value and remains constant with further increase of MR concentration in a wide range, is almost the same. We can assume that self-organization of MR is the steric hindrance to its penetration into the active center of lysozyme molecule, resulting in a further increase of ligand concentration in the system ceases to affect the protein activity.

The rheological behavior of the adsorptive layers as well of intact as modified lysozyme is solid-like (low frequency dependence of complex modulus $\mathbf{E_0}$ and $\mathbf{E' >> E''}$). However MR can change the rheological properties of lysozyme. Modulus of elasticity and increment of its frequency dependence growth with increase of MR concentration. It means the increasing viscoelastic properties of layers.

Found effects can be used for production on the base of lysozyme of antibacterial pharmacological products of emulsion and foam types with enhanced physical stability and period of using while increasing its enzymatic activity and wider spectrum of action.

НОВЫЙ ЛИПИД-ТРАНСПОРТИРУЮЩИЙ БЕЛОК ИЗ УКРОПА ANETHUM GRAVEOLENS

Мельникова Д.Н., Финкина Е.И., Баландин С.В., Овчинникова Т.В.

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

Класс растительных липид-транспортирующих белков (LTP) составляют катионные мультифункциональные белки, которые нередко обладают не только способностью связывать и переносить липиды, но и антимикробной активностью. Это позволяет рассматривать возможность создания на их основе систем направленной доставки лекарственных и косметических средств, а также получения устойчивых к микроорганизмам трансгенных растений. Многие LTP являются аллергенами, участвующими в развитии аллергических реакций на растительные пищевые продукты, пыльцу и латекс. Обнаружение и изучение свойств новых растительных аллергенов не только способствует пониманию причин и механизмов развития аллергии, но и создает предпосылки для их дальнейшего использования в аллергодиагностике и специфической иммунотерапии.

В экстракте из листьев и стеблей укропа огородного Anethum graveolens нами был обнаружен белок, N-концевая аминокислотная последовательность которого имела высокую степень гомологии с растительными LTP подкласса 1. Для того, чтобы определить полную первичную структуру белка, была выделена суммарная РНК из листьев и стеблей укропа, и проведена обратная транскрипция и быстрая амплификация 3’ и 5’ концов соответствующей кДНК. На первом этапе амплификации использовались вырожденные ген-специфичные праймеры, структура которых была выбрана на основании данных по гомологии нуклеотидных последовательностей, кодирующих LTP из других растений. На втором этапе были использованы ген-специфичные праймеры, комплементарные уникальным участкам 3’-нетранслируемой области. В результате клонирования и секвенирования полученных фрагментов нами была установлена структура полноразмерной кДНК предшественника нового липид-транспортирующего белка, содержащего характерный для класса LTP сигнальный пептид из 29 аминокислотных остатков и зрелый белок длиной 93 аминокислотных остатка.

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 THE DILL ANETHUM GRAVEOLENS

Melnikova D.N., Finkina E.I., 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

Plant lipid transfer proteins (LTPs) are cationic multifunctional proteins that in many ability to bind and transfer lipids but also display antimicrobial activity. Identification and detailed characterization of LTPs can potentially lead to development of new targeted drug/cosmetic delivery systems and production of new transgenic plants resistant to pathogenic microorganisms. Many LTPs are also important allergens in fruits, vegetables, nuts, pollen, and latex. Detection and study of new plant allergens broaden knowledge of fundamental mechanisms of allergy development and can be applied for allergy diagnostics and immunotherapy.

We discovered a new protein in leaves and stalks of the garden dill *Anethum graveolens* and determined its N-terminal amino acid sequence possessing significant homology to plant LTPs of subclass 1. In order to determine the protein complete primary structure, total RNA was isolated from leaves and stalks of the dill, and reverse transcription and rapid amplification of the cDNA 3'- and 5'-ends (RACE) were performed. At the first stage of amplification the degenerate gene-specific primers were used. These primers were designed on the basis of homologous regions in nucleotide sequences encoding other plant LTPs. At the second stage the gene-specific primers complementary to 3'-untranslated region were used. The amplified fragments were cloned and sequenced, and the full-length cDNA was sequenced. The precursor protein contains a putative signal peptide (29 amino acid residues) which is typical for other plant LTPs, and the mature protein consists of 93 amino acid residues.

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, state contract P1159).

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫХ МЕТОДОВ АНАЛИЗА ДЛЯ ПОСТАДИЙНОГО КОНТРОЛЯ ПРОЦЕССА ПОЛУЧЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ФОЛЛИКУЛОСТИМУЛИРУЮЩЕГО ГОРМОНА ЧЕЛОВЕКА

Парамонова Д.К.[1,2.,3], **Воробьева Т.В.**[2], **Гурьева Л.Ю.**[2], **Гусаров Д.А.**[2], **Баирамашвили Д.И.**[2]
[1]*Московский Государственный университет тонкой химической технологии им. М.В.Ломоносова, Москва 119571, пр-кт Вернадского, 86.*
[2]*Учреждение Российской академии наук Институт биоорганической химии им.акад. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН,*
Москва 117997, ул.Миклухо-Маклая, 16/10

Фолликулостимулирующий гормон (ФСГ) – гликопротеин, относящийся, наряду с лютеинизирующим и тиреотропным гормоном, к группе гонадотропинов, которые продуцируются передней долей гипофиза и играют ключевую роль в работе репродуктивной системы человека.

В настоящее время такие зарубежные препараты на основе ФСГ, как Гонал Ф и Пурегон, широко используются в терапии бесплодия у женщин. Поэтому разработка эффективных методов получения ФСГ является актуальной биофармацевтической задачей для нашей страны.

Нами разрабатывается технология downstream процесса получения рекомбинатного ФСГ, которая включает в себя выделение белка из культурной жидкости клеток CHO и

последующую очистку продукта с получением активной фармацевтической субстанции. Одной из первостепенных задач для нас являлась разработка эффективных и точных методов контроля содержания ФСГ на различных этапах технологического процесса.

Разработаны подходы к внутрипроизводственному контролю получения ФСГ, такие как контроль содержания лактата в культуральной жидкости клеток CHO с использованием ОФ ВЭЖХ, а так же способы оценки содержания и чистоты ФСГ на разных этапах производственного процесса с применением электрофореза в полиакриламидном геле. Разрабатываются более экспрессный внутрипроизводственный метод контроля качества и количества ФСГ в препаратах на основе сверхчувствительной ВЭЖХ.

MANUFACTURE OF THE RECOMBINANT FOLLICLE-STIMULATING HORMONE: APPLICATION OF THE INSTRUMENTAL METHODS OF ANALYSIS FOR ITS IN-PROCESS CONTROL

Paramonova D.K[1,2,3], Vorobjeva T.V.[2], Gurjeva L.Yu.[2], Gusarov D.A.[2], Bairamashvili D.I.[2]
[1]*Lomonosov Moscow State Academy of Fine Chemical Technology,*
119571 Moscow (Russia), Vernadskogo av., 86.
[2]*Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry*
of the Russian Academy of Sciences, Russian Federation,
117997, Moscow, GSP-7, ul. Miklukho-Maklaya, 16/10

FSH is a member of the family of pituitary glycoprotein hormones (GPH) that together with luteinizing hormone (LH) and thyroid-stimulating hormone (TSH) plays key roles in human fertility.

At the present time there are series of the commercial foreign FSH preparations, such as Gonal F and Puregon, which are widely used as a fertility medication for women who are not been able to become pregnant due to the problems with ovulation. Thereby, the problem of development of the effective FSH technology is important for the Biopharma field of our country.

We are developing the downstream technology of the production of recombinant FSH, which included the stages of isolation of protein from the culture of CHO, purification and obtaining the active pharmaceutical ingredient. The development of effective and precise methods of FSH in-process control is one of our main tasks.

Such analytical methods as RP HPLC for the control of the lactate amount in CHO and PAGE for the FSH quality and quantity in-process control were studied. Furthermore the more rapid and mobile quantity control method based on UPLC is under development.

ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫХ МИКРОЧАСТИЦ С ИНГИБИТОРАМИ ПРОТЕАЗ ПРИ ПЕРОРАЛЬНОЙ ДОСТАВКЕ БЕЛКОВ

Печенкин М.А., Балабушевич Н.Г., Зоров И.Н., Изумрудов В.А., Клячко Н.Л., Кабанов А.В., Ларионова Н.И.
Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова,
119991, Москва, Ленинские горы 1/3

Целью работы являлось исследование включения ингибиторов протеаз в наноструктурированные полиэлектролитные микрочастицы для увеличения биодоступности белков при пероральной доставке.

Микрочастицы получали постадийной адсорбцией противоположно заряженных полиэлектролитов (декстрансульфат и хитозан) на микроматрице нерастворимого комплекса

белка с полианионом [1]. В работе использованы известные белковые ингибиторы с различной специфичностью к основным протеазам тонкого кишечника человека: овомукоид из утиных яиц, апротинин из легких быка и соевый ингибитор типа Баумана-Бирк.

Включение белковых ингибиторов в микрочастицы наиболее эффективно происходило на стадии образования нерастворимого комплекса белка с полианионом. Пригодными для получения микрочастиц оказались ингибиторы, имеющие значительный положительный заряд в условиях получения частиц при pH 3.0 (апротинин, ингибитор типа Баумана-Бирк). Исследованы состав микрочастиц, кинетика высвобождения из микрочастиц белков, а также ингибирование трипсина и химотрипсина. При капсулировании инсулина и его быстродействующих аналогов наиболее эффективную защиту от действия протеаз сока поджелудочной железы показал ингибитор типа Баумана-Бирк.

Поскольку протеолиз является одной из основных причин потери биологической активности белков при пероральной доставке, дополнительное включение белковых ингибиторов протеаз в pH-чувствительные полиэлектролитные микрочастицы должно способствовать повышению биодоступности целевых белков.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Правительства РФ — договор № 11G34.31.0004 от 30.11.2010 г.

1. Pechenkin M.A.et al. J. Bioequiv. Bioavailab., 2011, 3, 244-250.

THE PROTECTIVE EFFECT OF POLYELECTROLYTE MICROPARTICLES CONTAINING PROTEASE INHIBITORS IN ORAL PROTEIN DELIVERY

Pechenkin M.A., Balabushevich N.G., Zorov I.N., Izumrudov V.A., Klyachko N.L., Kabanov A.V., Larionova N.I.

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

The purpose of the work is to study incorporation of protein protease inhibitors into nanostructured polyelectrolyte microparticles with a view to improve bioavailability of perorally delivered proteins.

Alternate adsorption of oppositely charged polyelectrolytes (dextran sulphate and chitosan) onto microaggregates of protein-polyanion insoluble complex was used to obtain microparticles [1]. In this research well-known protein inhibitors with different specificities for main proteases of human small intestine were used: ovomucoid from duck eggs, aprotinin from bovine lung, and Bowman-Birk type inhibitor from soybean.

Incorporation of protein inhibitors into polyelectrolyte microparticles occurred most effectively at the stage of formation of insoluble polyelectrolyte complex of protein with polyanion. Proteins carrying significant positive charge at pH 3.0 (aprotinin, Bowman-Birk inhibitor) were the most suitable for obtaining microparticles. Microparticle composition, protein release kinetics and inhibition of trypsin and chymotrypsin were studied. Bowman-Birk inhibitor protected human insulin and its analogues against proteases of pancreatic juice the most effectively.

Since proteolysis is one of the top three reasons of loss of biological activity of proteins in oral delivery, the inclusion of protease inhibitors in pH-sensitive polyelectrolyte microparticles should further enhance the bioavailability of delivered proteins.

This work was supported by grant of the Russian Government — contract No 11G34.31.0004, 30.11.2010.

1. Pechenkin M.A.et al. J. Bioequiv. Bioavailab., 2011, 3, 244-250.

РАЗРАБОТКА НОВОГО ВИРУСНОГО ВЕКТОРА ДЛЯ СУПЕРЭКСПРЕССИИ ЦЕЛЕВЫХ БЕЛКОВ В РАСТЕНИИ И ПОЛУЧЕНИЯ ВИРУСОПОДОБНЫХ ЧАСТИЦ

Путляев Е.В., Смирнов А.А.
Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,
Биологическийфакультет, кафедра вирусологии,
Россия, Москва, putlegor@mail.ru

Одним из перспективных подходов для производства вакцин является создание вирусоподобных частиц (ВПЧ), из белка оболочки (БО) растительного вируса, декорированных вакциногенными эпитопами различных патогенов. Подобные вакцинные препараты отличает высокая иммуногенность и биобезопасность, а также низкая себестоимость производства. Для получения ВПЧ требуется большое количество БО. Поэтому, целью данной работы было создание вирусного вектора для накопления БО в листья *Nicotiana benthamiana*, в количестве достаточном для эффективного образования ВПЧ.

Ранее в нашей лаборатории был описан новый штамм вируса мозаики альтернантеры (AltMV-MU (GenBank FJ822136.1)), способный образовывать вирусоподобные частицы в отсутствии вирусной РНК. В данной работе был создан вирусный вектор на основе кДНК копии геномной РНК AltMV-MU, из которой были удалены гены трех транспортных белков вируса. По нашим сведениям, это первый вирусный вектор на основе ВМАльт, имеющий подобную архитектуру. Полученный вирусный вектор был агроинокулирован в листья растения *Nicotiana benthamiana* совместно с ингибитором посттранскрипционного умолкания генов вируса кустистой карликовости томатов (p19). Анализ трансформированной ткани показал, что созданный вирусный вектор обеспечивает высокий уровень накопление БО ВМАльт -до 5 г на 1 кг сырой листовой массы, что соответствует примерно 50% массы всех растворимых белков листа. Исследование методом просвечивающей электронной микроскопии показало, что данное количество БО ВМАльт достаточно для эффективного образования ВПЧ.

Таким образом, в ходе представленной работы был разработан новый вирусный вектор, обеспечивающий высокий уровень накопления БО ВМАльт в листьях *Nicotiana benthamiana*, достаточный для эффективного образования ВПЧ. Следовательно, данный вектор может быть использован для создания вакцин на основе ВПЧ ВМАльт, а также для экспрессии целевых белков в тканях растений.

A NEW VIRAL VECTOR DEVELOPMENT FOR TARGET PROTEINS SUPEREXPRESSION AND VIRUS-LIKE PARTICLES PRODUCTION IN PLANTS

Putlyaev E V, Smirnov A A
Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology,
Russian Federation, Moscow, putlegor@mail.ru

One of the promising approaches to vaccine manufacturing is production of virus-like particles (VLPs), which consist of the plant viral capsid protein (CP), decorated with immunogenic epitopes of different human pathogens. This type of vaccine has many advantages namely its high immunogenicity and low cost price. Since the VLP production process requires high amounts of CP, the goal of the current work was to create a viral vector for CP production in *Nicotiana benthamiana* leaves in amounts, sufficient for VLP formation.

The new strain of the *Alternanthera mosaic virus* — AltMV-MU (GenBank FJ822136.1) has been previously described in our laboratory. We found that the AltMV-MU CP could form VLPs in the absence of the viral RNA. In order to achieve the VLP assembly by plant-produced CP AltMV-MU we

developed a new virus vector on the basis of the cDNA copy of the AltMV-MU genomic RNA, lacking triple gene block. According to our knowledge, this is the first viral vector with such an architecture based on the AltMV genome. Obtained vector was agroinoculated into the *Nicotiana benthamiana* leaves in pare with the inhibitor of posttranscriptional gene silencing of the tomato bushy stunt virus (p19). Analysis of the transformed tissue showed that the AltMV CP yield reached up to 5 gramms per 1 kilogramm of fresh leaf tissue, which was equivalent to nearly 50% of total soluble protein in the plant cell. The analysis by transmission electron microscopy revealed that the level of the AltMV CP expression is sufficient for the effective VLPs formation.

In summary, the new viral vector on the basis of AltMV-MU genome was constructed during the current work. This vector expressed up to 5 g CP AltMV-MU per kg of fresh *Nicotiana benthamiana* leaf mass which was sufficient for an efficient VLP production. In future, this vector will be utilized for production of VLP based vaccines and also for expression of different proteins of interest in plants.

МЕТОД ПРЕДСКАЗАНИЯ *DE NOVO* СТРУКТУРЫ АПТАМЕРОВ, СВЯЗЫВАЮЩИХСЯ С БЕЛКАМИ

Щербинин Д.С., Гнеденко О.В., Воронина С.А., Радько С.П., Иванов А.С., Веселовский А.В.
ИБМХ РАМН;
119121, Россия, Москва, ул. Погодинская, д. 10

Аптамеры — небольшие одноцепочечные ДНК или РНК-олигонуклеотиды со стабильной трехмерной структурой, связывающиеся с макромолекулами с высокой аффинностью и селективностью. В отличие от моноклональных антител, синтез аптамеров занимает значительно меньше времени и требует меньших материальных затрат. В настоящее время аптамеры являются привлекательной заменой широко используемым в терапии и диагностики антителам.

В данной работе был предложен и апробирован метод предсказания структуры аптамеров *in silico*, способных связываться с белками. Предложенный подход включает в себя этапы поиска места связывания аптамеров с белком, поиск оптимального состава и положения нуклеотидов в месте связывания методом молекулярного докинга, оптимизации комплексов и оценки связывания олигонуклеотидов с белком. В качестве белка-мишени для апробации подхода был использовании цитохром P450 51A1. Предсказанные олигонуклеотиды были синтезированы и проверены на связывание с целевым белком на оптическом биосенсоре (Biocore). Было показано, что все предсказанные нами нуклеотиды взаимодействуют с цитохромом P450 51A1 с константами связывания ~10^{-6}-10^{-7}M.

Селективность полученных аптамеров была исследована на наборе белков, включающих тромбин, цитохром B5, цитохром P450- редуктаза и цитохром P450 3A4. Из данной выборки было обнаружено только слабое взаимодействие предложенных аптамеров с цитохромом P450 3A4.

Таким образом, была доказана эффективность и перспективность предлагаемого подхода по предсказанию структуры аптамеров с использованием методов молекулярного моделирования.

В работе использовалось оборудование ЦКП ”Протеом человека”; исследования были поддержаны гос.контрактом 16.552.11.7001 (Мин.Обр.Науки) и грантом РФФИ № 11-04-01107а.

A NEW APPROACH FOR *DE NOVO* PREDICTION OF APTAMERS INTERACTING WITH PROTEINS

Shcherbinin D.S., Gnedenko O.V., Voronina S.A., Radko S.P., Ivanov A.S., Veselovsky A.V.
IBMC RAMS;
119121, Russia, Moscow, Pogodinskaya street, 10

Aptamers are short single-stranded DNA/RNA oligonucleotides with stable spacial structure, that can bind to small molecules or macromolecules with high affinity and specificity. In contrast to monoclonal antibodies, synthesis of aptamers is much faster and is lower in cost. Nowadays aptamers are studied as potential attractive candidates for replacement of widely-used antibodies.

A new approach for *in silico* prediction of aptamers interacting with proteins have been developed and evaluated. This approach consists of several steps including: the search for potential aptamer-binding sites on the proteins surfaces; retrieval of the optimal nucleotide sequence of aptamers and their spacial position in the binding site of protein using flexible molecular docking; optimization of structures of predicted complexes; the calculation of binding energies. Cytochrome P450 51A1 was used as a target protein. Using proposed approach several oligonucleotides had been predicted as cytochrome binding aptamers. The synthesized oligonucleotides were tested for their ability of binding to target protein using Biocore biosensor. It was shown, that all predicted aptamers interacted with cytochrome P450 51A1 with binding constants in the range of ~10^{-6} – 10^{-7} M. Selectivity of the predicted aptamers had been tested using thrombin, cytochrome B5, cytochrome P450-reductase and cytochrome P450 3A4. Only cytochrome P450 3A4 had a weak interaction with our oligonucleotides.

Thus, the efficiency and viability of our method for prediction of aptamers using molecular modeling techniques had been shown.

The equipment of Sharable Data Center “Human proteome” was used; research was partially supported by the government contract of the Ministry of Education and Science №16.522.11.7001, and RFBR grant №11-04-01107a.

ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СОЕВОГО МОЛОКА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИФИДОСОДЕРЖАЩИХ ФЕРМЕНТИРОВАННЫХ ПРОДУКТОВ

Сидоренко А.В.[1], **Новик Г.И.**[1], **Зелинская Д.**[2], **Коложин-Краевская Д.**[2]
[1]*Институт микробиологии НАН Беларуси,*
220141, Минск, ул. Купревича, 2
[2]*Варшавский аграрный университет,*
02-776, Варшава, ул. Новоурсиновская, 159с

Альтернативой традиционным кисломолочным продуктам, которые не могут употреблять люди, страдающие аллергией на молочный белок, лактазной недостаточностью, вегетарианцы, являются ферментированные продукты на основе соевого молока. Сведения о перспективности использования соевого молока в качестве субстрата для получения бифидосодержащих ферментированных продуктов немногочисленны и противоречивы. Поэтому актуальной задачей является изучение ферментационной активности бактерий рода *Bifidobacterium* при культивировании в соевом молоке с целью отбора высокоактивных штаммов и оптимизации технологического процесса получения бифидосодержащих продуктов питания.

Изучена пролиферативная и кислотообразующая активность 7 штаммов бифидобактерий из фонда Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов при культивировании в соевом молоке. Отобраны высокоактивные штаммы *B. adolescentis* БИМ В-642, *B. longum* БИМ В-646, БИМ В-647, БИМ В-648, достигающие через 24 ч титра клеток 1,4–7,3x10^{8} КОЕ/

мл и снижающие pH до 4,22–5,04 ед., перспективные для использования в качестве стартовых культур. Установлено, что максимальный стимулирующий эффект на рост бифидобактерий в соевом молоке оказывает добавление 1% глюкозы и 1% олигофруктозы (накопление биомассы в 2 раза выше, показатель pH на 0,26 ед. ниже, чем в контроле). Внесение 1% глюкозы, 1% олигофруктозы, 1% глюкозы и 5% олигофруктозы не оказывает существенного влияния на рост бифидобактерий. Показано, что бактерии рода *Bifidobacterium* сохраняют высокий титр клеток ($3{,}6x10^7$–$1{,}6x10^8$ КОЕ/мл) в течение 14 суток хранения в ферментированном соевом молоке, а pH в процессе хранения достоверно не изменяется (нет процесса постацидификации).

Полученные результаты свидетельствуют, что соевое молоко является перспективным субстратом для получения бифидосодержащих ферментированных продуктов.

EVALUATION OF SUITABILITY OF SOY MILK AS A RAW MATERIAL FOR THE PRODUCTION OF BIFIDOBACTERIA CONTAINING FERMENTED PRODUCTS

Sidarenko A.V.[1], **Novik G.I.**[1], **Zielinska D.**[2], **Kolozyn-Krajewska D.**[2]
[1]*Institute of Microbiology NASB,*
220141, Minks, Kuprevich Str., 2
[2]*Warsaw Agricultural University,*
02-776, Warsaw, Nowoursynowska Str, 159c

Fermented soy milk products are good alternative to traditional dairy products and may be consumed by humans suffering from milk allergy, lactose intolerance, vegetarians. Unfortunately, information about suitability of soy milk as a raw material for preparation of bifidobacteria containing fermented products is still insufficient and controversial. Therefore evaluation of fermentative activity of *Bifidobacterium* strains in soy milk, selection of highly-active cultures and optimization of technological process for bifidobacteria containing fermented products production are argent aims for researches.

Proliferative and acid production activity of 7 bifidobacteria strains, deposited in Belarussian Collection of Non-Pathogenic Microorganisms, during cultivation in soy milk was studied. Highly-active strains *B. adolescentis* BIM B-642, *B. longum* BIM B-646, BIM B-647, BIM B-648, which produce $1{,}4$–$7{,}3x10^8$ CFU/ml and acidify milk to pH 4,22–5,04 after 24 h were selected as promising starter cultures. Significant stimulating effect of addition of 1% glucose and 1% oligofructose on growth of bifidobacteria in soy milk was demonstrated (biomass production 2 time higher and pH 0,26 points lower, compared to control). Replenishment of soy milk with 1% glucose, 1% oligofructose, 1% glucose and 5% oligofructose had no noticeable influence on growth of bifidobacteria. During 14 days of refrigerated storage of fermented soy milk bifidobacteria demonstrated high viability (viable cell count $3{,}6x10^7$–$1{,}6x10^8$ CFU/ml), and no significant changes of pH were detected (no postacidification processes).

The results obtained suggests, that soy milk supports growth of *Bifidobacterium* strains and is a good substrate for bifidobacteria containing fermented products preparation.

СНИЖЕНИЕ ПОБОЧНЫХ ЭФФЕКТОВ ТРОМБОЛИТИЧЕСКОГО АГЕНТА ПУТЕМ РЕГУЛИРОВАНИЯ СКОРОСТИ ЕГО ВЫСВОБОЖДЕНИЯ ИЗ МИКРОКАПСУЛ

Тюпа Д.В., Медведева А.С., Мухаметова Л.И., Айсина Р.Б.
Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова

Введение. Стрептокиназа (SK) является эффективным и доступным тромболитическим агентом. Однако SK вызывает истощение фибриногена (Fg) и плазминогена (Pg) в плазме, что приводит к геморрагиям или ретромбозам. Побочные эффекты и быстрый клиренс ограничивают применение SK в терапии.

Цель данной работы – снижение побочных эффектов SK путем включения ее в микрокапсулы из полиэтиленгликоля (PEG).

Методы исследования. PEG микрокапсулы, содержащие SK, были получены методом двойного эмульгирования. Кинетику лизиса сгустков из плазмы человека под действием нативной и капсулированной SK, падение уровней Fg и Pg в окружающей сгусток плазме были изучены методами, разработанными нами.

Результаты. Был оптимизирован метод получения PEG микрокапсул, содержащих SK. С целью вариации скорости высвобождения SK из микрокапсул использовали водорастворимый PEG с массами 20 и 40 кДа и разное соотношение PEG/SK. Получены препараты микрокапсул, содержащие 8 или 12 мг PEG (20 или 40 кДа) на 1000 Ед SK: 8-PEG_{20}-SK, 8-PEG_{40}-SK, 12-PEG_{20}-SK и 12-PEG_{40}-SK. соответственно. Для всех полученных образцов микрокапсул процент включения SK составлял ~ 90-95% (по активности). Обнаружено, что время полного высвобождения SK из 8-PEG_{20}-SK и 12-PEG_{20}-SK микрокапсул составляет 45 и 60 мин, а из 8-PEG_{40}-SK и 12-PEG_{40}-SK микрокапсул — 75 и 90 мин, соответственно. Начальные скорости лизиса плазменных сгустков, погруженных в плазму крови человека, под действием капсулированных образцов SK уменьшались с ростом соотношения PEG/SK и молекулярной массы полимера. Нативная и все образцы капсулированной SK вызывали через 4 часа 100% лизис сгустков. Показано, что капсулированные образцы SK вызывают меньшие побочные эффекты, чем свободная SK. Времена полуистощения Pg найдены равными 6, 8, 5, 13, 15 и 16,5 мин, а полуистощения Fg – 4, 34, 38, 40 и 41 мин для нативной SK, 8-PEG_{20}-SK, 12-PEG_{20}-SK, 8-PEG_{40}-SK и 12-PEG_{40}-SK микрокапсул, соответственно.

Заключение. Вариацией условий получены PEG-SK-микрокапсулы разного состава, которые содержат 90-95% тромболитического агента (по активности) и высвобождают его с разными скоростями. PEG-SK-микрокапсулы так же, как нативная SK, индуцируют 100% лизис плазменных сгустков через 4 ч. Все капсулированные образцы SK вызывают меньшее истощение важных белков плазмы по сравнению с нативной SK. Образец 12-PEG_{40}-SK микрокапсул с большей молекулярной массой PEG и соотношением PEG/SK вызывает наименьшие побочные эффекты.

DECREASE IN SIDE EFFECTS OF THROMBOLYTIC AGENT BY REGULATION OF IT RELEASE RATE FROM MICROCAPSULES

Tiupa D.V., Medvedeva A.S., Mukhametova L.I., Aisina R.B.
Chemical Faculty, Lomonosov Moscow State University

Introduction. Streptokinase (SK) is effective and available thrombolytic agent. However SK therapy causes the exhaustion of plasminogen (Pg) and fibrinogen (Fg) in plasma which brings into hemorrhage or rethrombosis. Rapid clearance from bloodstream and side effects restrict the SK use in thrombolytic therapy.

The aim of this study was the decrease in SK side effects by its inclusion in microcapsules with polyethylene glycol (PEG) shell.

Methods. PEG microcapsules containing SK were prepared by the method of double emulsification. The lysis kinetics of human plasma clots by native or capsulated SK, drop of Fg and Pg levels in plasma surrounding clot were studied by the methods developed in our laboratory.

Results. The method of preparation of PEG microcapsules containing SK was optimized. For variations of SK releasing rate from microcapsules the water-soluble high molecular PEG (20 and 40 kDa) and different PEG/SK ratio were used. It was obtained the microcapsulated samples which contained 8 or 12 mg PEG (20 or 40 kDa) per 1000 IU of SK: 8-PEG_{20}-SK, 8-PEG_{40}-SK, 12-PEG_{20}-SK и 12-PEG_{40}-SK, respectively. The SK inclusion percent were found to be 90-95% (by activity) for all obtained microcapsulated samples. The time of complete SK releasing from the samples 8-PEG_{20}-SK and 12-PEG_{20}-SK was 45 and 60 min, from 8-PEG_{40}-SK and 12-PEG_{40}-SK — 75 and 90 min, respectively. Initial lysis rates of plasma clots immersed in human plasma by capsulated SK samples decreased with increase in the PEG/SK ratio and molecular weight of polymer. Native and all capsulated forms of SK produced 100% clot lysis in 4 hours. It was shown that the capsulated SK samples induce the lower side effects as compared to native SK. The half-times of Pg exhaustion were found to be 6, 8.5, 13, 15 and 16.5 min, and half-times of Fg exhaustion – 4, 34, 38, 40 and 41 min for free SK, 8-PEG_{20}-SK, 12-PEG_{20}-SK, 8-PEG_{40}-SK and 12-PEG_{40}-SK samples, respectively.

Conclusions. By variation of conditions it was obtained the PEG-SK-microcapsules of various compositions, which contained 90-95% of the thrombolytic agent (by activity) and released it with different rates. Capsulated SK samples, as well native SK, produce 100% lysis of plasma clots in 4 hours. All capsulated SK samples cause the lower exhaustion of important plasma protein in comparison with native SK. The 12-PEG_{40}-SK microcapsule sample containing higher molecular weight PEG and PEG/SK ratio causes the lowest side effects.

БАКТЕРИОЦИНЫ, ОБРАЗУЕМЫЕ *LACTOCOCCUS LACTIS* SUBSP. *LACTIS* 194-К С ШИРОКИМ СПЕКТРОМ АНТИМИКРОБНОГО ДЕЙСТВИЯ

Устюгова Е.А.[1,3], **Тимофеева А.В.**[2], **Стоянова Л.Г.**[3], **Федорова Г.Б.**[1], **Катруха Г.С.**[1]

[1]*НИИНА им. Г.Ф. Гаузе РАМН,*
Б. Пироговская 11, Москва 119021;
[2]*НИИ ФХБ им. А.Н.Белозерского, МГУ им. М.В. Ломоносова,*
Москва 119991;
[3]*МГУ им. М.В. Ломоносова, биологический факультет,*
Москва 119992;
e-mail: ustyugova.katya@mail.ru

Многие штаммы молочнокислых бактерий (МКБ), являясь безопасными для человека, проявляют высокую антагонистическую активность по отношению к различным группам микроорганизмов. Это свойство МКБ особенно важно для сохранения качества пищевых продуктов. Антибиотическая активность МКБ зачастую связана со способностью синтезировать антимикробные пептиды – бактериоцины, некоторые из которых уже находят применение в пищевой промышленности в качестве безопасных консервантов (низин, код Е234). Однако широкое применение низина приводит к появлению антибиотико-резистентных форм бактерий. Поэтому поиск новых бактериоцинов и исследование условий их образования разными штаммами МКБ является очень актуальной и перспективной задачей.

В связи с этим нами была проведена работа по выделению нового бактериоцина из культуральной жидкости штамма *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 194-К, полученного ранее из

коровьего молока Бурятии. Бактериоцин, обозначенный как 194-D, представляет собой новый неизвестный полипептид с молекулярной массой 2589 Да, состоящий из 20 аминокислотных остатков. В отличие от низина А, выделенный нами бактериоцин 194-D обладает широким антимикробным спектром действия и подавляет рост грамположительных и грамотрицательных бактерий, что является редким свойством для бактериоцинов лактококков. Биосинтез бактериоцина 194-D штаммом 194-К происходит параллельно росту продуцента, максимум содержания 194-D в культуральной жидкости был зафиксирован нами к 14-20 часам роста. Исследование биологических и физико-химических свойств нового бактериоцина продолжается в наших лабораториях.

BACTERIOCINS FORMED BY *LACTOCOCCUS LACTIS* SUBSP. *LACTIS* 194-K WITH A BROAD SPECTRUM OF ANTIMICROBIAL ACTION

Ustyugova E.A.[1], **Timofeeva A.V.**[2], **Stoyanova L.G.**[3], **Fedorova G.B.**[1], **Khatruha G.S.**[1]
[1]*Gause Institute of New Antibiotics,*
Moscow119021, Pirogov str., 11, Russia;
[2]*Belozerskii Research Institute for Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow 119991, Russia;*
[3]*Lomonosov Moscow State University, Biological Faculty, Department of Microbiology; Moscow 119992, Lenin's Hills, Russia;*
e-mail: ustyugova.katya@mail.ru

Many strains of lactic acid bacteria (LAB), being safe for humans, exhibit a high antagonistic activity against different groups of microorganisms. This property of LAB is especially important for the food preservation. Antibiotic activity of LAB is often associated with the ability to synthesize antimicrobial peptides — bacteriocins, some of which are used in the food industry as safe preservatives (nisin, code E234). However, widespread use of nisin lead to the appearance of antibiotic-resistant forms of bacteria. Therefore, the search of new bacteriocins and study of their biosynthesis by different strains of LAB is very relevant and promising challenge. In this connection, we carried out work on purification of new bacteriocins from the culture broth of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 194-K strain isolated previously from cow's milk in Buryatia. Bacteriocin, designated as 194-D, is a new unknown polypeptide with a molecular mass of 2589 Da, consisting of 20 amino acid residues. In contrast to nisin A, it had a broad antimicrobial spectrum of activity and inhibited the growth of gram-positive and gram-negative bacteria, which is a rare property for lactococci bacteriocins. Biosynthesis of the bacteriocin 194-D by the 194-K strain occurs parallel to the growth of the producer, the maximum content of 194-D in the culture medium was detected to the 14-20 hours of growth. The study of biological and physico-chemical properties of new bacteriocins continues in our laboratories.

КОВАЛЕНТНАЯ МОДИФИКАЦИЯ ОКСИНТОМОДУЛИНА ЧЕЛОВЕКА ПОЛИСИАЛОВОЙ КИСЛОТОЙ ПРИВОДИТ К УВЕЛИЧЕНИЮ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ АНОРЕКСИГЕННОГО ЭФФЕКТА

Воробьев И.И.[1], **Мацкевич В.А.**[2], **Ковнир С.В.**[1], **Орлова Н.А.**[1], **Кнорре В.Д.**[1], **Джейн С.**[3], **Генкин Д.Д.**[4], **Габибов А.Г.**[1], **Мирошников А.И.**[1]

[1]*ИБХ РАН,*
117997, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10.
[2]*ФГБУ ГНЦ МЗСР РФ,*
125167, Москва, Новый Зыковский проезд, д.4а.
[3]*Xenetic Biosciences plc,*
London Bioscience Innovation Centre,
2 Royal College Street, London, NW10NH, United Kingdom
[4]*ОАО "Фармсинтез",*
194358 Санкт-Петербург, пр. Энгельса, д. 150

Цель исследования: Рекомбинантный пищеварительный гормон оксинтомодулин (OXM) известен как сигнал насыщения у людей. Вследствие того, что интактный OXM имеет очень короткий период полувыведения, только пролонгированные формы этого гормона могут иметь терапевтические перспективы. Ковалентная конъюгация OXM и природного гидрофильного полимера полисиаловой кислоты (PSA) может существенно улучшить время полувыведения гормона.

Методы: Конъюгат оксинтомодулина и полисиаловой кислоты (PSA-OXM) был получен при помощи химического полисиалирования *in vitro*. Положение точки конъгации определяли по появлению изменения молекулярных масс фрагментов при гидролиза протеазой Asp-N. Вызываемый инъекцией конъюгата анорексигенный эффект изучали на модели нормальных мышей, подвергнутых голоданию.

Результаты: Гомогенный препарат конъюгата PSA-OXM, пригодный для исследований *in vivo*, был получен при помощи двухстадийной хроматографической очистки. N-конец пептида был определен как единственный сайт химической конъюгации. Одна инъекция конъюгата в дозе 15 мкмоль/кг вызывала постоянное уменьшение потребления пищи мышами в течение 8 ч ($P<0,05$).

Выводы: Продолжительность достигаемого анорексигенного эффекта сравнима с показателями других пролонгированных производных, но требует более высоких вводимых доз.

N-TERMINAL CONJUGATE OF HUMAN OXYNTHOMODULIN AND POLYSIALIC ACID HAS A PROLONGED ANOREXIC EFFECT IN MICE MODEL

Ivan Vorobiev[1], Viktor Matskevich[2], Sergey Kovnir[1], Nadezhda Orlova[1], Vera Knorre[1], Sanjay Jain[3], Dmitry Genkin[4], Alexandre Gabibov[1], Anatoly Miroshnikov[1]

[1]*Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Miklukho-Maklaya, 16/10, Moscow, Russia, 117971*

[2]*Hematology Research Centre Ministry of Healthcare and Social Development of the Russian Federation, Novyj Zykovsky Proezd 4a, Moscow, Russia, 125167*

[3]*Xenetic Biosciences plc, London Bioscience Innovation Centre, 2 Royal College Street, London, NW10NH, United Kingdom*

[4]*OAO "Pharmsynthez", 150 Engelsa Prospect, St. Petersburg 194358, Russia*

Background: Recombinant gut hormone oxyntomodulin (OXM) is known as a satiety signal in human subjects and has a therapeutic potential as an appetite control agent. The only form of this hormone that has a use prospective is the prolonged one, since intact OXM has a very short half-disappearance time. Conjugation of OXM and the natural hydrophilic polymer polysialic acid (PSA) may significantly improve it's half-life.

Methods: Chemical polysialylation *in vitro* was used to make a long acting form of OXM, the polysialic acid-oxyntomodulin (PSA-OXM) conjugate. Position of the site of conjugation was determined using mass shift comparative analysis of Asp-N proteolytic digests. Anorexic effect of the conjugate was tested on lean fasted mice model.

Results: Two-stage purification technique was developed to obtain homogeneous PSA-OXM conjugate, suitable for *in vivo* testing. N-terminal backbone primary amino-group was found to be the only point of conjugation. Single injection of PSA-OXM at 15 μmol/kg dose was sufficient to maintain the steady decrease in food consumption for 8 h ($P<0,05$).

Conclusions: The length of the anorexic effect achieved is comparable to other long-acting derivatives of OXM, but requires a much higher dose for administration. Expectedly, site-directed attachment of PSA chain to the inner residues of OXM outside the area of interaction with receptors can produce the compound with a higher specific activity and comparable stability in the bloodstream.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ТАНКИРАЗЫ В КЛЕТКАХ ПЕЧЕНИ В НОРМЕ И ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПОВРЕЖДЕНИИ ТКАНИ

Жожикашвили А.С.[2], **Никифорова А.И.**[1,3], **Манских В.Н.**[3,4], **Дюжева Т.Г.**[5], **Куимов А.Н.**[1]

[1]*Институт физико-химической биологии им. А.Н.Белозерского,*
[2]*Биологический факультет,*
[3]*НИИ Митоинженерии ,*
[4]*Факультет биоинженерии и биоинформатики Московского Государственного Университета им. М.В.Ломоносова,*
119992 Москва,
[5]*Первый Московский Государственный Медицинский Университет им. И.М. Сеченова*

Танкираза – фермент, катализирующий поли-ADP-рибозилирование, посттрансляционную модификацию белка. Ее ингибиторы предполагается использовать в качестве лекарственных препаратов при лечении рака и других заболеваний человека и животных. Нами предложен метод определения эндогенной танкиразы в модельной линии гепатоцитов человека Huh7, а также в печени мышей. В присутствии радиоактивно меченого NAD^+ наблюдается включение меченой ADP-рибозы в состав ряда белков, в том числе танкиразы и ее эндогенного субстрата, лектина, связывающего маннозу. Метод апробирован на мониторинге изменений активности танкиразы в ходе регенерации печени после повреждающих воздействий. Работа поддерживается грантом РФФИ № 12-04-00955 и госконтрактом № 16.740.11.0499.

TANKYRASE ACTIVITY ASSAY IN LIVER CELLS IN NORMAL CONDITIONS AND AFTER INDUCED TISSUE INJURY

Zhozhikashvili A.S.[2], **Nikiforova A.I.**[1,3], **Manskikh V.N.**[3,4], **Dyuzheva T.G.**[5], **Kuimov A.N.**[1]

[1]*Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology,*
[2]*Faculty of Biology,*
[3]*Institute of Mitoengineering,*
[4]*Faculty of Bioengeneering and Bioinformatics of Lomonosov Moscow State University, 119992 Moscow, Russia,*
[5]*I.M. Sechenov the First Moscow State Medical University*

Tankyrase is an enzyme which catalyzes poly(ADP-ribosyl)ation, a posttranslational modification of protein. Its inhibitors are suggested to cure cancer and other diseases as pharmacological substances. We developed an assay of endogenous tankyrase activity in model cell line of hepatocytes Huh7 and in murine liver. In presence of radioactive NAD^+ the label was bound to a number of proteins with tankyrase and its endogenous substrate, mannose-binding lectin, among them. The assay was used to monitor the enzyme activity in the course of liver regeneration after experimental injury. The project was supported by Russian Foundation for Basic Research, grant 12-04-00955 and The State Contract 16.740.11.0499.

ВЛИЯНИЕ ОГРАНИЧЕННОЙ ТЕРМОАГРЕГАЦИИ БЫЧЬЕГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА НА ЕГО КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ С ЖЕЛАТИНОЙ

Журавлева И.Л., Антонов Ю.А.

Институт Биохимической Физики им. Н.М. Эмануэля, Российской Академии Наук.
Ул. Косыгина 4. 119334 Москва, Российская Федерация

Система, содержащая бычий сывороточный альбумин (БСА) и желатину известна и широко используется для биомедицинских целей и доставки лекарственных препаратов. Поэтому знание возможных взаимодействий между этими белками в различных условиях очень важно для создания фармацевтических препаратов. В данной работе изучено влияние ограниченной термоагрегации БСА на развитие структуры в комплексообразующей системе вода-БСА-кислотная желатина выше температуры конфирмационного перехода желатины, используя методы динамического светорассеяния, кругового дихроизма, и флуоресцентной спектроскопии. Тепловая обработка растворов БСА при 57°С в течение 10 минут приводит к частичной дестабилизации вторичной и третичной структур белка и к добавочной экспозиции триптофановых остатков на поверхность глобулы, образованию белковых агрегатов с радиусом частиц около 100 нм без термоденатурации белка. Взаимодействие желатины с такими белковыми агрегатами сопровождается образованием больших комплексных частиц со средним радиусом порядка 1500 мкм. Было установлено, что образование таких комплексов происходит вследствие электростатического взаимодействия противоположно заряженных групп БСА и желатины, в то время как вторичные силы (гидрофобные взаимодействия и водородные связи) играют важную роль в стабилизации таких комплексных частиц.

THE EFFECT OF THE LIMITED THERMOAGREGATION OF BSA ON ITS COMPLEX FORMATION WITH GELATIN

I.L.Zhuravleva and Y.A. Antonov

N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences,
Kosigin Str. 4. 119334 Moscow, Russia

BSA-gelatin system шы well known and widely used for biomedical and controlled release applications.Therefore knowledge of the interactions between these two proteins in different conditions are very important for production pharmaceutical preparation. This work studies the effect of the limited thermoagregation of BSA on the structure development in the complex forming water-gelatin-BSA system above the temperature of the conformation transition of gelatin using dynamic light scattering (DLS), circular dichroism (CD), and fluorescence measurements. Preheating of the BSA solutions at 57oC for 10 min. leads to the partial destabilization of the secondary and tertiary structures of the protein and to an additional exposure of the hydrophobic triptophan residues to the surface of the globule, formation of the protein aggregates with the radius approx. 100 nm without thermodenaturation of the protein. Interaction of gelatin with such protein aggregates results in formation of the large complex particles with the middle radius 1500 um. It has been established that formation of such complexes is due to the electrostatic interaction of the oppositely charged groups of BSA and gelatin, whereas the secondary forces (hydrophobic interaction and hydrogen bonds) play an important role in stabilisation of such complex particles.

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРЕПАРАТОВ ФЕНОЗАН И ИХФАН-10 НА МЕМБРАНЫ ЭРИТРОЦИТОВ МЕТОДОМ АСМ *IN VIVO*

Албантова А.А., Миль Е.М., Алексеева О.М., Бинюков В.И.
Учреждение Российской академии наук
Институт Биохимической физики им. Н.М.Эмануэля

В работе методом АСМ (атомно силовая микроскопия) проводилось изучение воздействия ряда ксенобиотиков, фенольных антиоксидантов – фенозана К, синтезированного на его основе препарата ИХФАН-10, на архитектонику эритроцитов мышей разных линий in vivo. Известно, что ряд ксенобиотиков, такие как синтетические антиоксиданты ИХФАНы in vitro способны изменять форму эритроцитов, что , по-видимому, может быть обусловлено встраиванием этих препаратов в структуру мембран, вызывая изменения вида эритроцита от дискоцитов в контрольных образцах к образованию стоматоцитов и эхиноцитов . Антиоксидант фенозан К (калиевая соль 3,5-дитретбутил-4-оксифенил) пропионовой кислоты) является пространственно защищенным фенолом, амфифильным веществом, который распределяется внутри мембранного липидного бислоя. В модельных системах было показано, что он изменяет как структуру, так и состав мембранной липидной фазы. Другой гибридный антиоксидант ИХФАН — 10 был синтезирован на основе фенозана с добавлением холина и остатков жирных кислот. Фенозан является известным антиоксидантом широкого спектра действия, который уже нашел применение в медицине как противосудорожное средство. Ранее нами обнаружено, что фенозан и ИХФАН-10 оказывают разное воздействие на синтез аптотических белков p53 и Bcl-2, вызывая соответственно эффекты репарации или апоптоза клеток В результате эксперимента было обнаружено, что через 12 часов после введения препарата фенозан , при увеличении дозы наблюдается снижение высоты, площади и объема АСМ имиджа эритроцитов. В то же время введение более гидрофобного препарата ИХФАН-10 в малых дозах 10-11- 10-9 М приводило к другому изменению этих параметров, что может свидетельствовать о влиянии жирнокислотной цепи на локализацию препаратов в мембране. Уменьшение ряда измеряемых параметров, под действием сверхмалых и малых доз фенозана, отражают изменения осмотического состояния эритроцитов что может быть связано с их локализацией во внешней мембране эритроцитов. Не исключено их влияние на процесс гликолиза, в том числе воздействие на рецепторы Na+-K+-АТФаз или Ca2+-АТФаз , вызывающих изменение метаболизма и/ или синтеза АТФ.

STUDY OF INFLUENCE OF MEDICINES SUCH AS FENOZAN AND ICHFAN-10 AT ERYTHROCYTE MEMDRANE BY AFM METHOD *IN VIVO*

Albantova A.A., Mil E.M., Alekseeva O.M., Binjukov V.I.

In work with method ACM (atom power microscopy) was studed the influence of some xenobiotics, phenolic antioxidants, such as fenozan, and Ichfan-10 on architectonics of erythrocytes in mice of different lines in vivo. It is known that a number of xenobiotics such as synthetic antioxidants in vitro, such as Ichfan is able to change the shape of red blood cells, that can be caused by inserting these products into the structure of membranes, causing changes in the form of erythrocyte-diskotsitov in control samples to the formation of echinocytes stomatotsitov. Antioxidant fenozan is spatially protected phenol, an amphiphilic substance, which is distributed within the membrane lipid bilayer. In modeling systems it has been shown that it changes both structure, and structure membrane lipid phases. Another

hybrid antioxidant Ichfan — 10 was synthesized by adding choline and fatty acid residues to fenozan. Fenozan is known as antioxidant of a wide spectrum of action which has already found application in medicine as an anticonvulsant. Previously, we studied that fenozan and Ichfan have different effects on the synthesis of apoptosis proteins p53 and Bcl-2, accordingly causing the effects of reparation or apoptosis. As a result of experiment was revealed that in 12 hours after introduction of preparations fenozan , when dose was increasing, the height and the area and volume ACM of image red blood cells was decreasing. At the same time introduction of more waterproof preparation Ichfan-10 in small doses of 10^{-11} 10^{-9} M led to other change of these parameters that can testify to influence the fatty acid chains on localization of preparations in a membrane. Decrease of some measured parameters, under the influence of ultra-small and small doses of fenozan , is reflected by changing an osmotic condition of red blood cells that can be connected with their localization in an external membrane of red blood cells. Isn't excluded that their influence on process of glycolysis, including influence on receptors to Na +-K +-ATPase or Sa2 +-ATPase, causing change of a metabolism and / or synthesis of ATP.

БИОПОТЕНЦИАЛ ПЕПТИДОВ МАЛОЙ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МАССЫ ПРОБИОТИЧЕСКИХ МИКРООРГАНИЗМОВ ДЛЯ СОЗДАНИЯ БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Головин М.А., Ганина В.И.

ФГБОУ ВПО МГУПП, кафедра «Технология молока и молочных продуктов», 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 33

Многие фармацевтические препараты при их применении в курсах лечения больных обладают кроме положительных эффектов побочными. Это создает интерес к созданию фармацевтических препаратов, проявляющих меньшее количество нежелательных действий, но которые работали бы более целенаправленно и эффективно. Существует немало сообщений о пептидах малой молекулярной массы, обладающих подобными желаемыми характеристиками. Исследования в этой области свидетельствуют о том, что природные пептидные препараты способствуют нормализации ритма белкового синтеза в культуре тканей и на уровне целого организма, а также участвуют в регуляции межклеточных взаимодействий и стимуляции иммунитета.

В настоящее время пробиотические микроорганизмы начинают рассматриваться как один из источников олигопептидов. Изучение внеклеточных пептидов пробиотических микроорганизмов представляет также фундаментальный интерес, поскольку открывает пути к более глубокому и полному пониманию механизмов взаимодействия между пробиотическими микроорганизмами и организмом человека.

На кафедре «Технология молока и молочных продуктов» МГУПП проведен скрининг разных видов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* по отношению к широкому спектру патогенных микроорганизмов. Результаты исследований показали наличие антагонистической и антибиотической активности исследуемых микроорганизмов. По мнению многих авторов, антибиотическая активность рассматриваемых групп микроорганизмов обусловлена продуцированием ими веществ пептидной природы. Полагаем, что исследования в области получения и применения белков малой молекулярной массы, синтезируемых пробиотическими бактериями, которые выполняют в организме человека защитную функцию на протяжении всей жизни, представляют научный и практический интерес.

BIOPOTENTIAL OF LOW MASS PEPTIDES OF PROBIOTIC MICROORGANISMS FOR BIOPHARMACEUTICALS PREPARATIONS CREATION

Golovin M.A., Ganina V.I.
The Moscow State University of Food Productions,
department «Technology of milk and dairy products»
109316, Moscow, Talalihina str., 33

A many pharmaceuticals possess positive effect, side effects besides, during medical treatment application. It arouses interest in creation pharmaceuticals creation, with minimal side effects, but with more effective and purposeful action. There are few reports about low molecular mass peptides, possessing similar desired characteristics. This area researches are evidence of ability of peptides preparations to protein synthesis normalizing in tissue culture, and also take part in intracellular interaction regulation and immune system stimulating.

At the present time are probiotic microorganisms begin to be considered as a source of oligopeptides. The extracellular peptides of probiotic microorganisms' research have fundamental scientific interest too, because it can open way to more full understanding of interactions mechanisms between probiotic microorganisms and human organisms.

There was carried out a screening of different species of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* to broad pathogens spectrum in the department «Technology of milk and dairy products» of The Moscow State University of Food Production. The research results have showed a presence of antagonistic and antibiotic activity of testing strains. According to many authors opinion, the antibiotic activity of the testing microorganisms' group can be caused by production peptide nature substances. It is supposed, that there is scientific and practice interest to research in the field of recovery and application of low molecular mass protein synthesizing by probiotic bacteria, which defense human organism during all our life.

ОЗОНИРОВАННАЯ КРОВЬ КАК ЭФФЕКТИВНЫЙ НОВЫЙ БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ПРЕПАРАТ

Гриневич Т.В[1]., Зайцев В.Я[2]., Коровина Г.В[1]., Разумовский С.Д[3].
[1]*ФГБНУ Институт химической физики Российской академии наук им. Н.Н. Семенова, Москва, ул. Косыгина, 4;*
[2]*ООО «Медозон»,*
Москва, ул. Профсоюзная, д.113, к.3, оф. 425;
[3]*ФГБНУ Институт биохимической физики Российской академии наук им. Н.М. Эмануэля,*
Москва, ул. Косыгина, 4

Современные достижения биофармацевтики направлены, главным образом, на создание узконаправленных средств борьбы с болезнями человека и животных, методы лечения которых еще недостаточно эффективны. Препараты, существенно облегчающие жизнь пожилого или недостаточно здорового человека, привлекают меньшее внимание и соответственно хуже финансируются. Настоящее сообщение имеет целью привлечь внимание к проблемам более широкого использования озонированной крови (ОК) как эффективного нового биофармацевтического препарата широкого спектра действия. Практика показала, что применение ОК позволяет быстро снимать симптомы усталости, активировать процессы обмена, лечить трофические язвы, артриты, весьма благоприятно сказывается на течении многих других заболеваний при комплексном лечении. Технология лечения с помощью ОК достаточно проста и доступна: 15 – 50 мл крови пациента обрабатывают озонированным кислородом и возвращают

ему обратно внутривенно. Упомянутые положительные эффекты действия ОК требуют более детального научного исследования как состава ОК, так и путей взаимодействия с озонированных компонентов ОК с системами организма. Нами были изучены динамика транспорта озона из газовой среды в жидкую кровь, найдены условия, предупреждающие или сильно замедляющие пенообразование и гемолиз эритроцитов, разработаны методы исследования кинетики взаимодействия озона с форменными элементами крови, сделаны предположения о природе продуктов реакции, отвечающих за полезную биохимическую активность препарата. Сумма экспериментальных наблюдений и оценок позволяет считать наиболее активными продуктами триоксоланы непредельных кислот и их эфиров, составляющих заметную часть органического материала крови.

OZONATED BLOOD AS AN EFFECTIVE NEW BIOPHARMACEVTIC REMEDY

Grinevich T.V[1]., Zaitsev V. Ya.[2], Korovina G.V.[1], Razumovskii S.D.[3]
[1]*Institute of Chemical Physics Russian Academy of Science,*
Moscow, ul. Kosigina, 4;
[2]*OOO "Medozone",*
Moskow, Profsojuznaja ul., 113, bld,3, apt, 425;
[3]*Institute of Biochemical Physics Russian Academy of Science,*
Moscow, ul. Kosigina, 4;

The modern biopharmaceutical achievements devoted mostly to narrow oriented remedies for struggles with people and animal illness what methods of treatment are not effective enough. Drugs essentially relieve the life of old or insufficient healthy person attract scientifically less attention and accordingly worse financial. This communication have purpose to attract attention to the problem more wide using of ozonated blood (OB) as a new effective biopharmaceutical remedy with wide spectrum of action. Practice have showed that using OB allow one fast remove some symptoms of being tired, activate metabolism, cure arthritis, trophy ulcer. OB applications showed very positive influence in processes complex treatment of many other illness. Technique of cure with OB simple and accessible: 15 – 50 ml of patient blood one treat by ozonated oxygen and return it back intravenous. Mentioned positive effects of OB actions need in more detailed scientific investigation both as a composition OB and ways interaction of ozonated components OB with the organism systems. We have studied the ozone transport dynamics from gas mixture to liquid blood, found conditions preventing or strong decreasing foam formation, made research methods of ozone interaction with blood constituents kinetics. It allow us to made a supposition on the nature of products, responsible for useful biochemical activity of OB. The sum of experimental observations and evaluations lead us to conclusion that moistly active in our case are trioxolanes of unsaturated fatty acids and its ethers, what constituted noticeable part of blood organic matter.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МЕЖГЕННЫХ, ИНТРОННЫХ И ЭКЗОННЫХ MIRNA С MRNA ГЕНОВ УЧАСТВУЮЩИХ В ОНКОГЕНЕЗЕ

Исабекова А.С., Берилло О.А., Хайленко В.А., Иващенко А.Т.
Казахский национальный университет имени аль-Фараби,
пр. аль-Фараби 71, Алматы, 050040, Казахстан

В работе решались следующие задачи: а) выявить особенности взаимодействия miRNA с различными участками mRNA; б) установить отличия miRNA по способности связываться

с разными mRNA; в) выявить особенности взаимодействия нуклеотидов при образовании комплексов miRNA с mRNA.

54 mRNA онкогенов человека были изучены. Сродство ig-miRNA, in-miRNA и ex-miRNA к 5'UTR, CDS и 3'UTR mRNA оценивали для каждого из этих участков с достоверностью $p<0,0005$. 47 из 54 mRNA действуют только на 105 miRNA, имеющих 156 сайтов связывания с этими mRNA. Семь mRNA (*ABCB1*, *MSH2*, *MSH3*, *MYC*, *PROM1*, *SNAI1*, *TNFSF10*) не имеют сайтов связывания с ig-miRNA. Ig-miRNA имели от 1 до 11 сайтов связывания в mRNA генов-мишеней. Из mRNA 54 генов только 46 mRNA имеют сайты связывания с in-miRNA и восемь mRNA (*ABCB1*, *ABCG2*, *ADAM29*, *BAX*, *MLH1*, *MLH3*, *PROM1*, *TNFSF10*) не имеют сайтов связывания. Только 130 из 686 in-miRNA действуют на 46 mRNA. in-miRNA имеют от 1 до 8 сайтов связывания в mRNA генов-мишеней. 15 из 54 mRNA-мишеней имеют сайты связывания с ex-miRNA. Только 11 из 49 ex-miRNA действуют на mRNA 15 генов. Нет достоверной связи между длиной mRNA изученных генов и числом сайтов связывания с ig-miRNA, in-miRNA и ex-miRNA. Средняя плотность связывания ig-miRNA в 5'UTR больше в 4,4 раза, чем в CDS и больше в 4,1 раза, чем в 3'UTR. Средняя плотность связывания in-miRNA в 5'UTR выше в 3,8 раза, чем в CDS и больше в 3,0 раза, чем в 3'UTR. Средняя плотность связывания ex-miRNA в 5'UTR больше в 10,3 раза, чем в CDS и больше в 5,5 раза, чем в 3'UTR. Высокая плотность сайтов связывания miRNA с mRNA свидетельствует о важной роли их в регуляции экспрессии генов. Определено три типа взаимодействия по вкладу в энергию взаимодействия участков miRNA среди сайтов связывания ig-miRNA, in-miRNA и ex-miRNA с mRNA: 1) вклад 5'-участка miRNA доминирует; 2) вклад 3'-участка miRNA доминирует; 3) вклад центрального участка miRNA доминирует.

DESCRIPTIONS OF INTERACTIONS OF INTERGENIC, INTRONIC AND EXONIC MIRNAS WITH MRNAS GENES INVOLVING IN CARCINOGENESIS

Issabekova A.S., Berillo O.A., Khailenko V.A., Ivachshenko A.T.
Al-Farabi Kazakh National University,
av. Al-Farabi 71, Almaty, 050040, Kazakhstan

The following problems were to be solved in this work: a) to reveal interaction features of miRNAs with various mRNA sites; b) to establish distinction of miRNA ability to bind to mRNAs; c) to determine interaction features of nucleotide in formation of miRNA-mRNA complexes.

Fifty four mRNAs human oncogenes were studied. The affinity of 784 ig-miRNAs, 686 in-miRNAs and 49 ex-miRNAs to 5'UTR, CDS and 3'UTR of mRNAs were estimated with significance of $p<0.0005$ for each binding site. Forty seven of 54 mRNAs interact with ig-miRNAs and only 105 miRNAs have 156 binding sites with these mRNAs. Seven mRNAs (*ABCB1, MSH2, MSH3, MYC, PROM1, SNAI1, TNFSF10* genes) have no binding sites with ig-miRNAs. Ig-miRNAs have from one to eleven binding sites in target mRNAs. From mRNAs of 54 genes only 46 mRNAs have binding sites with in-miRNAs and eight mRNAs (*ABCB1, ABCG2, ADAM29, BAX, MLH1, MLH3, PROM1, TNFSF10* genes) have no binding sites. Only 130 out of 686 in-miRNAs affect 46 mRNAs. In-miRNAs have from one to eight binding sites in mRNAs. Fifteen out of 54 target mRNAs have binding sites with ex-miRNAs. Only eleven out of 49 ex-miRNAs interact with fifteen mRNAs. There is no significant relation between length of studied mRNAs and number of ig-miRNA, in-miRNA and ex-miRNA binding sites.

The average density of ig-miRNA binding site in 5'UTR is 4.4 times more than in CDS and 4.1 times more than in 3'UTR. The average density of in-miRNA binding site in 5'UTR is 3.8 times more than in CDS and 3.0 times more than in 3'UTR. The average density of ex-miRNA binding sites in

5'UTR is 10.3 times more than in CDS and 5.5 times more than in 3'UTR. The high density of miRNA binding sites demonstrates their important role in regulation of gene expression.

There are three types of contribution to interaction energy among binding sites of ig-miRNAs, in-miRNAs and ex-miRNAs with mRNAs: 1) the contribution of 5'-part of miRNA dominates; 2) the contribution of 3'-part of miRNA dominates; 3) the contribution of the central part of miRNA dominates.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ НЕКОТОРЫХ СЕМЕЙСТВ MIRNA С MRNA ГЕНОВ ARABIDOPSIS THALIANA

Бари А.А., Хайленко В.А., Оразова С.Б., Иващенко А.Т.
Казахский национальный университет им. аль-Фараби,
пр. аль-Фараби 71, Алматы, 050040, Казахстан

Изучение характеристик взаимодействия miRNA нескольких семейств с mRNA 4122 генов хромосомы 4 показало, что только 137 генов являются мишенями для этих miRNA. miR156a-f, miR156g, miR159c, miR166a-g, miR167c, miR171b-c, miR393a-b и miR398a имеют только по одному гену-мишени. miR156h, miR157a-c и miR157d имеют один сайт связывания в позиции 243 н. CDS mRNA гена AT4G31050. miR159a и miR159b имеют одинаковые сайты связывания в mRNA шести генов, и miR159b имеет сайт в mRNA гена AT4G17070. miR159c имеет сайт связывания только в mRNA AT4G39850 - общего гена-мишени для этих трех miRNA. Из трех генов-мишеней miR171a имеется только один, который является мишенью для miR171b-c. Для miR172a-b, miR172c-d и miR172e являются общими гены-мишени AT4G24630 и AT4G29430. Для miR396a и miR396b три гена-мишени являются общими, и miR396b имеет дополнительно семь mRNA-мишеней. Число генов-мишеней в хромосоме 4 для miR414 равно 98. Она имеет в mRNA некоторых генов более одного сайта связывания. Например, в mRNA генов AT4G02220, AT4G26600, AT4G27310, AT4G31420 и AT4G31610 есть по два сайта связывания miR414, а в mRNA гена AT4G16960 miR414 связывается в трех сайтах. Нуклеотидный полиморфизм miRNA может сильно влиять на их регулирующую способность. Из общего числа сайтов связывания изученных miRNA в 5'UTR, CDS и 3'UTR находятся соответственно 8,6%, 63,0% и 28,4% сайтов. Следовательно, программы поиска сайтов связывания miRNA с mRNA только в 3'UTR выявляют менее трети общего числа сайтов. Приведенные данные о свойствах сайтов взаимодействия miRNA с mRNA показывают, что основной вклад в энергию взаимодействия могут вносить 5'-, 3'- и центральные участки miRNA. Проведенный в работе анализ функции изученных генов-мишеней для miRNA показал, что значительная их часть кодирует: транскрипционные факторы, ферменты репарации DNA, белки, участвующие в убиквитинировании, белки семейства цинк-фингер и ферменты, участвующие в ответе на стресс.

THE CHARACTERISTICS OF INTERACTION SOME MIRNA FAMILIES WITH MRNAS OF *ARABIDOPSIS THALIANA* GENES

Bari A.A., Khailenko V.A., Orazova S.B., Ivachshenko A.T.
al-Farabi Kazakh National University,
av. Al-Farabi 71, Almaty, 050040, Kazakhstan

As a result of studying characteristics of interaction of several miRNA families with mRNAs of 4122 genes of chromosome 4 it was revealed that only 137 genes are targets for these miRNAs. Each of miR156a-f, miR156g, miR159c, miR166a-g, miR167c, miR171b-c, miR393a-b and miR398a has

only one target gene. miR156h, miR157a-c and miR157d have one binding site at position 243 nt CDS mRNA of AT4G31050 gene. miR159a and miR159b have the same binding site in mRNA of six genes and miR159b has one more site in mRNA of AT4G17070 gene. miR159c has a binding site only in mRNA of AT4G39850 which is the common target gene for these three miRNAs. Only one of three target genes for miR171a is the target for miR171b-c. There are two common target genes (AT4G24630 and AT4G29430) for miR172a-b, miR172c-d and miR172e. miR396a and miR396b have three common target genes, and miR396b has additional seven target genes. The number of target genes for miR414 in chromosome 4 equals to 98. In mRNAs of several genes there are more than one binding site for miR414. For example, miR414 has two binding sites in mRNAs of AT4G02220, AT4G26600, AT4G27310, AT4G31420 and AT4G31610 genes, and it also has three sites in mRNA of AT4G16960 gene. miRNA's nucleotide polymorphism can strongly influence their regulatory ability. There are miRNA binding sites in the 5'UTR, CDS and 3'UTR (respectively 8.6, 63.0 and 28.4%). Consequently, miRNA-mRNA binding sites search programs reveal in the 3'UTR less than a third of total sites number in mRNA. The properties of miRNA-mRNA interaction sites show that the main contribution to the interaction energy can introduce the 5'-, 3'- and central parts of miRNA. The analysis of miRNA target genes functions showed that a significant part of them encodes: transcription factors, DNA repair enzymes, proteins involved in ubiquitination, proteins of zinc-finger family and the enzymes involving in stress response.

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ГРИБОВ РОДА *TRICHODERMA* В ОТНОШЕНИИ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ

Катруха Г.С.[1], **Федорова Г.Б.**[1] , **Садыкова В.С.**[2]
[1]*ФГБУ «НИИНА РАМН»,*
119021, Москва, Б. Пироговская, д. 11, стр. 1
[2]*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,*
119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, МГУ, д. 1, стр. 12.
E-mail: sadykova_09@mail.ru

По сведению ряда авторов грибы рода *Trichoderma* являются продуцентами спектра антибиотиков, обладающих высокой активностью в отношении грамположительных бактерий. Среди них: трихоконин, выделенный из *T. koningii,* известный широким спектром действия в отношении бактерий разных таксономических групп, в том числе оказывающий бактериостатический эффект на *S. aureus* в низких концентрациях. Триходермол, в концентрации 50 мг/мл полностью подавляющий развитие *B. subtilis* и *St. aureus*. Однако потенциал этих грибов как продуцентов антибиотиков, способных оказывать антимикробное действие в отношении болезнетворных бактерий, практически не изучен. В этой связи могут представлять особый интерес, так как являются потенциальным биологическим ресурсом для получения новых антибиотиков.

Наши исследования были посвящены оценке антибактериального действия метаболитов различных видов рода *Trichoderma* на бактерии видов: *B. subtilis*, *St. aureus, St. haemoliticus*. Первичный скрининг по показателю антибактериальной активности методом диффузии в агар был проведен для 42 штаммов *Trichoderma*. Как показали исследования, большинство штаммов имело низкую активность в отношении тест-организмов или проявляло активность в отношении одного из отобранных тест-объектов. Однако, были выявлены и активные в отношении всех тест-оганизмов культуры. Так, для штамма *T. harzianum* М–99/5 диаметр подавления *B. subtilis, St. aureus*, *St. haemoliticus* составил 35, 30, 30 и 40 мм соответственно. В результате первичного скрининга было отобрано два активных штамма: *T. harzianum* М–99/5 и *T. asperellum* — MG-6.

Разработаны экстракционные и хроматографические методы выделения биологически активных веществ из культуральной жидкости, нативного раствора и мицелия штаммов-продуцентов М–99/5 и MG-6, и изучены биологические и физико-химические свойства наиболее активных компонентов.

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF *TRICHODERMA* SPECIES TOWARDS GRAM-POSITIVE BACTERIA

Katrukha G.S.[1], **Fedorova G.B.**[1], **Sadykova V.S.**[2]
[1]*Gause Institute of New Antibiotics Russian Academy of Medical Sciences;*
119021 Moscow, Bolshaya Pirogovskaya str., 11.
[2]*M.V. Lomonosov Moscow State University,*
119991, Moscow, Leninskie Gory 1, Building 12.
E-mail: sadykova_09@mail.ru

Species Trichoderma are known to produce a diverse secondary metabolites with ample spectrum of activity antimicrobial, which present varied effect on fungi and bacteria of medical interest. Trichokonins from *T. koningii* acts also as an antimicrobial agent (Wu et al., 2006; Huang et al., 2006) and exhibits a remarkable bacteriostatic effect on Gram-positive bacteria, especially towards *S. aureus* (Chukwujekwu et al., 2006). Another compound exhibiting antibacterial activity is trichodermaol, proving active at 50 μg/ml on *Bacillus subtilis* and *Streptococcus aureus* (Adachi et al., 1983). However potential of *Trichoderma* fungi as producers of metabolites with strong antimicrobial activity towards Gram-positive bacteria are little investigated.

Our research has focused on the evaluation the antimicrobial activity of metabolites end extracts from spores and mycelium different *Trichoderma* species on Gram-positive bacteria: *B. subtilis*, *St.aureus, St. haemoliticus*. Initial selection of active compounds was investigated on 42 strains of different *Trichoderma* species. Most of strains have been shown the absence of the activity or the inhibition at least one of tested microorganisms. However the culture of *T. harzianum* M–99/5 inhibited the growth of *B. subtilis, St.aureus*, *St. haemoliticus* with halos of 35mm of diameter, 30mm and 40mm respectively. As a result of a primary activity of metabolites against bacteria using the method of the diffusion in agar it has been selected 2 active strains, belong to *T. asperellum* — MG-6 and *T. harzianum* M–99/5.The chemical structure of metabolites and extracts of mycelium have been studied of and the physical and chemical properties of active compounds have been investigated.

МОДИФИКАЦИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ДЕЙСТВИЯ ЦИТОСТАТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ СОПОЛИМЕРАМИ N-ВИНИЛПИРРОЛИДОНА И 2-МЕТИЛ-5-ВИНИЛПИРИДИНА

Кедик С.А., Панов А.В., Кочкина Ю.В., Еремин Д.В.
ЗАО «Институт фармацевтических технологий»
121353, г. Москва, Сколковское шоссе, д.21/32, стр.1

Одним из лимитирующих факторов в химиотерапии опухолей является индуцируемое цитостатическими препаратами повреждение иммунной системы. Его можно уменьшить путем включения различных модификаторов биологических реакций организма, в частности иммуномодуляторов, в схемы комбинированного лечения. Перспективными иммуномодуляторами являются сополимеры N-винилпирролидона и 2-метил-5-винилпиридина. Поэтому целью работы была оценка возможности использования таких сополимеров для повышения

противоопухолевой и противолейкозной активности цитостатических препаратов с различным механизмом действия.

Сополимер N-винилпирролидона с 2-метил-5-винилпиридином (M_η=24,2 кДа, содержание звеньев 2-метил-5-винилпиридина 35,1 мол.%) синтезировали радикальной сополимеризацией при постоянном соотношении мономеров в реакционной массе. В качестве цитостатиков использовались алкилирующие агенты циклофосфан и спиробромин, антиметаболиты метотрексат и фторурацил, а также противоопухолевый препарат антрациклинового ряда фарморубицин. Опыты проводили на 800 мышах различных пород и 24 белых беспородных крысах. Использованы штаммы опухолей – лимфолейкозы Р388 и L1210, плазмоцитома МОРС-406, опухоль Эрлиха, саркома Иенсена и карциносаркома Уокер.

Показано, что совместное введение сополимера N-винилпирролидона и 2-метил-5-винилпиридина и цитостатических препаратов мышам и крысам при оптимальных режимах комбинаций на различных моделях исследуемых опухолей повышает противоопухолевый эффект. Применение сополимера способствует увеличению продолжительности жизни животных, увеличению их массы тела, а также снижению токсичности и менее глубокому поражению кроветворной ткани цитостатиками. Обнаруженный эффект от воздействия сополимера представляется интересным для дальнейшего исследования.

PARAVARIATION OF CYTOSTATIC DRUGS ANTINEOPLASTIC ACTION BY THE COPOLYMERS OF N-VINYLPYRROLIDONE AND 2-METHYL-5-VINYLPYRIDINE

S.A. Kedik C, A.V. Panov, J.V. Kochkina, D.V. Eremin
CJSC «Institute of pharmaceutical technology»
121353, Moscow, Skolkovskoe str., d.21/32, str.1

One of the limiting factors in the tumors chemoterapy is the affection of the immune system because of cytostatic action of drugs. It may be reduced by including various modifiers of biological reactions of organisms, particularly immune adjuvants to combination therapy schemes. Copolymers of N-vinylpyrrolidone and 2-methyl-5-vinylpyridine are advanced immune adjuvants for the purpose. The objective of the study was the characterization of the copolymer ability to improve antitumour and antileukemia activity of cytostatic drugs with various mechanism of action.

Copolymer of N-vinylpyrrolidone and 2-methyl-5-vinylpyridine (M_η=24,2 kDa, 2-content of methyl-5-vinylpyridine units mol.%) were synthesized by radical copolymerization at constant monomers ratio in reaction mass. Alkylating agents cyclophosphan and spyrobromine, competitive antagonists methotrexat and phoruracyl, anthracycline anticancer drug pharmarubicin as cytostatic drugs were used. The experiments were fulfilled with 800 mice of various brood and 24 white rats of random bred. The various tumor stock cultures – lymphoplastic leukemia P388 and L1210, myeloid tumor MOPC-406, Ehrlich's tumor, Jensen sarcoma and Walker carcinoma were used under study.

Effective improvement in antineoplastic action after combination of N-vinylpyrrolidone and 2-methyl-5-vinylpyridine with cytostatic drugs to mice and rats with various implanted tumors was shown. The application of copolymer promotes both the increase of animal life expectancy and their body mass and the decrease of toxicity and blood-forming tissue affect of cytostatics. These results are interesting for further study of that copolymer.

ВЛИЯНИЕ БЫЧЬЕГО ЛАКТОФЕРРИНА НА РОСТ КЛЕТОК КОЖИ ЧЕЛОВЕКА

Комолова Г.С[1]., Ионова И.И[1], Воротеляк Е.А.[1], Титова М.Е.[2]
[1]*Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН*
119071, Москва, Ленинский проспект, 33
[2]*Московский государственный университет пищевых производств,*
109316, Москва, ул. Талалихина,33

Защитную функцию коровьего молока в значительной мере определяют сывороточные белки, среди которых особая роль принадлежит лактоферрину. Он обладает антимикробным, бифидогенным, антиоксидантным, противовоспалительным, иммунокорректирующим действием, является регулирующим фактором роста. В последние годы актуальным направлением, в связи с задачами хирургической трансплантологии, является поиск новых природных регуляторов роста клеток и тканей человека in vitro. В настоящей работе приведены результаты исследования влияния бЛФ на рост культивируемых клеток кожи человека: постнатальные фибробласты дермы и иммортализованные кератиноциты. Клетки кожи, полученные в ходе хирургических операций, хранили в замороженном виде. Культивировали в CO_2 инкубаторе при 37 °С в среде DMEM с добавлением 4мМ глутамина (Панэко) и 10% сыворотки плода коровы (РАА). Когда культура достигала конфлуентного слоя, клетки пассировали на 96-ти луночное плато. В опытах по изучению влияния на рост клеток бЛФ в культуральную среду не вносили РАА. Лактоферрин (Sigma) в концентрациях: 50, 100, 200 мкг/см^{3}вносили в лунки опытных образцов (в контрольные – культуральную среду). По истечению 4-х суток инкубации проводили МТТ-тест. Результаты исследования показали дозозависимую стимуляцию бЛФ роста фибробластов дермы человека на 20% ($p<0,05$) при дозе 200 мкг/см^3. Для кератиноцитов реакция на бЛФ оказалась противоположной проявляемой фибробластами. Четко проявлялось дозозависимое угнетение роста клеток. Эффект имел место уже при дозе бЛФ 50 мкг/см^3. При дозе 200 мкг/см^3 бЛФ снижал рост культуры почти в 2 раза. При внесении в культуру в стандартной концентрации (10%) РАА, эффект бЛФ нивелировался. Полученные в работе данные свидетельствуют о клеточной специфичности относительно ростовой реакции на бЛФ. Эффект может быть как со знаком плюс, так и минус, что, вероятно, отражает регулирующую функцию исследуемого белка.

Работа поддержана грантом РФФИ № 10-04-01005-а

EFFECT OF BONINE LACTOFERRIN ON THE GROWTH OF HUMAN SKIN CELLS

G.S. Komolova [1], I.I. Ionova [1], E.A. Vorotelyak[1], M.E. Titova[2]
[1]*Bach Institute of Biochemistry, Russian Academy of Sciences,*
33, Leninskii prospect, 119071 Moscow, Russia
[2]*Moscow State University of Food Production,*
33, Talalikhina, 109316 Moscow, Russia

Protective function of cow milk is largely determined by whey proteins, including the special role of lactoferrin. It possesses antimicrobial, bifidogenic, antioxidant, antiphlogistic, immunocorrective effect, also it is the regulating growth factor. Recently in connection with problems of transplant surgery the actual direction is finding new natural regulators of cell growth and human tissues in vitro. This article presents the results of the research the influence of bLF on growth cultivated human skin cells: postnatal fibroblasts of the dermis, and immortalized keratinocytes. Skin cells obtained during surgical operations were kept in frozen form. Cultivated in CO_2 incubator at 37 ° C in DMEM medium with addition of 4 mM glutamine (Paneco) and 10% fetal bovine serum (PAA).

When the culture reached the confluent layer, cells were passaged on 96-hole plateau. In experiments on bLF effect on cell growth in cultural medium PAA was not introduced. Lactoferrin (Sigma) at concentrations of 50, 100, 200 mkg/sm^3 was introduced into the wells of test samples (in the control - cultural medium). At the expiration of 4 days of incubation, MTT-test was performed. The results showed dose-dependent bLF stimulation of human dermis fibroblast growth by 20% ($p < 0.05$) at dose of 200 mkg/sm^3. For keratinocyte response to bLF was the opposite to the exhibited by fibroblasts. Dose-dependent inhibition of cell growth was clearly manifested. The effect occurred even at a dose of 50 bLF mkg/sm^3. At dose of 200 mkg/sm^3 bLF reduced the growth of culture almost 2 times. While including in a culture a standard concentration (10%) of PAA the effect of bLF was leveled. Materials received in the research indicate cell specificity referring to a growth response to bLF. The effect can be both the plus and minus, which probably reflects the regulatory function of the studied protein.

This work is supported by grant RFBR № 10-04-01005-a

ВЫБОР ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИИ МОЧЕПОЛОВОЙ СФЕРЫ

Козлова З.Г.

Учреждение Российской академии наук Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН,
119334, Москва, ул. Косыгина, д. 4

Одно из важнейших направлений фундаментальной науки – создание эффективных лекарственных средств нового поколения, требующее инновационных подходов. Однако новые технологии требуют больших капиталовложений и времени, поэтому воспользуемся теми лекарственными средствами, которые у нас есть сейчас, и выберем из них лучшие.

Недержание мочи (энурез) бывает у лиц всех возрастных категорий. 30% женщин страдают в той или иной форме недержанием мочи, т.е. неспособностью регулировать функцию мочевого пузыря. Этот вопрос можно попытаться решить: укрепляя стенки мочевого пузыря, уменьшая воспалительный процесс в мочевыводящих путях, укрепляя соединительные ткани.

Современная медицина использует антиоксиданты (АО) для улучшения здоровья человека и профилактики болезней. АО играют важную роль в регуляции протекания свободно-радикальных превращений в организме, существенно влияя на его состояние. Поэтому в последнее время получили широкое развитие исследования антиоксидантных свойств соединений. Наиболее распространенным источником АО считаются растительные объекты, на основе которых изготавливают лекарственные средства и БАД, ставшие объектом исследования.

За критерий оценки качества лекарственного препарата была взята антиоксидантная активность (АОА), т.е. концентрация природного АО в нем. Ее измеряли на модельной цепной реакции жидкофазного окисления углеводорода молекулярным кислородом.

Были исследованы следующие лекарственные препараты и БАД для лечения заболеваний мочевыделительной системы (цистита, энуреза, мочекаменной болезни): Цистон (Индия), Спазмекс (Германия), Уротрактин (Италия), Уролизин (Россия), Тонурол (Россия), Промена (США), Контринол (США), Блемарен (Россия).

Результат анализа показал, что АОА находится в интервале значений (3.9 – 9.6) $\cdot 10^{-3}$М/кг, что коррелирует с ранее нами определенными значениями АО в ряде лекарственных растений. Это дает основание предполагать их положительное влияние при воздействии на организм человека.

Вышеназванные лекарственные препараты по величине АОА можно расположить в следующей последовательности: Цистон > Спазмекс > Уротрактин > Промена > Уролизин > Тонурол > Контринол > Блемарен.

SELECTION OF MEDICINAL PREPARATIONS FOR TREATING URINO-GENITAL ILLNESSES

Kozlova Z.G.
Emanuel Institute of Biochemical Physics of the Russian Academy of Sciences (RAS), 119334, 4 Kosygin St., Moscow

One of the most important fields of fundamental science is the creation of a new

generation of effective medicinal remedies, requiring innovative approaches. However, new technologies require large capital outlays and time, so that until then one has to select the best from those available at present.

There are people in all age groups who suffer from irretention of urine. Thirty percent of women suffer from this in one form or another, i.e. unable to regulate the functioning of the urinary bladder. This problem may be solved by strengthening the wall of the urinary bladder, decreasing the inflammatory process in the urinary tract and strengthening the connective tissue.

Modern medicine uses antioxidants (AO) to improve people's health and as a prophylaxis. AO play an important role in regulating the course of free-radical transformation in the organism, significantly affecting its condition. Therefore, in recent times, the antioxidant properties of various compounds are being widely studied. The most prevalent source of AO is considered to be vegetative objects on the basis of which medicinal preparation and BAAs are prepared.

As a criterion for evaluating the quality of a medicinal preparation, we took its antioxidant activity (AOA), i.e. concentration of natural AO in it, which was measured on a model chain reaction of liquid-phase oxidation of hydrogen by molecular oxygen.

The following are medicinal preparations and BAAs investigated for treating illnesses of the urinoelimination system (cystitis, enuresis and urine stones): Cyston (India), Spazmex (Germany), Urotractin (Italy), Promena (USA), Urolyzin (Russia), Tonurol (Anti-Enuresis) (Russia), Contrinol (USA), Blemaren (Russia).

Results of analysis show that AOA is in the interval of values $(3.9 – 9.6) \cdot 10^{-3}$ M/kg, which correlates with the values determined earlier for AO in medicinal plants. The close values of AO concentration between the studied preparations and medicinal plants gives basis for assuming their having a positive effect on the human organism. The above preparations can be placed in the following sequence of AOA content: Cyston > Spazmex >Urotractin> Promena > Urolysin > Tonurol > Contrinol > Blemaren.

ОБОСНОВАНИЕ СОСТАВА ЭНТЕРАЛЬНОЙ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЙ СМЕСИНА ОСНОВЕ «КОЛОСТРУМА»

Краснова И.С., Коробейникова Т.В.
Московский государственный университет пищевых производств, 109316, г. Москва, ул. Талалихина 33

Энтеральные иммуномодулирующие смеси (ЭИС)улучшают иммунологическую функцию организма, снижаютчастоту и выраженность инфекционных осложнений, стимулируют пролиферацию слизистого слоякишки, повышаютбарьерную функцию кишечной трубкиу больных в критических состояниях.

При критических состояниях в кишечной стенке, на фоне синдрома ишемии/реперфузии создаются условия для массивного выброса различных медиаторов воспалениями активизация механизмов окислительного стресса. В связи с нарушениями функциональной целостности кишечной стенки наблюдается транслокация бактерий в системный кровоток. В результате создаются условия для возникновения органной дисфункции, нарушения иммунного статуса. Все это способствует развитию различных инфекционных осложнений.

Наиболее известными иммуномодуляторами ЭИС являются глютамин, аргинин, омега-3 жирные кислоты, нуклеотиды и др. Критический анализ современной литературыпозволил рассматривать «колострум», как новый иммуномодулятор, за счет его способности стимулировать пролиферацию слизистого слоя кишки,повышать барьерную функцию кишечной трубки иснижатьокислительный стресс. В состав разрабатываемой ЭИС планируется вводить антиоксиданты (витаминА, Е, С, селен и цинк), которые защищают организм от окислительного стресса; условно-незаменимуюаминокислотутаурин (для больных получающих интенсивную терапию),улучшающую иммунологическую функцию организма и обладающую антиоксидантной активностью.Растворимые пищевые волокна в составе призваны увеличивать количество представителей нормальной микрофлоры, сорбировать токсические субстанции и уменьшать время контакта слизистой с токсинами.У всех исследуемых компонентов определены значения осмолярности, вязкости и pH.

EXPLANATION OF ENTERAL IMMUNONUTRITION ON THE BASIS OF “COLOSTRUM”

Krasnova I.S., Korobeinikova T.V.
Moscow State University of food Industry,
109316, Moscow, Talalikhinastr. 33.

Enteral immunonutritionimproves of immunological functions of the body, reduces the incidence and severity of infection, stimulates the proliferation of intestinal mucus layer, improves the barrier function of the intestinal lumen in patients in critical illness.

There are multiple releases of various inflammatory mediators in an intestinal ischemia / reperfusionand activation mechanisms of oxidative stress in the intestinal barrier damage incritically ill patients. It is observed bacterial translocation into the blood circulation.So it is formed conditions for the occurrence of organ dysfunction and failure immune status. All this factors promote for the development of infectious complications.

The most popular immunonutrientsare glutamine, arginine, omega-3 fatty acids, nucleotides, etc. The critical analysis of the modern literaturehas allowed to consider the “colostrum,” as a new immunomodulator through its ability to stimulate proliferation of intestinal mucus, to improve the barrier function of the intestinal lumen and reduce oxidative stress. In this product it is used antioxidants (vitamin A, E, C, selenium and zinc) that protect the body from oxidative stress;amino acid taurine (it is very important for critically ill patients) improves the immune function of the body and has antioxidant activity. Soluble dietary fibersare intended to increase the number of usefulmicroflora, to absorb toxic substances and to reduce the contact time with mucus toxins. It is defined the osmolality, viscosity and pH for all change components.

ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДОВ КОНТРОЛЯ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ХОЛЕРЫ И БЕШЕНСТВА

Лобовикова О.А., Шульгина И.В., Никифоров А.К., Павлова В.И., Бронникова В.С.
ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», 410005 г. Саратов, ул. Университетская, 46

Разработаны подходы к проведению валидации методов контроля качества полуфабрикатов и готовых форм иммуноглобулина антирабического из сыворотки крови лошади жидкого, и вакцины холерной бивалентной химической таблетированной производства ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора.

В ходе аттестации количественных методов контроля остаточных веществ (формальдегид, сульфат-ионы) в вакцине холерной были определены метрологические характеристики: линейность, диапазон определяемых величин, предел количественного определения и показатели точности (повторяемость, воспроизводимость и правильность). При исследовании показателей точности проведена статистическая оценка погрешности для трех диапазонов измерений (верхняя, нижняя граница и среднее значение).

Валидация физико-химических методов контроля (определение прозрачности, цветности иммуноглобулиновых препаратов; определение pH потенциометрическим методом) позволила установить стандартное отклонение и доверительный интервал в пределах диапазона измерений при изучении прецизионности.

Оценена пригодность поверхностного чашечного агарового метода для определения микробиологической чистоты вакцины холерной бивалентной химической таблетированной. При аттестации методики использовали 3 группы препаратов вакцины: заведомо стерильные образцы, искусственно обсемененные *Escherichia coli ATCC 25922* образцы и коммерческие серии. Анализ экспериментальных данных в зависимости от уровня обсемененности образцов показал, что стандартные отклонения удовлетворяли критериям приемлемости для биологических методик.

Таким образом, доказана эффективность используемых методов для контроля вышеперечисленных иммунобиологических лекарственных средств.

CONTROL METHODS VALIDATION OF IMMUNOBIOLOGICAL MEDICINES FOR CHOLERA AND RABIES PREVENTION

Lobovikova O.A., Shulgina I.V., Nikiforov A.K., Pavlova V.I., Bronnikova V.S.
Russian research antiplague institute «Microbe», 46, Universitetskaya st., Saratov, Russia, 410005

Approaches developed to the control methods validation of half-manufactured and finished forms of immunoglobulin antirabicum from the horse blood serum, and cholera bivalent chemical tablet vaccine, produced in Russian research antiplague institute «Microbe».

During quantitative methods validation for the residual substances control (formaldehyde, sulfate-ions) of cholera vaccine metrological characteristics have been identified: linearity, measured parameters range, quantification limit and precision indicators (repeatability, reproducibility and accuracy). Statistical error have been estimated for the three ranges of measurements (upper, medium and lower value) while precision indicators studing.

Physicochemical control methods validation (immunoglobulin transparency, immunoglobulin coloration; pH determination by potentiometry) made it possible to set the standard deviation and confidence interval in the time of precision study.

Superficial dish agar method suitability for microbiological purity definition of the cholera bivalent chemical tablet vaccine is estimated. At methodology validation used 3 3 drug groups vaccine: obviously sterile samples, artificially contaminated Escherichia coli ATCC 25922 samples and commercial series.

The analysis of experimental data depending from contaminations samples level showed that the standard deviations satisfied the eligibility criteria for biological techniques.

Thus, efficiency of used control methods above immunobiological medicines is proved.

РАЗРАБОТКА ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ ТЕСТОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ДЕВЯТНАДЦАТИ КЛАССОВ ПСИХОАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В МОЧЕ ЧЕЛОВЕКА

Морозова В.С.[1], **Мягкова М.А.**[1], **Морозов С.В.**[2], **Пушкина В.В.**[2]

[1]*Институт физиологически активных веществ РАН;*
142432, МО, Ногинский р-н, г. Черноголовка, Северный проезд, 1.

[2]*Московский научно-практический центр наркологии Департамента здравоохранения города Москвы,*
109390, г. Москва, ул. Люблинская, д. 37/1

В последние годы на нелегальном рынке появилось большое количество новых психоактивных веществ (ПАВ), употребляемых в немедицинских целях. В связи с этим необходимо расширение и совершенствование аналитических методик, направленных на диагностику употребления широкого спектра ПАВ и установление фактов передозировки лекарственными средствами. Наиболее удобным и недорогим методом скрининга ПАВ является иммунохроматографический анализ (ИХА) мочи.

В настоящем исследовании разработаны тест-системы ИХА наиболее известных классов ПАВ, употребляемых в немедицинских целях: опиатов, амфетамина, метамфетамина, каннабиноидов, кокаина, барбитуратов, бупренорфина, бензодиазепинов, экстази, метадона, метаквалона, оксикодона, фенциклидина, пропоксифена, фентанила, трициклических антидепрессантов, трамадола, кетамина, котинина, в моче человека. Наработаны необходимые иммунореагенты: синтезированы конъюгированные антигены исследуемых веществ с белком-носителем; получены конъюгаты моноклональных антител, специфичных к указанным антигенам, с коллоидным золотом. Проведена отработка технологических стадий ИХА. В результате созданы иммунохроматографические тест-системы с пределом обнаружения ПАВ в моче: 200 нг/мл (опиаты), 300 нг/мл (амфетамин), 50 нг/мл (каннабиноиды), 150 нг/мл (кокаин), 300 нг/мл (барбитураты), 10 нг/мл (бупренорфин), 200 нг/мл (бензодиазепины), 1000 нг/мл (кетамин), 500 нг/мл (экстази), 300 нг/мл (метамфетамин), 300 нг/мл (метадон), 300 нг/мл (метаквалон), 100 нг/мл (оксикодон), 25 нг/мл (фенциклидин), 300 нг/мл (пропоксифен), 20 нг/мл (фентанил), 1000 нг/мл (трициклические антидепрессанты), 100 нг/мл (трамадол), 200 нг/мл (котинин). Разработанные тест-системы имеют широкую область применения при социально-гигиеническом мониторинге населения, выявлении передозировок лекарственными средствами, определении профпригодности в ряде профессий.

DEVELOPMENT OF IMMUNOCHROMATOGRAPHIC TESTS FOR THE DETECTION OF NINETEEN GROUPS OF PSYCHOACTIVE SUBSTANCES IN HUMAN URINE

Morozova V.S.[1], **Myagkova M.A.,**[1] **Morozov S.V.**[2], **Pushkina V.V.**[2]
[1]*Russian Academy of Science Institute for Physiologically Active Compounds,*
142432, Moscow region, Noginskii area, Chernogolovka, Severnii proezd, 1.
[2]*Moscow Research and Practical Center for Narcology of Moscow Health Department*
109390, Russia, Moscow, Lublinskaya 37/1

One of the most acute problems nowadays is to prevent the spread of non-medical use of psychoactive substances (PAS), including improvement of diagnostic methods for their use and overdose facts reveal. In recent years, a large number of new PAS appeared in the illegal market, and therefore the extension and improvement of analytical methods of these substances detection are required. The most convenient and inexpensive screening method for PAS detection is immunochromatographic assay (IHA) of urine.

In the present study IHA test systems were developed for all known classes of PAS detection being used for non-medical purposes: opiates, amphetamine, methamphetamine, cannabis, cocaine, barbiturates, buprenorphine, benzodiazepines, ecstasy, methadone, methaqualone, oxycodone, phencyclidine, propoxyphene, fentanyl, tricyclic antidepressants, tramadol, ketamine, cotinine. All the necessary immunoreagents were obtained: conjugated antigens of PAS with carrier proteins were synthesized, conjugates of monoclonal antibodies specific to the antigens with colloidal gold were obtained. All technology steps of IHA were optimized. As a result, immunoassay systems were developed with a detection limit of PAS in the urine of 200 ng/ml (opiates), 300 ng/ml (amphetamine), 50 ng/ml (cannabinoids), 150 ng/ml (cocaine), 300 ng/ml (barbiturates), 10 ng/ml (buprenorphine), 200 ng/ml (benzodiazepines), 1000 ng/ml (ketamine), 500 ng/ml (ecstasy), 300 ng/ml (methamphetamine), 300 ng/ml (methadone), 300 ng/ml (methaqualone), 100 ng/ml (oxycodone), 25 ng/ml (phencyclidine), 300 ng/ml (propoxyphene), 20 ng/ml (fentanyl), 1000 ng/ml (tricyclic antidepressants) 100 ng/ml (tramadol), 200 ng/ml (cotinine). The developed test systems have a wide application field for social hygienic population monitoring, drug overdoses reveal, professional appropriateness assessment in a number of professions.

НОВАЯ ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ СУБСТАНЦИИ *FUSARIUM SAMBUCINUM*

Неманова Е.О., Русинова Т.В., Горшина Е.С., Бирюков В.В.
МГУ инженерной экологии,
Москва, 105066, Ст. Басманная, 21/4,
e-mail: neo_kate@inbox.ru

Успехи современной биотехнологии позволили расширить спектр биофармацевтических препаратов и пищевых добавок на основе монокультур различных продуцентов, особое место среди которых занимают грибные штаммы. Одним из наиболее перспективных объектов биотехнологии в настоящее время является нетоксичный штамм *Fusarium sambucinum* D-002, субстанция которого обладает рядом различных фармацевтических свойств (не раздражает слизистые желудочно-кишечного тракта, ускоряет их заживление при воспалительных процессах, нормализует липидный обмен в организме, способствует восстановлению нормальной микрофлоры при дисбактериозах, улучшает состояние при пищевых аллергозах, способствует снижению уровня свободных радикалов при стрессах и повышению гемоглобина при железодефицитной анемии) и может быть отнесена к категории продуктов здорового питания.

Целью данной работы являлась разработка новой промышленной технологии производства пищевой биомассы штамма *Fusarium sambucinum* D-002.

В результате экспериментальных исследований изучено использование различного углеродсодержащего сырья в качестве субстратов и установлена возможность их взаимной замены. Применение предварительного гидролиза углеродного субстрата и оптимизация состава питательной среды методами математического планирования эксперимента, а также определение оптимальных технологических параметров позволили интенсифицировать основную стадию производства (стадию культивирования) и, с учетом гидродинамических и массообменных характеристик процесса, обеспечить продуктивность культуры более $1г \cdot л^{-1} \cdot ч^{-1}$.

Таким образом, разработана новая промышленная технология получения фармацевтической субстанции *Fusarium sambucinum*, востребованной на современном рынке в качестве белковой пищевой добавки.

A NEW PRODUCTION TECHNOLOGY OF PHARMACEUTICAL SUBSTANCE OF THE STRAIN *FUSARIUM SAMBUCINUM*

E.O. Nemanova, T.V.Rusinova, E.S. Gorshina, V.V. Biryukov
Moscow State University of Engineering Ecology,
21/4, Staraya Basmannaya str.,
Moscow, 105066, Russia, E-mail: neo_kate@inbox.ru

The progress of modern biotechnology has allowed increasing the range of biopharmaceutical preparations and food additives on the base of monocultures of different producers, and fungal strains rank high among them. Nowadays one of the most perspective objects of biotechnology is the non-toxic strain Fusarium sambucinum D-002, and it's substance possesses a number of pharmaceutical properties (doesn't irritate mucous membranes of gastrointestinal tract, accelerates it's repair in the case of inflammatory processes, normalizes lipid metabolism of the human body, helps to regenerate the normal microflora in the case of dysbacteriosis, improves the state in the case of food allergosis, reduces the level of free radicals in the case of stress and raises the level of haemoglobin in the case of iron deficiency anemia) and should be classified as a healthy food product.

The aim of the research was to develop a new industrial production technology of food biomass of the strain *Fusarium sambucinum* D-002.

As a result of the trials, the use of different carbon sources was studied and the possibility of it's cross changing was established. The application of preliminary hydrolysis of carbon sources and optimization of the growth medium composition by mathematical design methods, and the determination of optimal technological parameters allowed the main production stage (the cultivation stage) to be intensified and, in a view of hydrodynamic and mass-transfer properties, the biomass productivity to be ensured more than 1 g^{DW} per hour.

Thus, the new industrial production technology of pharmaceutical substance of the strain *Fusarium sambucinum* D-002, which is in demand as a food additive in the modern market, has been developed.

ПРИРОДНЫЕ ПЕПТИДНЫЕ АНТИБИОТИКИ И ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА ИХ ОСНОВЕ

Овчинникова Т.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова Росийской академии наук
117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10; ovch@ibch.ru

Стремительный рост числа антибиотикорезистентных возбудителей инфекционных заболеваний диктует необходимость поиска принципиально новых лекарственных средств. Эндогенные антимикробные пептиды (АМП) – эволюционно древние факторы врожденного иммунитета, играющие ключевую роль в защите растений и животных от инфекции. Эффективные механизмы защиты от патогенов вырабатывались многоклеточными организмами в процессе их эволюции. Лимфоцитарный иммунитет в 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 часы взаимодействия с патогеном вынуждены полагаться на врожденные механизмы противоинфекционной защиты. У беспозвоночных, не имеющих лимфоцитарного иммунитета, роль защитных пептидов прослеживается особенно наглядно. Поиск и исследование новых природных АМП позволит лучше понять закономерности функционирования системы врожденного иммунитета.

Наряду со способностью инактивировать широкий спектр патогенных микроорганизмов, в том числе бактерий, грибков, простейших, оболочечных вирусов, АМП обладают различными видами биологической активности в отношении собственных клеток организма, в том числе иммунокомпетентных, что позволяет отнести их к числу эндогенных иммуномодуляторов. АМП как молекулярные факторы системы врожденного иммунитета являются медиаторами фагоцитарных, воспалительных и стрессорных процессов. Выявление многообразных биологических функций эндогенных АМП показывает, что эти природные антибиотики обладают и являются перспективными молекулами для создания лекарственных средств нового поколения. Учитывая сочетание антибиотической и иммуномодулирующей активности у природных пептидных антибиотиков, многие фармацевтические компании, в том числе в США, Канаде, Франции, Нидерландах и др., приступили к созданию нового класса противоинфекицонных средств на их основе. Клинические испытания проходят 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 природные пептидные антибиотики бактериального, грибкового, растительного и животного происхождения, в том числе из бактерий *Bacillus licheniformis* и *Brevibacillus laterosporus,* грибов *Emericellopsis salmocynnemata* и *Emericellopsis minima,* чечевицы *Lens culinaris,* укропа *Anethum graveolens,* морского червя *Arenicola marina,* медузы *Aurelia aurita*, осетра *Acipencer 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).

NATURAL PEPTIDE ANTIBIOTICS AND THEIR THERAPEUTIC POTENTIAL AS ANTI-INFECTIVE DRUGS

T.V. Ovchinnikova

Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Miklukho-Maklaya 16/10, 117997 Moscow, Russia; ovch@ibch.ru

Antibiotic resistance is increasing at a rate that far exceeds the pace of new drugs development. The rapidly increasing incidence of multidrug-resistant infections creates an urgent need for alternative strategies to treat them. Naturally occurring peptide antibiotics are a promising class of therapeutics to overcome the increasing resistance of pathogens to existing antibiotics. 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 possess a broad spectrum of antimicrobial activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria, fungi, protozoa, and enveloped viruses. In recent years potent immunomodulatory properties of AMP have been characterised and suggested to be an important part of their biological function. An in-depth understanding of the physiological roles and mechanisms of AMP action is crucial for the development of new anti-infectives for therapeutic applications.

Our current research focuses on isolation, structure-function studies, investigation of action mode, and biotechnological production of AMP from the bacteria *Bacillus licheniformis* and *Brevibacillus laterosporus,* the fungi *Emericellopsis salmocynnemata* and *Emericellopsis minima*, the lentil *Lens culinaris,* the dill *Anethum graveolens,* the jellyfish *Aurelia aurita*, the lugworm *Arenicola marina*, the sturgeon *Acipencer guldenstadti,* the turtle *Emys orbicularis,* the frog *Bufo bufo gargarisans,* and others. Natural peptide antibiotics 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” (the project NK-602P/19, state contract P1159).

ИЗУЧЕНИЕ КИНЕТИКИ ВЫСВОБОЖДЕНИЯ НАЛТРЕКСОНА ИЗ МИКРОСФЕР НА ОСНОВЕ СОПОЛИМЕРА МОЛОЧНОЙ И ГЛИКОЛЕВОЙ КИСЛОТ

Петрова Е.А., Кедик С.А., Тихонова Н.В., Сапельников М.Д., Блынская Е.В., Панов А.В.

ЗАО «Институт фармацевтических технологий»,
121353, г. Москва, Сколковское шоссе, д.21/32,стр.1;
119571. г. Москва, проспект Вернадского, 86

Налтрексон блокирует фармакологический эффект экзогенных опиатов посредством конкурентного связывания с опиатными рецепторами. Получение препаратов-депо налтрексона является перспективным направлением для лечения наркомании и алкоголизма. Введение в состав микросфер биодеструктируемых полимеров, позволяет варьировать время высвобождения от нескольких минут до нескольких месяцев.

Результаты: В качестве носителей налтрексона использовали микросферы, полученные с использованием поли(D,L-лактид-ко-гликолида) методом эмульгирования. Средний размер микросфер составил 50 мкм. Тест на высвобождение проводился in vitro в среде близкой по параметрам к крови (pH = 7.4; осмоляльность = 250 – 290 мОсм, t° = 37°C). Получены данные для пяти разных серий образцов. Точки отбора проб: 1, 7, 14 и 28 день. Данные по кинетике высвобождения представлены в таблице 1 (значение S_x должно составлять не более 0,05).

Таблица 1 - Количество налтрексона, перешедшего в среду высвобождения за определенный период времени (Δt), в процентах от заявленного количества

образец из серии №	1	2	3	4	5	Среднее	S	S_x
1-й день	2,84	2,82	2,87	2,85	2,86	2,85	0,019	0,0086
7-й день	28,55	28,60	28,51	28,53	28,62	28,56	0,047	0,0233
14-й день	42,11	42,22	42,18	42,20	42,15	42,17	0,043	0,0194
28-й день	79,95	79,82	79,86	79,99	79,87	79,90	0,069	0,0312

Вывод: Пролонгация высвобождения налтрексона из микросфер достигает 28 дней. Процент высвободившегося налтрексона в различные временные точки составил: 1-ый день 2,85%±0,04, 7-ой день 28,56%±0,10, 14-ый день 42,17%±0,09, 28-ой день 79,90%±0,15.

THE INVESTIGATION OF THE NALTREXONE RELEASE KINETICS FROM THE MICROSPHERES BASED ON POLY-(D,L-LACTIDE-CO-GLYCOLIDE)

Petrova E.A., Kedik S.A., Tikhonova N.V., Sapelnicov M.D., Blinskaya E.V., Panov A.V.
CJSC «Institute of pharmaceutical technology»
121353, Moscow, Skolkovskoe str., d.21/32, str.1

Naltrexone is an opioid receptor antagonist. It interacts with opiate receptors by competitive antagonism. Developing of naltrexone depot-drugs is advance movement of the therapy of alcohol dependence and opioid dependence. The biodegraded polymers have to prolong of the naltrexone release time from a few minutes to months.

Results: Microspheres based on poly-(D,L–lactide-co-glycolide) are the naltrexone carriers. They are produced by the emulsification process. The average size of particles is 50μm. The dissolution test was carried out in vitro in the medium which has similar composition likes in blood (PBS, pH: 7.4; osmolality: 240 – 260 mOsm, t° = 37°C). Samples from 5 different batches were investigated. The time of sample splitting was: 1,7,14 and 28 days. The drug release rates of the five PLGA microspheres are present in tabl.1 (S_x value has to be not more than 0.05).

Table 1 – The amounts of released naltrexone from the microspheres at the certain time(Δt)

Sample from batch №	1	2	3	4	5	Mean values	S	S_x
First day	2.84	2.82	2.87	2.85	2.86	2.85	0.019	0.0086
7^{th} day	28.55	28.60	28.51	28.53	28.62	28.56	0.047	0.0233
14^{th} day	42.11	42.22	42.18	42.20	42.15	42.17	0.043	0.0194
28^{th} day	79.95	79.82	79.86	79.99	79.87	79.90	0.069	0.0312

Conclusions: The prolongation effect was 28 days. The amounts of the naltrexone release from microspheres was: first day – 2.85%±0.04. 7^{th} day – 28.56%±0.1. 14^{th} day — 42.17%±0.09. 28^{th} day — 79.90%±0.15.

ГИПЕРЭКСПРЕССИЯ РЕЦЕПТОРА ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА – КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОГО И ПРОГНОСТИЧЕСКОГО МАРКЕРА ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Пивень Н.В., Лухверчик Л.Н., Бураковский А.И., Братаус Е.В., Полегенькая Н.В.
ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси»,
лаборатория медицинского микроанализа,
220141, ул. Купревича 5/2, Республика Беларусь

Эпидермальный фактор роста (ЭФР) и его рецептор – РЭФР играют ключевую роль в процессах онкогенеза, распространения и метастазирования опухоли. Возникающая гиперэкспрессия генов РЭФР и ЭФР и их продуктов оказывает влияние на клеточный цикл, обеспечение опухолевых клеток собственными сигналами выживания, повышение митотической активности, снижение процессов апоптоза и способность опухолевых клеток к миграции и инвазии, опосредуемой состоянием сигнальных путей РЭФР. Гиперэкспрессия РЭФР наблюдается во многих злокачественных опухолях и является неблагоприятным фактором, коррелирующим с высокой пролиферативной активностью опухолей, агрессивностью течения и резистентностью к проводимой лекарственной (химио- и гормонотерапии) и лучевой терапии. В силу этого в последние годы большое число исследований фокусируется на поиске новых подходов к разработке методов ранней диагностики, основанной на выявлении гиперэкспрессии РЭФР и рациональных подходов к противоопухолевой терапии онкологических заболеваний.

Задачей нашего исследования является разработка новых методов оценки уровня гиперэкспрессии РЭФР на основе молекулярно-генетических подходов (ПЦР) и принципов современного иммунохимического анализа (в формате ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay) с использованием рекомбинантных форм РЭФР (HER2-антигена) и моноклональных антител (МАТ).

Конечной целью исследования является разработка новой методологии оценки уровня гиперэкспрессии РЭФР путем сочетанного использования названных современных подходов, что позволит существенно повысить результативность ранней диагностики группы онкозаболеваний, ассоциированных с гиперэкспрессией РЭФР, и контролировать эффективность их иммунотерапии на основе МАТ.

OVEREXPRESSION OF THE EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR – CLINICAL, DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC MARKER OF CANCER

Piven N.V., Lukhverchyk L.N., Burakovski A.I., Brataus E.V., Paliahenkaya N.V.
Institute of Bioorganic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus,
Laboratory of Medical Microanalysis,
220141, Minsk, 5/2 Kuprevich Str. Belarus

The epidermal growth factor (EGF) and its receptor – EGFR plays a key role in oncogenesis, proliferation and metastasis. Overexpression of EGFR and EGF genes and their products affect on the cell cycle, provide tumor cells with its own survival signals, increase mitotic activity, reduce the apoptosis and the ability of tumor cells to migration and invasion, mediated by EGFR signaling pathway status. Overexpression of EGFR is occurs in many malignant tumors and is an unfavorable factor correlating with the high proliferative activity of tumors, aggressive course and resistance to the ongoing drug (chemotherapy and hormone therapy) and radiation therapy. In view of this in recent years large number of investigations focused on finding the new approaches to the development of

early diagnosis methods, based on the EGFR overexpression identification and rational approaches to anticancer therapy.

The aim of our research is the development of new methods of estimate the EGFR overexpression level on the basis of molecular-genetic approaches (PCR) and the principles of modern immunochemical analysis (in the ELISA format –- enzyme-linked immunosorbent assay) using recombinant forms of EGFR (HER2 antigen) and monoclonal antibodies.

The ultimate goal of the research is the development of new methodology for estimation of the EGFR overexpression level by combined usage of these modern approaches, which will make it possible to increase the efficiency of early diagnosis of cancers associated with the EGFR overexpression and to control the effectiveness of the immunotherapy based on the usage of monoclonal antibodies.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ ДЛЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ РАЗЛИЧНЫХ ШТАММОВ БРУЦЕЛЛ

Плотникова Э.М., Панкова Е.В.

Федеральное Государственное Бюджетное Учреждение «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», 420075, г. Казань, Научный городок – 2 (тел.: (843) 239-53-34)

На фоне усиленного воздействия природных и антропогенных факторов на возбудителей инфекционных болезней, в том числе и на возбудителя бруцеллеза, возникают биотипы варианты микроорганизмов с резко измененными таксономическими признаками. Так, установлено, что в настоящее время в природе наряду с S- формами, нередко встречаются RS- и R -диссоцианты бруцелл, которые при применении общепринятых методов затрудняют их дифференциацию. Между тем из доступной литературы известно, что при диагностике ряда инфекционных болезней наиболее перспективным является применение высокоспецифичных диагностикумов на основе моноклональных антител.

Учитывая это, нами были проведены опыты по разработке технологии получения моноклональных антител (Мат). В качестве антигенов для иммунизации мышей линии Ba1в/с использовали штамм бруцелл B. rangiferi, который вводили животным 4-х кратно с использованием различных способов и доз антигенного материала. Скрининг и клонирование проводили по общепринятой методике (Kohier и Мильштейн и др., 1975). В процессе опытов нами были получены 14 клона, наиболее активными и специфичными из которых оказались 2, продуцирующие моноклональные антитела к антигену бруцелл из B. rangiferi.

Очистку и концентрирование полученных антител проводили методом осаждения и хроматографией на белок А — сефарозе. Из полученных Мат были изготовлены иммуноферментные коньюгаты (ИФК) с использованием разработанных нами ранее технологии.

Полученные иммуноферментные коньюгаты на основе моноклональных антител по разработанной нами технологии были использованы для идентификации и дифференциации различных вакцинных, вирулентных и изменных (диссоциированных) штаммов бруцелл.

Результаты опытов показали, что ИФК на основе Мат к антигену бруцелл из шт. B. rangiferi активен (рабочее разведение 1:1000) и не вступает в реакцию с S- формами бруцелл.

Таким образом, использование Мат к антигену B. rangiferi обеспечивает надежную идентификацию и дифференциацию бруцелл как со стабильными, так и измененными таксономическими признаками.

USE OF MONOCLONAL ANTIBODIES FOR BRUCELLA STRAINS DIFFERENTIATION

Plotnikova E.M., Pankova E.V.
Federal Non-Profit Organization
«Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety»,
420075, Kazan, 2-Nauchny gorodok (tel.: (843) 239-53-34)

The enhanced influence of natural and anthropogenic factors result in various biotypes of transmittable diseases pathogens including brucellosis pathogen with sharply altered taxonomic features. As such, it is established that currently, along with S-forms the RS — and R-brucella dissonants are often isolated in nature and conventional methods complicate their differentiation. Meanwhile the available references report that diagnostics of some infectious diseases involves highly sensitive diagnostic kits based on monoclonal antibodies.

In this regard, the investigations to develop monoclonal antibodies production technologies were carried out. B. rangiferi brucella strain was used as an antigen Balb/c mice immunization. The mice were introduced with the strain 4 times using various methods and dosage of antigen material. Screening and cloning were performed according to conventional procedure **(**Kohier and Milstein, et al., 1975). During the experiments 14 clones were produced. The most active and specific were 2 clones producing monoclonal antibodies against B. rangiferi brucella antigen.

The obtained antibodies purification and concentration was performed using sedimentation and A protein sepharose-based chromatography. Using the obtained monoclonal antibodies the ELISA conjugates were produced with the previously developed technologies.

The monoclonal antibodies-based ELISA conjugates were used for identification and differentiation of various vaccine virulent and altered (dissociated) brucella strains.

The experiment results showed that The monoclonal antibodies-based ELISA conjugates against B. rangiferi brucella monoclonal antigen is active (working delution 1:1000) and does not respond to brucella S-forms.

Therefore, using monoclonal antigen against B. rangiferi antigen provides brucella reliable identification and differentiation both with stable and altered taxonomic features.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ СЫВОРОТОЧНЫХ ИНГИБИТОРОВ КРОВИ С ИММОБИЛИЗОВАННОЙ ФОРМОЙ КОМПЛЕКСНОГО ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА

Смагина В.В., Авраменко Г.В.
Российский химико-технологический университет им. Д.И.Менделеева;
125047,г. Москва, Миусская площадь, д.9

На сегодняшний день для лечения гнойно-воспалительных заболеваний, наряду с традиционно применяемыми антибиотиками, очевидна актуальность внедрения в практику лечебно-профилактических средств с многоплановым и пролонгированным действием. К таким средствам относятся иммобилизованные, т. е. связанные, протеолитические ферменты – биокатализаторы нового поколения, более стабильные, чем нативные формы. Протеолитические ферменты относятся к средствам биологической антисептики: механизмом воздействия протеаз на инфицированную рану является гидролиз токсичных микробных метаболитов белковой природы. Ферментативный некролизис ведет к сокращению первой фазы раневого процесса – очищению поверхности тканей, поврежденных патологическим процессом, от денатурированных белков, что приводит к ускорению процесса эпителизации.

Многочисленные исследования в области применения протеолитических ферментов, наносимых в чистом виде непосредственно на раневую поверхность, показывают, что активность протеиназ в гнойной ране быстро падает вследствие расщепления тканевыми и сывороточными ингибиторами крови. Поэтому представляет интерес оценка кинетики ингибирования иммобилизованного на полимерной матрице протеолитического комплексного препарата, содержащего террилитин. Полученые кривые ингибирования нативного и иммобилизованного террилитина, показывают, что все полимерные формы характеризуются меньшей степенью ингибирования сывороткой крови по сравнению с нативной формой.

Так как образование комплекса фермента (Е) с белковыми ингибиторами (I) сопровождается целым рядом межмолекулярных взаимодействий:: электростатические, водородные, ван-дерваальсовы, гидрофобные, — определяемых спецификой растворителя – воды. величина поверхности, на которой осуществляется контакт макромолекул Е и I, невелика. Даже небольшие возмущения на поверхности макромолекулы фермента вблизи зоны контакта или непосредственно на ней, могут приводить к затруднениям в образовании комплекса EI. Поэтому наличие полимерного микроокружения способно увеличивать свободную энергию образования комплекса EI в сравнении с комплексом, образуемым нативным ферментом с ингибитором, что приводит к увеличению константы диссоциации комплекса EI Полученные данные свидетельствуют именно о реализцации подобного процесса при переходе от нативной формы к иммобилизованной Возникающие в результате иммобилизации стерические препятствия, затрудняют взаимодействия Е и I, являются причиной уменьшения сродства иммобилизованных полимерных форм террилитина к ингибиторам сыворотки крови.

INTERACTION INHIBITORS OF BLOOD WHEY WITH THE IMMOBILIZATION FORM OF A COMPLEX PROTEOLYTIC PREPARATION

Smagina V.V, Avramenko G.V.
D. Mendeleev University of Chemical Technology of Russia.;
125047, Moscow, Miussky area, ð.9.

To date, the application of antibiotics, known and traditionally applied methods of treatment of diseases, the introduction urgency in practice of treatment-and-prophylactic means with the multiplane and prolonged action is obvious. The connected proteolytic enzymes concern such means – biocatalysts of new generation, more stable, than native, i.e. Proteolytic enzymes concern means of biological antiseptics, the mechanism of influence of proteases on the infected wound is hydrolysis of toxic microbic metabolites of the albuminous nature. Enzyme necrolysis conducts to reduction of the first phase of adhesion process – to clarification of a damaged surface by pathological process, from the denatured fibers. Clarification acceleration of wound surface from necrolysis of textus promotes granulation occurrence in earlier terms and causes acceleration of epitalisation

As numerous researches in a scope of the proteolytic enzymes entered in the pure state it is direct in a wound, has shown that activity of proteinases in a purulent wound quickly falls owing to splitting fabric and inhibitors. of blood whey. It was interesting to define kinetics of inhibition in a polymeric matrix of a proteolytic complex preparation – terrilitine . Curve inhibition of the native and immobilized form of terrilitine , has shown that, all polymeric forms, as compared with the native form, characterized by smaller degree of inhibition blood whey /As the set of interactions takes part in formation of a complex of enzyme with albuminous inhibitors: electrostatic, hydrogen, van-dervaalsovy and the waterproof interactions defined by specificity of solvent – waters, the surface size on which contact of macromolecules E and I is carried out, is insignificant. There is a probability, what even, small indignations on a surface of a macromolecule of enzyme near to a zone of contact or is

direct on it, lead to difficulties in formation of complex EI. Therefore the polymeric microenvironment, is capable, to increase free energy of formation of complex EI in comparison with a complex of native protease EI From the received data observes the similar phenomenon at transition from native forms to immobilized form/ Resulting an immobilization -the steric obstacles complicating interactions E and I, are at the bottom of reduction of affinity of polymeric forms of terrilitine to inhibitors of whey of blood, it is probable at interaction terrilitine with an inhibitor defining is the orientation effect .

МЕТОД АНАЛИЗА ПРЕПАРАТОВ КАННАБИСА, ОСНОВАННЫЙ НА РЕАКЦИИ ЛАТЕКСНОЙ АГГЛЮТИНАЦИИ

Солодухина Н.М.[1], **Мягкова М.А.**[2], **Грицкова И.А.**[1]

[1]*Московский Государственный Университет Тонкой Химической технологии (МИТХТ) им. М.В. Ломоносова, Москва, 119571, пр-т Вернадского, 86.*

[2]*Институт физиологически активных веществ Российской Академии Наук (ИФАВ РАН), МО, 142432, Ногинский р-н, г. Черноголовка, Северный пр-д, 1.*

Мониторинг лекарственных средств, выявление передозировок, в том числе препаратами, содержащими наркотические вещества — важная задача современной медицинской диагностики и фармацевтики.

Разработан простой технологичный способ анализа препаратов, содержащих в своем составе производные каннабиса, основанный на реакции латексной агглютинации (ЛА). Метод ЛА является недорогим, не требует приборного оснащения, результат считывается путем визуального наблюдения.

В работе были использованы полистирольные полимерные микросферы.

В ходе работы получены иммунодиагностические реагенты. Синтезирован конъюгат дельта-9-тетрагидроканнабинол–овальбумин на полистирольных полимерных частицах путем ковалентного связывания функциональных групп полимера и биолиганда. Выбраны оптимальные условия проведения ЛА по следующим параметрам: концентрация латексной суспензии, концентрация белкового лиганда дельта-9-тетрагидроканнабинол – овальбумин, концентрация антител кроличьих, специфичных к каннабиноидам, соотношение компонентов, участвующих в реакции латексной агглютинации. Установлено:

Оптимальная концентрация белкового лиганда дельта-9-тетрагидроканнабинол–овальбумин, иммобилизованного на полистирольные микросферы, соответствовала 0,1 мг/мл, а разведение антител кроличьих, специфичных к каннабиноидам, соответствовала 1:3000.

Чувствительность разработанного диагностикума составила 150 нг/мл.

Для подтверждения диагностической значимости было проведено одновременное определение содержания каннабиноидов в моче человека с помощью разработанной тест системы и методами иммуноферментного и иммунохроматографического анализа. Коэффициент корреляции равняется 0,94 и 0,99 соответственно ($p<0,001$).

Разработка может применяться в клинико-диагностических лабораториях, в профильных стационарах, для мониторинга лекарственных средств и для определения передозировок препаратами, содержащими наркотические вещества.

METHOD OF THE ANALYSIS OF PREPARATIONS OF THE CANNABIS, BASED ON REACTION OF LATEX AGGLUTINATION

Solodukhina N.M.[1], **Myagkova M.A.**[2], **Gritskova I.A.**[1]

[1]*Moscow State Academy of fine Chemical technologies. Russian Federation, 119571 Moscow, Vernadskogo prospect, 86;*

[2]*Institute of Physiologically active compounds, RAS, 142432, Moscow region, Noginskiy district, Cernogolovka town, Severniy proezd, 1. IPAC RAS*

Monitoring of drugs, identifying the drug overdoses, including preparations containing narcotic substances is an important task of modern medical diagnostics and pharmaceutics.

The simple technological way for detection the cannabis and it`s derivatives preparations based on reaction of latex agglutination is developed. The method of latex agglutination is inexpensive, doesn't demand instrument equipment, the result is read out by visual supervision.

Polystyrene microspheres were used in this work.

Immunodiagnostic reagents were obtained during the work. The conjugate delta-9-tetrahydrocannabinol- ovalbumin and polystyrene microspheres was synthesized by the covalent binding between functional groups of polymer microspheres and bio ligand. The optimum conditions for the latex agglutination test were found using the following parameters: the concentration of the latex suspension, the concentration of protein ligand delta-9-tetrahydrocannabinol — ovalbumin, the concentration of rabbit antibody specific to cannabinoids, the ratio of the components involved in the reaction of latex agglutination. The folowing was found out:

The optimum concentration of protein ligand delta-9-tetrahydrocannabinol-ovalbumin immobilized on polystyrene microspheres corresponded to 0.1 mg / ml, and dilution of rabbit antibodies specific for cannabinoids corresponded 1:3000.

Diagnosticum sensitivity was 150 ng / ml.

To confirm the diagnostic value of the diagnosticum the simultaneous determination of cannabinoids in urine using the developed test systems and methods of enzyme immunoassay and immunochromatographic assay were carried out. The correlation coefficient equals 0.94 and 0.99 respectively ($p < 0{,}001$).

The developed diagnosticum can be applied in clinical diagnostic laboratories, for drug monitoring and for overdose drugs containing narcotic substances determining.

ПОЛУЧЕНИЕ ТРОМБОЛИТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ИЗ ГРИБА РОДА COPRINUS

Тозик Е.В.[1], **Шамцян М.М.**[1], **Чефу С.Г.**[2], **Петрищев Н.Н.**[2]

[1]*Санкт-Петербургский государственный технологический институт (Технический университет), 190013, Санкт-Петербург, Московский пр., д.26*

[2]*Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова, 197022, Санкт-Петербург, ул. Л.Толстого, 6/8*

Согласно докладам Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) сердечнососудистые заболевания (ССЗ) являются основной причиной смерти во всем мире. Ни по какой другой причине ежегодно не умирает столько людей, сколько от ССЗ, главным образом от болезней сердца и в результате инсультов. Причем, по экономическим оценкам на профилактику и лечение ССЗ в мире расходуются десятки миллиардов долларов США.

Важной причиной ССЗ является тромбообразование – формирование фибриновых сгустков внутри кровеносных сосудов. В организме человека существует лишь один фермент – плазмин,

непосредственно расщепляющий фибриновые волокна в тромбе. Но существует много факторов, ингибирующих и активирующих, действие и образование этого фермента. Из-за дисбаланса в системе свертывания крови, вызванного различными причинами, может возникнуть такая ситуация, в которой полифибриновые волокна не гидролизуются, а образовавшийся тромб приводит к закупорке сосудов, вен, артерий, что в свою очередь провоцирует разрыв сосуда с сопровождающим кровоизлиянием.

В качестве лекарства для профилактики тромбообразования энзимы микробиологического происхождения привлекают все большее внимание. Последние декады лет ведутся исследования по обнаружению из широкого спектра микроорганизмов продуцентов фибринолитических ферментов, производят подбор методов выделения, очистки и характеристики фибринолитических ферментов. Но лишь в редких случаях исследования доходят до определения тромболитического действия фибринолитического агента in vivo и предклинических испытаний.

Нами была разработана в лабораторных условиях технология ферментации гриба рода *Coprinus* с высоким выходом фибринолитического агента (ФА). Был разработан метод выделения и частичной очистки ФА из культуральной жидкости гриба.

В наших исследованиях препарат проходил тестирование не только на тромболитическую активность in vivo (показывая достоверно высокую активность в расщиплении тромбов как в венах, так и в артериях), но также велись предклинические исследования общей токсичности биопрепарата.

PRODUCING THE THROMBOLYTIC AGENT FROM A MUSHROOM GENUS COPRINUS

E.V. Tozik[1], **M.M. Shamtsyan**[1], **S.G. Chefu**[2], **N.N. Petrishev**[2]
[1]*Saint-Petersburg state institute of technology (Technical university), 190013, Saint-Petersburg, Moskovskii prospekt, 26*
[2]*Saint-Petersburg State I.P.Pavlov Medical University, 197022, Saint-Petersburg State, Lev Tolstoy str, 6/8*

According to reports from the World Health Organization (WHO), cardiovascular disease (CVD) is the leading cause of death worldwide. CVDs cause more deaths every year than any other disease. Mainly from the heart disease and insult stroke as a result. Moreover, the economic estimates that tens of billions U.S. dollars being spent annually worldwide for the prevention and treatment of CVDs.

Thrombosis (the formation of fibrin clots within blood vessels) is one of the the main reasons of CVD. There exists only one enzyme in human body – plazmin, that directly destructs fibrin fibers in the thrombus. But there are many factors that inhibit and activate the function and the formation of this enzyme. Because of the imbalance in the blood coagulation system, caused by various reasons, a situation may arise when the polyfibrin-fibers are no longer hydrolyzed, and the resulting thrombus leads to blockage of blood vessels, veins, arteries. That provokes the rupture of the vessel and the accompanying hemorrhage.

As a remedy for the prevention of the blood clot forming, the microbiological origin enzymes are attracting the increasing attention. The last decade of years the researches of detection of the fibrinolytic enzymes producing microorganisms from the wide range of microorganisms are being carried out. The methods of isolation, purification and characterization of fibrinolytic enzyme are being optimized. But only in rare cases, the researches lead to the fibrinolytic agent thrombolytic effect determinatinion in vivo, and preclinical tests.

In our laboratory we have developed the fermentation technology of genus Coprinus mushroom with a high yield fibrinolytic agent (FA). The method of isolation and partial purification of the FA from the culture fluid of the fungus was developed.

In our researches, the drug was tested not only for thrombolytic activity in vivo (showing significantly higher activity destruction of blood clots in the veins as well as in the arteries), but the preclinical studies of the overall toxicity of a biological product were conducted.

ВЛИЯНИЕ Z-ЛИГУСТИЛИДА ИЗ *ANGELICA SINENSIS* НА ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС У АСТРОЦИТОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ В-АМИЛОИДА

Цой А.К.Шалахметова Т.М., Умбаев Б.А.
Казахский Национальный Университет, E-mail: andrey@tsoys.com

Согласно амилоидной гипотезе развития болезни Альцгеймера одной из ранних причин развития заболевания является β-Амилоид (Аβ). Аβ гетерогенный пептид, содержащий от 36 до 43 аминокислот, который образуется в нейронах путем последовательного протеолиза-предшественника амилоида ферментами β- и γ-секретазы. Наиболее токсичной формой является Аβ42.

Известно, что Аβ, проникая в астроциты и другие клетки гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), запускает каскад внутриклеточных реакций и индуцирует синтез активных форм кислорода (АФК). Молекулы АФК приводят к нарушению работы цитоскелета, активации стрессовых киназ, синтезу транскрипционных факторов, контролирующих апоптоз клетки. В результате дисфункция ГЭБ определяет дальнейшую прогрессию заболевания.

В связи с этим необходим поиск эффективных лекарственных препаратов, способных блокировать окислительный стресс, индуцируемый Аβ42 в клетках ГЭБ. Одним из таких средств борьбы с АФК может служить Z-лигустилид (бутилиден-4,5-дигидрофталид), содержащийся в вегетативных органах многих видов растений семейства зонтичных (*Umbelliferae*). Известно, что Z-лигустилид модулирует некоторые сигнальные пути и способен активировать супероксиддисмутазу в клетках млекопитающих, однако, как он влияет на синтез АФК при воздействии Аβ на клеточные элементы ГЭБ, пока не известно.

Целью настоящего исследования явилось изучить влияние Z-лигустилида из дягиля лекарственного (*Angelica Sinensis*) на генерацию АФК при воздействии Аβ42 на астроциты крыс. Для модели токсического воздействия Аβ42 использовали первичную культуру астроцитов крыс (Invitrogen). Клетки были разбиты на 4 группы: I группа – контроль; II группа – клетки, которые инкубировали с Аβ42 в течение 2 часов в дозировке 5мкМ; III группа – клетки инкубировали с Z-лигустилидом в течение 18 часов в дозировке 5 мкг/мл, затем подвергали воздействию Аβ42 в тех же условиях, что и во II группе; IV группа – клетки, которые инкубировали только с Z-лигустилидом.

Для оценки уровня АФК клетки инкубировали с дигидроэтидиумом (Sigma) в концентрации 5 мМ в течение двух часов.

Количественный флуоресцентный анализ уровня АФК в исследуемых группах проводили сразу же после эксперимента. В каждой группе анализировали минимум по 300 клеток, оценку флюоресценции проводили из расчета на площадь клетки с помощью программного обеспечения MetaView.

Результаты проведенного исследования показали, что при воздействии Аβ42, по сравнению с контролем, уровень АФК у астроцитов возрастал на 27% , напротив, у клеток получавших Z-лигустилид и Аβ42, количество АФК оставалось на уровне контроля. В клетках, которые

инкубировали только с Z-лигустилидом, содержание АФК не изменялось и соответствовало тем же значениям, что у клеток контрольной группы.

Таким образом, исследование показало, что Z-лигустилид способен препятствовать окислительному стрессу, который индуцирует Аβ42, что делает его перспективным объектом для дальнейших исследований in vitro и in vivo.

POTENTIAL APPLICATION OF LIPASE – MEDIATED ACYLATION OF 7,8-DIHYDROXY 4-METHYL COUMARIN IN THE SYNTHESIS OF ITS NOVEL MONO-ESTERS

Vinod Kumar[1], Firdaus Jahan[1], Shailendra Raghuwanshi[1] and R.K.Saxena[1]*

[1]*Department of Microbiology, University of Delhi South Campus, New Delhi, India*

**Corresponding author. Tel: 011 – 24116559, Fax: 011-24115270, Email: rksmicro@yahoo.co.in*

Lipases are versatile biocatalysts that can perform innumerable different reactions. Their enantio-, chemo- and stereo-selective nature makes them an important tool in the area of organic synthesis. In the present investigation, regioselective acylation of dihydroxy coumarins for the synthesis of mono-esters using *Rhizopus oryzae* lipase has been carried out. Acylation of dihydroxy coumarins for mono-ester synthesis by chemical method is not yet reported, thus the acylation was carried out by enzymatic method. In this respect, we succeeded in synthesizing mono-esters of dihydroxy coumarin by using *R.oryzae* lipase. In the present investigation, 7, 8 –dihydroxy 4- methyl coumarin was used for acylation. The production of mono-esters of 7, 8 –dihydroxy 4- methyl coumarin was achieved upto 62% in 24 h at 45 °C. The structural analysis of these monoester compounds have also been studied using NMR and FTIR. These compounds are important in the synthesis of building blocks of biologically active natural products which may provide structural leads to cardiovascular diseases and may act as anticancer agents.

Keywords: *R.oryzae* lipase, Acylation, Mono-esters of 7,8 –dihydroxy 4- methyl coumarin, NMR, FTIR

ОСОБЕННОСТИ ПОВРЕЖДЕНИЯ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ ФИБРОБЛАСТОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ АЛКИЛИРУЮЩЕГО АГЕНТА

Вайсфельд Л.И.

Учреждение Российской академии наук Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119334, Москва, ул. Косыгина, 4

Работа проводилась на первичной культуре фибробластов мыши и человека. Определяли частоту анафаз и телофаз с аберрациями хромосом после обработки культуры фосфемидом в концентрациях $1 \cdot 10^{-4}$М-$1 \cdot 10^{-4}$М. Предполагалось, что его ингредиенты — пиримидиновое основание и алкилирующий агент этиленимин, включаясь в ДНК в ходе синтеза, нарушит структуру хромосом, что станет причиной гибели активно делящихся клеток опухоли. Это должно было объяснить полученный на животных противоопухолевый эффект препарата. Механизм, однако, оказался сложнее. Фосфемид, действительно, вызывал в течение длительного времени культивирования перестройки хромосом, частота которых увеличивалась с увеличением дозы препарата. Перестройки появлялись, начиная с двух-трёх часов после обработки. Их число возрастало в течение всего первого цикла с максимумом при обработке фазы S: 52% в клетках мыши, 40% в клетках человека, затем постепенно снижалось при росте культуры в течение 3-5 дней. Средний уровень перестроек в контроле (без обработки фосфемидом) был 1,99% в клетках мыши и 0,72% в клетках человека. Меченные тимидином H^3 митозы появлялись на 3

часа позднее по сравнению с контролем. Кривая митотической активности повторяла кривую в необработанной культуре, но на более низком уровне. Параллельно на этих же препаратах определяли число ядер (интерфазных и делящихся). Подсчитано по 5-10 тысяч ядер в контроле и в опытах. На поздних сроках фиксации наблюдалось статистически достоверное разрежение пласта клеток на стекле в 3-4 раза. Таким образом, препарат не только нарушает синтез ДНК, но также повреждает микротрубочки веретена деления и цитоскелет клеток. Они теряют контакт с поверхностью стекла, удаляются вместе с культуральной средой, что создает эффект разрежения пласта клеток. Эффект сходен с механизмом образования опухолевых клеток, открытым известным онкологом профессором Ю.М. Васильевым.

FEATURES OF DAMAGE OF CULTIVATED FIBROBLASTS UNDER INFLUENCE OF THE ALKILATING AGENT

Weisfel'd L.I.

Establishment of the Russian Academy of Sciences N.M.Emanuel Institute of Biochemical Physics
119334, Russia, Moscow, Kosygina str, 4

This work was carrying out on primary culture of fibroblasts of mice and the human. It was determined frequency of anaphases and telophases with aberrations of chromosomes after treatment of culture by phosphemid in concentration $1•10^{-2}$-$1•10^{-4}$M. It was before assumed, that its ingredients — the pyrimidin basis and alkylating agent by ethylene imine, including in DNA during synthesis, will break structure of chromosomes and that will become reason of death of actively dividing cells of a tumor. It should explain the antineoplastic effect of a preparation received on animals. The mechanism, however, has appeared more difficultly. Phosphemid, really, caused aberrations of chromosomes, their frequency increased with an increase of a doze of a preparation, for long time cultivation. Cells with aberrations appeared, since two-three hours after treatment. Their number increased during all first cell cycle with a maximum at processing phase S: 52% in cells of the mouse, 40% in human cells, and then gradually decreased at growth of culture within 3-5 days. A middle level of aberrations in control (without treatment by phosphemid) was 1.99% in the fibroblasts of mouse and 0.72% in fibroblasts of human. Mitoses labeled by thymidine appeared at 3 o'clock later in comparison with the control. The curve mitotic activity repeated a curve in the non-treatment culture, but at lower level. In parallel on the same preparations defined number of nuclei (in a condition of interphasis or mitosis). It is counted up 5-10 thousand nuclei in the control and over experiences. At later dates of fixing number of nuclei in a layer on glass reduced statistically significant in 3-4 times. Thus, the phosphemid not only breaks synthesis of DNA, but also damages microtubules of a spindle of division and cytoskeleton of cells. The cells lose contact to a surface of glass and remove off together with nutrient medium, which creates effect of *rarefied of* lower of cells. The effect is similar to the mechanism of formation of tumorous cells, opened by the known oncologist professor J.M. Vasilyev.

СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ СОПОЛИМЕРА N-ВИНИЛПИРРОЛИДОНА И 2-МЕТИЛ-5-ВИНИЛПИРИДИНА С РАЗЛИЧНЫМ МОНОМЕРНЫМ СОСТАВОМ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОПТИМАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ПРИ СОЗДАНИИ ГОТОВОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ

Ерёмин Д.В., Кедик С.А., Панов А.В., Малиновская Г.О.
ЗАО «Институт фармацевтических технологий»
121353, г. Москва, Сколковское шоссе, д.21/32, стр.1

Сополимеры N-винилпирролидона и 2-метил-5-винилпиридина обладают свойствами цитостатиков и активаторов фагоцитоза, что делает их перспективной биологически активной основой для создания новых лекарственных форм. Разрабатываемые препараты на основе данных полимеров представляют собой водные растворы с достаточно низкой концентрацией. Однако опыт работы с водными растворами сополимеров показывает, что эти растворы не всегда гомогенны, причем основными факторами, влияющими на совместимость сополимера и воды, являются соотношение мономеров, температура, концентрация и pH раствора. Поэтому целью нашей работы было исследование растворимости сополимера N-винилпирролидона и 2-метил-5-винилпиридина в воде, в зависимости от приведённых выше факторов.

В ходе работы синтезированы серии сополимеров с процентным содержанием звеньев 2-метил-5-винилпиридина 35, 40 и 55% и молекулярной массой 48 кДа. Растворимость сополимеров оценивали спектрофотометрически по помутнению раствора в диапазоне концентраций от (0,005)0,01 до 2,00 мас.%.

Показано, что исследованные растворы характеризуются нижней критической температурой растворения, а с увеличением pH от 6.0 до 8.0 наблюдается заметное ухудшение совместимости сополимера с водой. По-видимому, фазовое разделение в данных растворах обусловлено конформационным переходом макромолекулы из рыхлой глобулы в компактный клубок. В координатах «концентрация водного раствора сополимера – pH» построены изотермические кривые, позволяющие прогнозировать диапазон концентраций и значения pH, при которых раствор при данной температуре гомогенен. Показано, что наиболее оптимальным является сополимер с содержанием звеньев 2-метил-5-винилпиридина 40 мас.%, водные растворы которого гомогенны в диапазоне концентраций 0,05-0,11 мас.%. при комнатной температуре (20 °C) и pH=7.0.

SYNTHESIS AND RESEARCH OF COPOLYMER N-VINYLPIRROLIDONE AND 2-METHYL-5-VINYLPYRIDINE WITH VARIOUS MONOMERIC COMPOSITION FOR DEFINITION OF OPTIMUM CHARACTERISTICS AND FORMULATION OF THE NEW DOSAGE FORM

Eremin D.V., Kedik S.A., Panov A.V., Malinovskaya G.O.
CJSC «Institute of pharmaceutical technology»
121353, Moscow, Skolkovskoe str., d.21/32, str.1

The copolymers of N-vinylpirrolidone and 2-methyl-5-vinylpyridine are to be cytostatics and have biological activity as activator of phagocyte cells. They are very perspective substation to developing new dosage forms (predominantly water solutions with low concentration). The investigation of solubility of this copolymers shows that these solutions aren't homogeneous frequently. The major factors influencing on compatibility of the copolymer and water includes: the ratio of monomers, the temperature, the concentration and pH of solution. The aim of this study was research of dependence of above factors on the copolymers solubility.

A few series of copolymers with molecular weights 48 kDa and parts of monomers 2-methyl-5-vinylpyridine 35, 40 and 55% were synthesized. The copolymers solubility was estimated

spectrophotometrically by the turbidity in a range of concentration from (0,005)0,01 to 2,00 w.%.

It was shown that investigated solutions are characterized by the bottom critical temperature of dissolution. The increase of pH values from 6.0 to 8.0 results to significant decrease of compatibility of the copolymer with water. It can be assumed that the fact of separation of given solutions is caused by conformational transition of a macromolecules from the form of friable globules in to a compact ball. The isothermal curves at the co-ordinates «concentration of a copolymer – pH» were plotted. They are allowed to predict the concentrations and pH values ranges, in which solution is homogeneous at the given temperature. It was showed, that the optimal composition of the copolymer is 40% of 2-methyl-5-vinylpyridine w/w. It's water solutions are homogeneous in the range of concentrations from 0.05 to 0,11w. %, at room temperature (20°C) and pH = 7,0.

СЕКЦИЯ 2. «БИОТЕХНОЛОГИЯ ГЕННО-ИНЖЕНЕРНЫХ ПРОДУЦЕНТОВ
SECTION 2 "BIOTECHNOLOGY GENETIC ENGINEERING PRODUCERS"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

СОЗДАНИЕ ВЫСОКОТЕХНОЛОГИЧНОГО ПРОИЗВОДСТВА ИНТЕРФЕРОНА БЕТА-1А И ЭПОЭТИНА БЕТА ЧЕЛОВЕКА НА ОСНОВЕ ГЕННО-МОДИФИЦИРОВАННЫХ ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ ПРОДУЦЕНТОВ

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

Разработаны эффективные технологии производства двух важнейших рекомбинантных белков медицинского назначения – эпоэтина бета и интерферона бета-1а. В качестве продуцентов использовались генетически модифицированные клеточные линии яичников китайского хомяка (CHO). Ключевым отличием разработанных технологий является современный процесс культивирования клеток – в суспензионной форме в бессывороточной, химически определенной среде. Тем самым достигаются преимущества в биологической безопасности, трудоемкости и стабильности технологического процесса.

Клеточные линии – продуценты обоих белков изначально были адаптированы к суспензионному культивированию в среде, не содержащей компонентов животного происхождения. На их основе были разработаны опытно-промышленные технологии культивирования в стеклянном биореакторе объемом 5л. В результате оптимизации параметров процесса для продуцента интерферона бета-1а были достигнуты следующие показатели: клеточная плотность $5x10^6$ клеток/мл, продолжительность цикла 7 дней, продуктивность 15 мг/л; для продуцента эпоэтина — клеточная плотность $9x10^6$ клеток/мл, продолжительность цикла 9 дней, продуктивность 105 мг/л. Содержание гликозилированных изоформ, соответствующих белкам человека, составляло 40-50%.

Разработана технология очистки рекомбинантного интерферона-бета из культуральной жидкости на основе цинк-хелатной хроматографии. В результате трехстадийного процесса выход интерферона-бета составил 37% при чистоте 95%. Для очистки рекомбинантного эпоэтина использовалась разработанная ранее технология с использованием аффинной хроматографии, которая обеспечивает выход белка не менее 55% при чистоте 95%. Качество полученных белковых субстанций соответствует требованиям Европейской фармакопеи.

DEVELOPMENT OF HIGH-TECH PRODUCTION OF HUMAN INTERFERON BETA-1A AND EPOETIN BETA USING GENETICALLY MODIFIED EUKARYOTIC CELL LINES

Khamitov R.A., Seregin Y.A., Sautkina E.N.
Scientific Centre RF, Institute of genetics and selection of industrial microorganisms, Russia, Moscow, 1st Dorozhny proezd, 1

Effective technologies were developed for production of two highly important recombinant biopharmaceuticals – epoetin beta and interferon beta-1a. Cell lines were generated using genetically modified Chinese hamster ovary cells (CHO). Key distinction of developed technologies was modern cell culturing process involving suspension culture in serum-free, chemically defined medium.

Thus, significant advantage can be achieved in terms of biosafety, laboriousness and stability of biotechnological process.

Protein-producing cell lines were initially adapted to suspension culture in medium free from animal-origin materials. For both lines we have developed pilot cell culturing techniques in 5L glass bioreactor. As a result of process optimization we achieved following parameters for interferon beta-1a: final cell density was $5x10^6$ cells/ml, process duration was 7 days, and productivity was 15mg/l; for epoetin beta: final cell density was $9x10^6$ cells/ml, process duration was 9 days, and productivity was 105mg/l. The content of highly glycosylated isoforms similar to those in human Epo was 40-50%.

The technology for purification of human interferon beta-1a from culture supernatant was developed using zinc-chelating chromatography. As a result of three stages of purification we achieved protein yield 37% with purity over 95%. For purification of epoetin beta we used previously developed technology involving affinity chromatography that normally demonstrate protein yield of 55% with purity over 95%. The quality of purified protein substances meets the requirements of European pharmacopeia.

ПЕКАРСКИЕ ДРОЖЖИ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* — ПРОДУЦЕНТЫ БЕЗМЕТИОНИНОВЫХ ФОРМ ИНТЕРФЕРОНА АЛЬФА-2В И СОМАТРОПИНА ЧЕЛОВЕКА: НОВЫЕ РЕАЛИИ ДЛЯ СТАРЫХ БЕЛКОВ

Козлов Д.Г., Чеперегин С.Э., Губайдуллин И.И., Казаченко К.Ю., Ефремов Б.Д., Честухина Г.Г., Залунин И.А., Котлова Е.К., Рябиченко В.В., Булушова Н.В., Яковенко А.Р.[1], Казаров А.А.[1], Глазунов А.В., Черноморова Н.О., Ездаков И.Н.

ФГУП ГосНИИгенетика, Россия, Москва, 117545, 1-ый Дорожный проезд, д.1

[1]*Фармапарк, ООО (ГК «Биопроцесс»), 117246, Москва, Научный проезд, д.8 стр.1*

Биотехнология лекарственных белков все более технологизируется и сводится к операциям с применением ограниченного набора инструментов. К сожалению, в настоящее время один из классических компонентов этого набора – пекарские дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, прежде широко используемые в качестве платформы для биосинтеза секретируемых белков, не находят должного применения.

Однако, конкурентный потенциал дрожжей-сахаромицетов далеко не исчерпан, что доказано нами на примерах разработки технологий получения лекарственных белков – интерферона альфа-2b и соматропина человека в форме секретируемых в культуральную среду белков, не содержащих N-концевого метионина.

Путем рациональной оптимизации генетических факторов — дозы и локализации целевых генов, протеолитической активности клеток, уровня и локализации процессирующей протеиназы KEX2, а также путем разработки уникальных лидерных последовательностей сконструированы штаммы дрожжей *S.cerevisiae* — продуценты безметиониновых форм интерферона альфа-2b и соматропина человека. В оптимизированных условиях культивирования в биореакторе в течение 60-90 ч продуценты обеспечивают накопление свыше 1 г интерферона и до 2.7 г соматропина в литре культуральной среды. Разработаны методики выделения и очистки, позволяющие получать биологически активные интерферон и соматропин с выходом около 50%, чистотой свыше 97% и иммуногенностью, существенно ниже, чем у стандартных образцов сравнения. Таким образом, созданные на классической основе новые технологии позволили превзойти показатели лучших мировых аналогов.

BAKER'S YEAST *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* AS A PRODUCER OF METHIONINELESS FORMS OF HUMAN INTERFERON ALPHA 2B AND SOMATROPIN: NEW REALITIES FOR OLD PROTEINS

Kozlov D.G., Cheperegin S.E., Gubaydullin I.I., Kazachenko K.Y., Efremov B.D., Chestukhina G.G., Zalunin I.A., Kotlova E.K., Ryabichenko V.V., Bulushova N.V., Yakovenko A.R., Kazarov A.A., Glazunov A.V., Chernomorova N.O., Ezdakov I.N.

State Scientific Center «Institute of Genetics and Selection of Industrial Microorganisms», 1-st Dorozhny proezd, 1, Moscow, 117545, Russia

Pharmapark LLC (Bioprocess Group), Build.1, 8, Nauchny proezd, Moscow, 117246, Russia

Biotechnology of therapeutic proteins becomes increasingly technologized and reduced to routine operations with a limited collection of species. Unfortunately, one of the classic organism from this collection, baker's yeast *Saccharomyces cerevisiae* that was frequently employed earlier as a platform for biosynthesis of secreted proteins, has no proper practice now.

However, competitive ability of saccharomycetes as a biosynthetical platform is far from being exhausted as we have demonstrated by developing technologies for production of human therapeutic proteins interferon alpha 2b and somatropin in the form of proteins secreted into the culture medium and containing no N-terminal methionine residue.

By rational optimization of genetic and biochemical factors (dose and localization of genes of interest; cell proteolytic activity; level and localization of processing proteinase KEX2; design of unique leader sequences) *S. cerevisiae* strains were constructed producing methionineless forms of interferon alpha 2b and somatropin. When grown in a bioreactor for 60-90 h under the optimised conditions, these strains secrete over 1g of interferon and up to 2.7g of somatropin per one liter of the culture medium. Original isolation and purification techniques were developed to obtain biologically active interferon and somatropin from the culture liquid with the yield ~ 50%, purity >97% and immunogenicity that is significantly below standard referent examples. Thus, the new embodiments rose on the classical foundation have allowed us to surpass the best world hits.

ГУМАНИЗАЦИЯ МЫШИНОГО АНТИТЕЛА НА ПРИМЕРЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА OM-RCA-01, РАЗРАБАТЫВАЕМОГО КОМПАНИЕЙ ОНКОМАКС

Тимофеев И.В.[1,2], **Завелева Э.В.**[2], **Low W.**[3]

[1]*Бюро по изучению рака почки,*

[2]*Компания «Онкомакс», ул. Большая Якиманка, 1, Москва, Россия;*

[3]*Компания «PX Therapeutics», 7, parvis Louis Néel, Grenoble, France*

Одним из механизмов развития почечно-клеточного рака (ПКР) является путь, реализуемый через фактор роста фибробластов (ФРФ) и его рецептор 1 типа (ФРФР1).

Терапевтическое моноклональное антитело OM-RCA-01 (ООО «Онкомакс») блокирует ФРФР1, тем самым, препятствует связыванию рецептора с ФРФ и проведению сигнала в клетку. OM-RCA-01 является гуманизированным высокоаффинным моноклональным антителом. Путем гуманизации белок в мышином антителе, полученном гибридомным методом, был заменен на человеческий белок на 92%, при этом антиген-связывающий участок остался без изменений, что обусловило изначально высокую аффинность (Kd OM-RCA-01 = 1,59 nM). Также была продемонстрирована высокая специфичность антитела и возможность блокирования нескольких изоформ ФРФР1.

В эксперименте *in vitro* клетки человеческого ПКР линии Caki-1, экспрессирующей ФРФР1, были культивированы в среде ФРФ с добавлением OM-RCA-01 или неспецифического IgG

в концентрациях 1-100 мкг/мл. В качестве контроля часть клеток осталась без лечения. В среде ФРФ без добавления OM-RCA-01 отмечена пролиферация клеток ПКР (P=0.011). Антитело OM-RCA-01 полностью нивелировало эффекты стимуляции клеток. Ранее было отмечено, что антитело блокирует аутофосфорилирование рецептора ФРФР1.

В эксперименте *in vivo* самкам мышей CR NCr nu/nu (6-12 недель) была перевита опухоль ПКР линии Caki-1. Мыши были рандомизированы в группы контроля (без лечения), неспецифического IgG или OM-RCA-01 (концентрации 1 или 10 мг/кг) по 10 животных в группе. Лечение OM-RCA-01 достоверно угнетало опухолевый рост (P=0,006) уже на 13-й день от начала эксперимента. Назначение антитела в максимальной дозе 10 мг/кг не приводило к развитию выраженной токсичности.

Таким образом, полученное моноклональное антитело OM-RCA-01 является высокоаффинным гуманизированным терапевтическим антителом с выраженной терапевтической активностью в отношении рака почки.

HUMANIZATION OF MONOCLONAL ANTIBODY OM-RCA-01 (ONCOMAX LTD.)

Tsimafeyeu I.[1,2], **Zaveleva E.**[2], **Low W.**[3]

[1]*Kidney Cancer Research Bureau,*

[2]*OncoMax Ltd., Bolshaya Yakimanka, 1, Moscow, Russia;*

[3]*PX Therapeutics, 7, parvis Louis Néel, Grenoble, France*

Fibroblast growth factor (FGF) receptor 1 (FGFR1) is a potential therapeutic target for the treatment of metastatic RCC. We investigated the preclinical activity of OM-RCA-01, a novel therapeutic humanized anti-FGFR1 antibody with high affinity (Kd of 1.59 nM), in RCC.

To assess the effect of anti-FGFR1 antibody on FGF-mediated signaling, the human renal carcinoma Caki-1 FGFR1-expressing cells were dosed with OM-RCA-01 at 100, 10, and 1 mcg/ml or control IgG. Control wells were left untreated. Three hours after dosing, bFGF was added at a concentration of 50 ng/ml. Additional control wells were treated with OM-RCA-01 without FGF-stimulation.

CR female NCr nu/nu mice were set up with 1 mm^3 Caki-1 tumor fragments sc in flank. Tumor sizes were measured in a blind fashion twice a week with a vernier caliper. Mice with established tumors were randomly divided into vehicle, non-specific IgG or OM-RCA-01 groups per 10 animals in group. Endpoint was significant differences in tumor growth delay.

In vitro study showed that bFGF increased proliferation of the human FGFR1-expressing renal carcinoma cells (P=0.011). OM-RCA-01 antibody significantly inhibits FGF-triggered cell proliferation in comparison with control. *In vivo,* the tumors in untreated mice or mice treated with non-specific IgG continued their aggressive growth to reach the size of 2000 cm3, at which point the mice were killed. In contrast, treatment with OM-RCA-01 not only significant arrested further growth of the tumors (P=0.006) but also demonstrated differences in tumor volume compared with vehicle already on Day 13. Administration of 10 mg/kg antibody for up to 35 days resulted in minimal body weight loss and no observations of gross toxicity were made.

Targeting FGFR1 blocks FGF/FGFR1 pathway in RCC. Monoclonal antibody OM-RCA-01 has significant early anti-tumor efficacy in Caki-1 xenograft model. Isolated blocking of FGFR1 by low-dose antibody could be safe and effective.

ГЕННОТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ: ОТ РАЗРАБОТКИ ДО ВЫХОДА НА РЫНОК (НА ПРИМЕРЕ ПЕРВОГО ОТЕЧЕСТВЕННОГО ГЕНОТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА «НЕОВАСКУЛГЕН»

Деев Р.В., Киселев С.Л., Исаев А.А.
Институт стволовых клеток человека, г. Москва, ул. Губкина д. 3, стр. 2

В конце 2011 года в России был зарегистрирован первый в Европе и третий в мире генотерапевтический препарат – «Неоваскулген», представляющимй собой плазмидную конструкцию с геном VEGF165, чем по сути открыт новый класс лекарственных препаратов, на основе кодирующих ДНК. Доклинические и клинические исследования препарата осуществлялись в рамках регистрационных действий на основании действующего в России законодательства.

Всего во все фазы многоцентровых рандомизированных контролируемых клинических исследований было включено 145 пациентов с неоперабельной хронической ишемией нижних конечностей II-III ст. тяжести (45 пациентов – в 1-2а фазу клинических исследований, 100 – в 2б-3 фазу), которые получали стандартную консервативную терапию.

В результате исследований показано, что препарат безопасен и хорошо переносится. Исследования 2б-3 фазы подтвердили эффективность включения плазмидной генной конструкции в состав комплексной терапии. Через 6 мес. длина безболевой ходьбы у пациентов в среднем увеличивалась на 110%, что статистически значимо отличалось от контроля (P=0,0001). Также отмечено значимое улучшение и по второстепенным критериям эффективности: лодыжечно-плечевому индексу, тканевому напряжению кислорода, линейной скорости кровотока. Ангиографически определено усиление контрастирования микроциркуляторного русла за счет новообразованных коллатеральных сосудов по сравнению с исходной картиной. При интегральной оценке результатов лечения показано, что частота успешных исходов за период 6 мес. в клинической группе (94,0%) была значимо больше, чем в контрольной — 37,5% (P=0,0001). Последующее отсроченное наблюдение за пациентами в течение 2-х лет позволяет констатировать нарастание положительной динамики в течение первого года и стабильность в течение второго года наблюдений, что позволяет рассматривать необходимость введения препарата в клиническую практику.

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПЕГИЛИРОВАННЫХ ИНТЕРФЕРОНОВ

Чистяков В.В., Абрамович Р.А., Обидченко Ю.А.
Центр научных исследований и разработок ЦКП РУДН,
117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.6.

Поиски путей повышения эффективности лечения больных с вирусным гепатитом С увенчался разработкой пегилированных форм интерферона. Метод пегилирования в настоящее время широко применяется для повышения эффективности биологически активных веществ путем присоединения к ним молекул нетоксичного инертного полиэтиленгликоля (ПЭГ). Разветвленный ПЭГ обеспечивает большую защиту пегилированных интерферонов от протеолиза в сравнении с немодифицированными белками или белками с присоединенными линейными молекулами ПЭГ. Интерферон альфа-2b, конъюгированный с ПЭГ под торговым названием Пегинтрон представляет собой ковалентное соединение линейной молекулы ПЭГ с молекулярной массой 12 kDa к нативному интерферону. В пегилированном интерфероне альфа-2a, выпускаемом под торговым названием Пегасис интерферон соединен с разветвленной цепью

ПЭГ, имеющей более высокую молекулярную массу — 40 kDa. Технология пегилирования позволила устранить свойственные традиционным препаратам интерферона альфа широкие колебания сывороточной концентрации действующего вещества и получить лекарственные средства с улучшенными фармакокинетическими и фармакодинамическими параметрами. В 2009 г был выполнен обзор рандомизированных клинических исследований, посвященных сравнению двух рассматриваемых пегинтерферонов, в котором обобщены результаты 13 исследований. Было установлено, что частота устойчивого вирусологического ответа при лечении пегинтерфероном альфа-2a выше, чем при лечении пегинтерфероном альфа-2b. Фармакокинетика пегилированных интерферонов альфа-2a и 2b характеризуется медленным всасыванием и длительным периодом элиминации. Для интерферона альфа-2a эти показатели выше, чем для интерферона альфа-2b – время достижения максимальных концентраций 70 ч против 30 ч и период полуэлиминации из системного кровотока 80 ч против 50 ч, соответственно.

COMPARATIVE TECHNOLOGICAL CHARACTERISTICS AND PHARMACOLOGICAL PROPERTIES OF PEGYLATED INTERFERON

Chistyakov V.V, Abramovich R.A, Obidchenko Y.A.
Center for Research and Development CCP RUDN, 117198, Miklucho-Maklay ct.6., Moscow, Russia

The search for ways to improve the treatment of patients with viral hepatitis C culminated in the development of pegylated interferon forms. Method of pegylation is now widely used to improve the effectiveness of biologically active substances by attaching to them non-toxic inert molecule of polyethylene glycol (PEG). Branched PEG provides greater protection from proteolysis of pegylated interferon compared with unmodified proteins or proteins with attached linear PEG molecules. Interferon alfa-2b, PEG conjugated (trade name PegIntron) is a covalent connected linear PEG molecules with a molecular mass of 12 kDa to the native interferon. In the pegylated interferon alfa-2a, (trade name Pegasys) interferon is connected to the branched PEG having a higher molecular mass — 40 kDa. Technology of pegylation has allowed to eliminate of traditional drug interferon-alpha wide variations in serum concentrations of the active substance and to get drugs with improved pharmacokinetic and harmacodynamic parameters. In 2009, was completed review of randomized clinical trials comparing the two considered peginterferon, which summarizes the results of 13 studies. It was found that the frequency of sustained virologic response in treatment with peginterferon alfa-2a is higher than in the treatment of peginterferon alpha-2b.

The pharmacokinetics of pegylated interferon alfa-2a and 2b are characterized by slow absorption and prolonged elimination period. For interferon alfa-2a these indicators are higher than for interferon alpha 2b — time to reach maximum concentrations is 70h vs 30h and the half-life is 80h vs 50h , respectively.

ХИМЕРНЫЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА, ЗАЩИЩАЮЩИЕ ОТ ЗАБОЛЕВАНИЯ КЛЕЩЕВЫМ ЭНЦЕФАЛИТОМ

Тикунова Н.В.
Учреждение РАН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск 630090, пр. ак. Лаврентьева, 8
E-mail: tikunova@niboch.nsc.ru

Антитела относительно давно стали применять в терапии ряда заболеваний, включая вирусные инфекции, благодаря исключительным свойствам этих биомолекул – высокой специфичности, наличию эффекторных функций, вовлеченности естественных механизмов в фармакокинетику введенных антител. В настоящие время для лечения клещевого энцефалита применяют сывороточный иммуноглобулин, обладающий, как и все препараты, полученные из донорской крови, определенными недостатками. С целью создания альтернативного препарата в ИХБФМ СО РАН сконструировано химерное антитело против гликопротеина Е вируса клещевого энцефалита.

Панель вируснейтрализующих моноклональных антител мыши была протестирована по способности защищать модельных животных от летальной инфекции вирусом клещевого энцефалита. На основе вариабельных доменов протективного моноклонального антитела мыши и константных доменов иммуноглобулина человека было сконструировано химерное антитело, связывающее белок Е с наномолярной аффинностью. Получена стабильная линия клеток CHO, продуцирующих это антитело, отработаны способы его очистки из культуральной жидкости. В экспериментах на модельных животных было показано, что протективные свойства созданного химерного антитела превышают протективные свойства коммерческого препарата сывороточного иммуноглобулина человека.

CHIMERIC THERAPEUTIC ANTIBODY ABLE TO PROTECT FROM TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS

Tikunova N.V.[1]
Institute of chemical biology and fundamental medicine SB RAS, Lavrentiev Ave.8, Novosibirsk, 630090, Russia
E-mail: tikunova@niboch.nsc.ru

Antibodies are used for therapy for a long time due to their exceptional properties – high specificities, availability of effector functions, and involvement of natural mechanisms in pharmacokinetics of administrated antibodies. Currently, serum immunoglobulin is used for tick-borne encephalitis treatment and, like other preparations obtained from donor's blood, it has some disadvantages. In order to produce an alternative preparation, a chimeric antibody against glycoprotein E of tick-borne encephalitis virus was developed in ICBFM SB RAS.

A panel of neutralizing mouse monoclonal antibodies was tested in the model animal protection experiments using lethal doses of tick-borne encephalitis virus. A chimeric antibody binding protein E with nanomolar affinities was constructed based on the variable domains of protective mouse monoclonal antibody and human IgG constant domains. Then, stable CHO cell line producing this antibody was obtained and procedure of its purification from culture medium was worked out. It was shown in the model animal experiments that protectivity of this chimeric antibody was higher than protectivity of commercial preparation of serum immunoglobulin.

ДИКОРАСТУЩИЕ КОЛХИДСКИЕ ОРХИДЕИ И ИХ СОХРАНЕНИЕ КАК ОБЪЕКТОВ ПРОСВЕЩЕНИЯ И ПРОДУЦЕНТОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СУБСТАНЦИЙ

Аверьянова Е.А.[1], **Харута Л.Г.**[2]**Рыбалко А.Е.**[2], **Скипина К.П.**[2]

[1]*Член Сочинского отделения Российского географического, общества*
E-mail: drjoma-zimovnikova@rambler.ru
[2]*Сочинский институт Российского университета дружбы народов,*
354340, г. Сочи, ул. Куйбышева, 32,
E-mail: sfrudn@rambler.ru, Факс: +7 (8622) 411043

В районе Большого Сочи, по данным Солодько и Макаровой (2011г.) встречается 46 видов наземных орхидей, многие из них произрастают на границе ареала. Как правило, это редкие растения, занесенные в Красную Книгу РФ и региональные Красные Книги, немало их находится на грани исчезновения, а некоторые в последние годы на территории Сочинского Причерноморья учеными уже не обнаруживаются.

Растительность узкой полосы прибрежного низкогорья, относящаяся к колхидскому ботаническому типу, находится под колоссальным антропогенным прессом. Населенные пункты разрастаются и захватывают всё новые склоны и так весьма ограниченной площади колхидских субтропических лесов. Солидная часть их отошла под олимпийское строительство. Рекреационное воздействие ширится и усиливается.

Совместно с научно-образовательным центром «Биотехнология» сочинского института РУДН проводятся исследования по разработке технологии массового производства оздоровленных растений орхидеи методами культуры in vitro для восстановления исчезающих ареалов. Эти разработки будут использованы для организации научного туризма, практического применения в производстве биологически активных веществ, изучения пораженности ценных дикорастущих растений Кавказа контаминирующей инфекцией (главным образом вирусной), отработка техники получения неконтаминированных каллусных культур, кондиционирование условий микроразмножения ценных растений, разработки технологии получения промышленных партий растительного сырья (каллус, интактные растения).

ПОСТЕРЫ
POSTERS

СРАВНЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ И ИММУНОХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ РЕКОМБИНАНТЫХ scFv И Fab ФРАГМЕНТОВ АНТИТЕЛ TnIMAB, СПЕЦИФИЧНЫХ К ТРОПОНИНУ I СЕРДЦА ЧЕЛОВЕКА

Альтшулер Е.П., Серебряная Д.В., Постников А.Б., Катруха А.Г.
Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова,
Биологический факультет, кафедра биохимии
119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, МГУ, д. 1, стр. 12

Сердечная изоформа тропонина I человека (hcTnI) является надежным маркером повреждения кардиомиоцитов, сопутствующего таким серьезным сердечно-сосудистым заболеваниям, как инфаркт миокарда. Моноклональные антитела TnIMAB с высокой аффинностью распознают hcTnI и используются в современных диагностических системах для количественного определения hcTnI в крови. Использование рекомбинантных антител и их фрагментов позволяет усовершенствовать существующие диагностические системы, что представляет собой актуальную биомедицинскую задачу как с научной, так и с прикладной точек зрения.

Из-за технической сложности получения полноразмерных рекомбинантых антител для реализации различных научно-практических задач используют главным образом их рекомбинантные фрагменты. Среди таких фрагментов наиболее широко используемыми являются Fab и scFv фрагменты. Fab фрагменты обладают бóльшей аффинностью и стабильностью, а несомненным преимуществом scFv фрагментов является их небольшой размер и экспрессия в виде единственной полипептидной цепи. В связи с этим целью данной работы было получить scFv и Fab фрагменты и сравнить их выход при получении, биохимические и иммунохимические свойства между собой, а также с полноразмерными антителами.

Участки генов легкой цепи и тяжелой цепи, соответствующие scFv и Fab фрагментам, были встроены в плазмиды pET22b+ и pET23a+ для получения конструкций как для экспрессии в растворимой, так и в нерастворимой форме. Однако при экспрессии и Fab, и scFv фрагменты были обнаружены в нерастворимой фракции. Выход очищенных иммунохимически активных scFv фрагментов составил 5 мг/л культуральной среды, а Fab фрагментов – 2,5 мг/л. Аффинность (K_D) антител, определенная методом поверхностного плазмонного резонанса, составила около 3 нМ и достоверно не отличалась у рекомбинантных Fab, scFv и Fab фрагментов, полученных энзиматически. При использовании в различных детектирующих системах («сэндвич» с прямой сорбцией scFv/Fab на подложку, «сэндвич» с сорбцией биотинилированных scFv/Fab на стрептавидиновые планшеты, детекция hcTnI scFv/Fab фрагментами, конъюгированными с хелатом европия) scFv и Fab фрагменты уступают полноразмерным антителам, что может быть связано с их авидностью. Таким образом, наши исследования показывают, что рекомбинантные scFv и Fab фрагменты, специфичные к hcTnI, обладают всеми необходимыми иммунохимическими свойствами для их использования в диагностических системах.

COMPARISON OF BIOCHEMICAL AND IMMUNOCHEMICAL PROPERTIES OF THE RECOMBINANT scFv AND Fab FRAGMENTS OF ANTIBODIES TnIMAB SPECIFIC TO HUMAN CARDIAC TROPONIN I

Altshuler E.P., Serebryanaya D.V., Postnikov A.B., Katrukha A.G.
Lomonosov Moscow State University, School of Biology, Department of Biochemistry
119991, Moscow, GSP-1, Leninskie gory, MSU, 1 bld. 12

Cardiac isoform of human troponin I (hcTnI) is a reliable marker of the cardiomyocyte damage which accompanies such severe cardiovascular diseases as myocardiac infarction. Monoclonal antibodies TnIMAB are able to recognize hcTnI with high affinity. They are widely used in modern diagnostic systems for quantitative identification of hcTnI in blood. Usage of recombinant antibodies and their fragments allows improving of existing diagnostic systems and, therefore, is of a big value in fundamental and applied fields of modern biomedicine.

Because of the technical difficulties of the whole molecule recombinant antibodies production their fragments are generally used for the implementation of different fundamental and applied tasks. Fab and scFv fragments are the most widespread among them. Fab fragments are characterized by higher affinity and stability. And scFv fragments have an advantage of being of small size and having a single chain. In this study, we produced scFv and Fab fragments, compared their production yield, biochemical and immunochemical properties to each other and with the whole molecule antibodies.

Light chain and heavy chain gene regions corresponding to scFv and Fab fragments were subcloned into pET22b+ and pET23a+ plasmids for periplasmic production as well as for their production in the insoluble form. However, expressed Fab and scFv fragments were found in the insoluble fraction. The total yield of purified immunochemically active scFv fragments accounts for 5 mg per 1L of cell suspension, and the yield of Fab fragments averages 2.5 mg/L. Antibody affinity (K_D) identified by surface plasmon resonance approach approximates 3 nM and was not significantly different from recombinant Fab, scFv fragments and Fab fragments obtained enzymatically. However, it turned out that in hcTnI detecting systems we tested (such as sandwich with the direct adsorption of scFv/Fab to the support; sandwich with the adsorption of biotinylated scFv/Fab to the support covered by streptavidin and detection of hcTnI by scFv/Fab fragments conjugated to europium chelate) antibody fragments were not as immunochemically active as the whole molecule antibodies. It could be connected with the avidity of the whole molecule antibodies. Thus, according to our studies recombinant Fab and scFv fragments specific to hcTnI demonstrate all necessary immunochemical properties for being used in diagnostic systems.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ RIBA И RIBG ШТАММОВ *BACILLUS SUBTILIS* И СОЗДАНИЕ НА ИХ ОСНОВЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ НА ОКСИДАТИВНЫЙ СТРЕСС

Филиппенков И.Б.[1], **Белодед А.В.**[1], **Склярова С.А.**[2], **Миронов А.С.**[2], **Кузнецов А.Е.**[1]
[1]*Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева,*
125047, Москва, Миусская пл., д. 9
[2]*Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов, 117545, Москва, 1-й Дорожный пр-д, д. 1*

Разработка биологических тест-систем является перспективным направлением в развитии и совершенствовании методов аналитической биологии. В частности тест-системы позволяют разрабатывать системы управления биосинтезом на уровне детекции генетических ответов на

различные виды стресса. Подобную концепцию предлагается реализовать на примере создания системы управления биосинтезом рибофлавина продуцентами *Bacillus subtilis*.

Целью настоящего исследования являлась апробация тест-системы на основе генов *ribA* и *ribG* рибофлавинового оперона *Bacillus subtilis,* используемых в качестве индикаторов на умеренный оксидативный стресс (ОС), и изучение механизмов регуляции этих генов в условиях ОС.

На основе штаммов *B. subtilis RKH25* и *RKH25 hisrib*C$^-$ были сконструированы трансляционные фьюзы *ribA-lacZ* и *ribG-lacZ*, β-галактозидазная активность которых определялась с помощью модифицированного метода Миллера. Изучалась экспрессия генов *ribA* и *ribG* во внестрессовых условиях и в условиях ОС, моделированного различными агентами. Было исследовано влияние флавинов на экспрессию *ribA* и *ribG,* и подобрана приемлемая питательная среда для культивирования.

По характеру экспрессии *ribA* и *ribG* прослеживается два вида клеточных ответов на различные агенты ОС. В частности типичные генераторы АФК (пероксид водорода, рибофлавин) увеличивают экспрессию *ribA* и снижают экспрессию *ribG*, при этом их экспрессия является *red/ox*-зависимой. Также в условиях ОС до двух раз возрастает каталазная активность штаммов. Иные агенты, в частности паракват, усиливают экспрессию обоих генов, при этом эффект мало зависит от *red/ox*-окружения, однако, установлено, что экспрессия в этом случае является цистеин-зависимой. Перечисленные факты позволяют применять разрабатываемую тест-систему в качестве классификатора ОС-агентов по характеру изменения экспрессии генов *ribA* и *ribG*.

MODELING OF EXPRESSION OF RIBA AND RIBG GENES IN *BACILLUS SUBTILIS* STRAINS AND CREATION OF BIOLOGICAL TEST-SYSTEM TO OXIDATIVE STRESS ON THEIR BASIS

Filipenkov I.B.[1], **Beloded A.V.**[1], **Mironov A.S.**[2], **Sklyarova S.A.**[2], **Kusnetzov A.E.**[1]

[1]*D. Mendeleev 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*

Creation of biological test-systems is promising for the development and improvement of methods of analytical biology. In particular test-system may allow the engineering of control systems by biosynthesis at the level of detection of genetic responses to various kinds of stress. A similar concept is proposed to implement for example of a system for management of biosynthesis of riboflavin by producers *Bacillus subtilis*.

The purpose of this study was creation a test-system, based on *ribA* and *ribG* genes of riboflavin operon of *Bacillus subtilis*, used as indicators of a moderate oxidative stress (OS) and to study the mechanisms of regulation of these genes in conditions of OS in parallel.

The translational fusions *ribA-lacZ* и *ribG-lacZ* were constructed on the basis of strains *RKH25* and *RKH25 hisribC*$^-$, the activity was determined with a modified method of Miller. Expression of *ribA* and *ribG* genes was studied in unstressable conditions and in conditions of OS, modeled by different agents. The effects of flavins were found on the expression of *ribA* and *ribG* genes, and appropriate medium was picked up for the culturing.

Two types of cellular responses were observed to various agents of the OS by the nature of expression of *ribA* and *ribG* genes. In particular, typical generators ROS (hydrogen peroxide, riboflavin) increase expression *ribA* and decrease expression of *ribG* and expression from these agents was depended on *red/ox*-relationship. Also, catalase activity increased twofold. Other agents, in particular paraquat, increase the expression of both genes and effect depended on the *red/ox*-relationship insignificantly,

however, the cysteine-dependent expression was established. These facts allow to apply this test-system like a classifier of OS-agents on the nature of changing of expression of *ribA* and *ribG* genes.

ПОЛНОРАЗМЕРЫЕ АНТИТЕЛА ЧЕЛОВЕКА, НЕЙТРАЛИЗУЮЩИЕ ВИРУС НАТУРАЛЬНОЙ ОСПЫ И ВИРУС ОСПЫ ОБЕЗЬЯН

Хлусевич Я.А.[1,2], **Тикунова Н.В.**[1], **Морозова В.В.**[1], **Бормотов Н.И.**[2], **Беланов Е.Ф.**[2], **Булычев Л.Е.**[2], **Сергеев А.Н.**[2]

[1]*ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН г. Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 8, 630090, Россия*

[2]*ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», Кольцово, Новосибирская обл., 630559, Россия*

Род *Orthopoxvirus* включает два высокопатогенных для человека вируса: вирус натуральной оспы, и вирус оспы обезьян, вызывающий спорадическое оспоподобное заболевание. Прививка вирусом осповакцины приводит к формированию у вакцинированных людей длительного иммунитета, однако, оспопрививание нередко сопровождается серьезными поствакцинальными осложнениями, вероятность возникновения которых велика для лиц со сниженным иммуннитетом. Вируснейтрализующие антитела играют важную роль в защите организма от ортопоксвирусной инфекции. Одним из возможных подходов к разработке терапевтических антител является создание полноразмерных антител человека с использованием методов фагового дисплея.

Из иммунной комбинаторной фаговой библиотеки одноцепочечных антител человека, сконструированной на основе Vh и Vl генов лимфоцитов периферической крови доноров, вакцинированных вирусом осповакцины, была отобрана панель одноцепочечных антител человека против ортопоксвирусов. Тестирование антител показало, что ряд отобранных фаговых scFv антител способны нейтрализовать вирусы натуральной оспы, оспы обезьян, оспы коров и осповакцины. На основе нейтрализующих одноцепочечных антител были сконструированы полноразмерные человеческие антитела, обладающие наномолярной аффинностью. Эти антитела были способны ингибировать инфекционность вирусов натуральной оспы, оспы обезьян, оспы коров и осповакцины в дозо-зависимой реакции нейрализации.

FULLY HUMAN ANTIBODY NEUTRALIZING *VARIOLLA VIRUS* AND *MONKEYPOX VIRUS*

Khlusevich Ya. A.[1,2], **Tikunova N.V.**[1], **Morozova V.V.**[1], **Bormotov N.I.**[2], **Belanov E.F.**[2], **Bulychev L.E.**[2], **Sergeev A.N.**[2]

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

[2]*Federal State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Novosibirsk reg. 630559, Russia*

Orthopoxvirus genus includes two viruses pathogenic for humans: variola virus – causative agent of smallpox, and monkeypox virus, which causes sporadic smallpox-like zoonotic disease. Vaccination with vaccinia virus elicits prolonged immune response; however disseminated life-threatening infections infrequently occur, especially in immunocompromised individuals. Virus-neutralizing antibodies are very important in host defense against orthopoxvirus infection. One possible approach in developing therapeutic antibodies is constaction fully human antibodies using phage display methods.

A panel of scFv human antibodies to orthopoxviruses was isolated from a combinatorial phage display library of human scFv antibodies constructed from the Vh and Vl genes cloned from the peripheral blood lymphocytes of vaccine-immune donors. Plaque-reduction neutralization tests showed that several selected phage-displaying scFv antibodies neutralized variola, monkeypox cowpox and vaccinia viruses. Neutralizing scFv antibodies were converted into fully human antibodies, showed nanomolar affinity. These antibodies were able to neutralize infectivities of variola, monkeypox cowpox and vaccinia viruses in a dose-dependent manner.

ГЕНЕРАЦИЯ ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ ЛИНИЙ-ПРОДУЦЕНТОВ ФАКТОРА СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ IX ЧЕЛОВЕКА БЕЗ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СТАДИЙ АМПЛИФИКАЦИИ ЦЕЛЕВОГО ГЕНА

Ковнир С.В., Орлова Н.А., Усакин Л.А., Воробьев И.И., Габибов А.Г.
Институт Биоорганической химии РАН,
117997, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10.

Цель исследования: Фактор свертывания крови IX человека является основным лекарственным средством при лечении гемофилии В. Целью настоящей работы является разработка методов генерации высокопродуктивных линий-продуцентов фактора IX человека, полученных с использованием нетранслируемых областей гена фактора элонгации трансляции 1 альфа китайского хомячка.

Результаты: Для экспрессии кДНК фактора IX в клетках CHO был использован специализированный плазмидный вектор p1.1, включающий фрагменты нетранслируемых областей фактора элонгации трансляции 1 альфа китайского хомячка и селекционный маркер дигидрофолатредуктазу. Для получения поликлональной популяции стабильно трансфицированных клеток с максимальным уровнем секреции фактора IX использовали добавление метотрексата в селективную культуральную среду. Было установлено, что уровень секреции фактора IX возрастает при увеличении концентрации метотрексата, при этом время получения популяции стабильно трансфицированных клеток остается практически неизменным. При генерации клональных линий-продуцентов фактора IX методом предельных разведений из поликлональной популяции было обнаружено, что высокопродуктивные клоны составляют более 10% от общего количества проскринированных клональных линий. Концентрация секретируемого фактора IX для данных клонов находилась в диапазоне 2-5,4 МЕ/мл для конфлюентных адгезионных культур.

Выводы: Высокопродуктивные линии-продуценты фактора IX могут быть получены без проведения стадий амплификации целевого гена при использовании плазмидного вектора, содержащего фрагменты гена фактора элонгации трансляции 1 альфа китайского хомячка.

HIGH-LEVEL FACTOR IX PRODUCER CELL LINES GENERATION WITHOUT THE TARGET GENE AMPLIFICATION STAGE

Kovnir S.V., Orlova N.A., Usakin L.A., Vorobiev I.I., Gabibov A.G.
Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Miklukho-Maklaya, 16/10, Moscow, Russia, 117971

Goal and scope: Human coagulation factor IX is a major therapeutic for the treatment of hemophilia B. The goal of the present study is the development of methods for highly productive

factor IX secreting cell lines generation using expression plasmid with untranslated regions of the Chinese hamster elongation factor 1 alpha gene.

Results: A specialized plasmid vector p1.1? containing fragments of untranslated regions of translation elongation factor 1 alpha of Chinese hamster and dihydrofolate reductase as a selection marker was used for factor IX cDNA expression. For obtaining of polyclonal populations of stably transfected cells with the maximum level of factor IX secretion the selective culture medium with the addition of methotrexate was used. It was found that the level of secretion of factor IX is increasing with an increase in the concentration of methotrexate, and the time for stably transfected cell population generation remains virtually unchanged. In the course of clonal factor IX producer cell lines generation by limiting dilution from the polyclonal population it was discovered that highly productive clones represent more than 10% of total screened clonal lines amount. The concentration of secreted factor IX for these clones ranged 2-5,4 IU/ml for confluent adhesive cultures.

Conclusions: High level factor IX producer cell lines can be obtained without amplification of the target gene stages using the plasmid vector containing the translation elongation factor 1 alpha of Chinese hamster gene fragments.

ПОЛУЧЕНИЕ ЭУКАРИОТИЧЕСКОЙ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИЙ — ПРОДУЦЕНТА ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ПРОТЕКТИВНОГО АНТИТЕЛА ПРОТИВ ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

Матвеев А.Л.[1,2], **Байков И.К.**[1], **Бабкина И.Н.**[1], **Рихтер В.А.**[1], **Тикунова Н.В.**[1]

[1]*Учреждение РАН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск 630090, пр. ак. Лаврентьева, 8*

[2]*Новосибирский государственный университет, Новосибирск 630090, ул. Пирогова, 2*

E-mail: guterus@gmail.com

В настоящие время терапия клещевого вирусного энцефалита основана на использовании иммуноглобулина из донорской крови, при которой возникает ряд осложнений. Это делает необходимым разработку новых методов лечения данного заболевания. Один из подходов – создание терапевтических антител, обладающих протективными свойствами к вирусу клещевого энцефалит (ВКЭ) и позволяющих обезвредить вирус в организме больного человека.

На основе протективного моноклонального мышиного антитела было создано химерное антитело против гликопротеина Е ВКЭ путем присоединения к антителу человека фрагмента антитела мыши, прочно связывающего вирус. Созданное химерное антитело обладает сродством порядка 10^{-9} М. Затем была получена стабильная линия эукариотических клеток продуцирующих это химерное антитело. После получения стабильного клона были оптимизированы условия для наработки рекомбинантного антитела в препаративных количествах, подобраны условия очистки химерного антитела из культуральной жидкости. Было показано, что введение химерного антитела в дозировке 1 мг/мл мышам, зараженным 250 летальными дозами ВКЭ, обеспечило 100% выживаемость животных. Защитные свойства сконструированного антитела в 100 раз превышают защитные свойства коммерческого препарата противоклещевого иммуноглобулина, выделяемого из донорской крови.

SELECTING OF EUKARYOTIC CELL LINES-PRODUCER OF RECOMBINANT THERAPEUTIC NEUTRALIZING ANTIBODIES AGAINST TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS

Matveev A.L.[1,2], **Baykov I.K..**[1], **Babkina I.N.**[1], **Richter V.A.**[1], **Tikunova N.V.**[1]
[1]*Institute of chemical biology and fundamental medicine SB RAS l, Lavrentiev Ave.8, Novosibirsk, 630090, Russia*
[2]*Novosibirsk student university, Pirogova str. 2, Novosibirsk 630090, Russia.*
E-mail: guterus@gmail.com

Currently, treatment of tick-borne viral encephalitis, that has a number of complications, is based on using of immunoglobulin obtained from blood. Those complications make it necessary to develop new treatments for this disease. One possible approach is to create of therapeutic antibodies (Ab) having protective properties against tick-borne encephalitis virus (TBEV) and allowing the body to neutralize virus in an infected person.

Based on the protective monoclonal mouse antibody, chimeric antibody against glycoprotein E TBEV was created by attaching to human antibody fragment of the murine antibody binding firmly the virus. Chimeric antibody obtained has an affinity order of 9.10 M. Then stable eukaryotic cell line producing a chimeric antibody was obtained. After obtaining stable clones, conditions for production of recombinant antibodies in preparative amounts were optimized, conditions purification chimeric antibody from the culture fluid were selected. It was shown that the injection of a chimeric antibody in a dosage of 1 mg / ml to mice infected with 250 lethal doses of TBEV has provided 100% survival of animals. Protective properties of the antibody constructed are 100 times higher than the protetive properties of the drug business immunoglobulin obtained from the blood.

ПОЛУЧЕНИЕ ЛИНИИ-ПРОДУЦЕНТА ФАКТОРА СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ VIII ЧЕЛОВЕКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НЕТРАНСЛИРУЕМЫХ ОБЛАСТЕЙ ГЕНА ФАКТОРА ЭЛОНГАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ 1 АЛЬФА КИТАЙСКОГО ХОМЯЧКА

Орлова Н.А.[1], **Ковнир С.В.**[1], **Воробьев И.И.**[1], **Габибов А.Г.**[1], **Воробьев А.И.**[2]
[1]*Институт Биоорганической химии РАН,*
117997, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10.
[2]*ФГБУ Гематологический научный центр МЗСР РФ,*
125167, Москва, Новый Зыковский проезд, д.4а.

Цель исследования: Фактор свертывания крови VIII человека является основным лекарственным средством при лечении гемофилии А. Ранее нами была получена линия клеток CHO, секретирующая делеционный вариант фактора VIII с продуктивностью около 0,5 МЕ/мл. Целью настоящей работы является получение и характеризация более продуктивных линий-продуцентов фактора VIII с использованием промотора и регуляторных областей активно экспрессирующегося гена клетки-хозяина.

Результаты: Был сконструирован специализированный плазмидный вектор p1.1, включающий фрагменты нетранслируемых областей фактора элонгации трансляции 1 альфа китайского хомячка. Было исследовано два способа генерации клональных линий-продуцентов фактора VIII – получение пула стабильно трансфицированных клеток с последующей селекцией клонов при различных концентрациях метотрексата и прямая генерация клональных линий при концентрации метотрексата 50 нМ. При использовании первого способа были отобраны три линии-продуцента с продуктивностью 6-10 МЕ/мл в адгезионной культуре, при использовании второго способа – одна линия с продуктивностью 5,4±0,5 МЕ/мл. После реадаптации линий

к суспензионному культивированию для линии 1-C8 была зафиксирована концентрация фактора VIII 25 МЕ/мл при плотности клеток 2 млн/мл. Целевой белок был охарактеризован методами иммуноблоттинга и коагулометрии.

Выводы: Линии-продуценты фактора VIII, полученные с помощью плазмидного вектора, содержащего фрагменты гена фактора элонгации трансляции 1 альфа китайского хомячка, обладают высокой продуктивностью и секретируют процессированный и биологически активный продукт.

GENERATION OF A HIGH-LEVEL FACTOR VIII PRODUCER CELL LINE USING EXPRESSION SYSTEM BEARING UNTRANSLATED REGIONS OF THE ELONGATION FACTOR 1 ALPHA GENE OF CHINESE HAMSTER

Orlova N.A.[1], **Kovnir S.V.**[1], **Vorobiev I.I.**[1],**Gabibov A.G.**[1], **Vorobiev A.I.**[2]

[1]*Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Miklukho-Maklaya, 16/10, Moscow, Russia, 117971*

[2]*Hematology Research Centre Ministry of Healthcare and Social Development of the Russian Federation, Novyj Zykovsky Proezd 4a, Moscow, Russia, 125167*

Goal and scope: Human coagulation factor VIII is a major therapeutic for hemophilia A treatment. Previously we have obtained a CHO cell line, secreting deletion variant of factor VIII with a productivity of about 0.5 IU/ml. The aim of the present study was the generation and characterization of more productive cell lines secreting factor VIII using expression vector with promoter and regulatory areas from the highly expressed gene of the host cell.

Results: A specialized plasmid vector p1.1, containing untranslated regions of translation elongation factor 1 alpha gene from Chinese hamster was designed.

Two methods of clonal cell lines generation were investigated – creation of stably transfected cells poll and subsequent clones selection of clones under selective pressure of various methotrexate concebtration or direct generation of clonal lines in the selection medium, containing 50 nM of methotrexate. Three lines with productivity 6-10 IU/ml in adhesion culture were selected using the first method, one line with the productivity of 5,4±0,5 IU/ml was selected using the second method. After re-adaptation of producer lines to suspension cultivation maximal concentration of factor VIII achieved was 25 IU/ml at the cell density 2 mln/ml. Target protein was characterized by immunoblotting and blood coagulation test.

Conclusions: Factor VIII producer cell lines, obtained using expression system with untranslated regions of the Chinese hamster elongation factor 1 alpha gene are highly productive and secrete processed and biologically active product.

КОНСТРУИРОВАНИЕ ГЕННО-ИНЖЕНЕРНЫХ АНАЛОГОВ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ПЕПТИДА ЖЕНСКОГО МОЛОКА ЛАКТАПТИНА

Потапенко М.О., Савельева А.В., 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

Одним из биологически активных пептидов женского молока является фрагмент к-казеина лактаптин, который вызывает апоптотическую гибель клеток аденокарциномы молочной железы человека MCF-7 в культуре. Ранее методом MALDI MS/MS масс-спектрометрии было показано,

что лактаптин является фрагментом каппа-казеина человека с 66 по 123 аминокислоту и его молекулярный вес составляет 8,6 кДа. При этом точная аминокислотная последовательность N-конца исследуемого пептида осталась невыясненной.

Целью данной работы является точное определение N-концевой последовательности лактаптина и создание рекомбинантных аналогов, соответствующих первичной структуре природного пептида.

Обработка результатов секвенирования лактаптина по Эдману и данных масс-спектрометрии позволяет предположить две возможные N-концевые последовательности, соответствующие фрагментам к-казеина человека с 31 по 102 и с 49 по 122 аминокислоты.

Основываясь на полученных данных, кДНК, соответствующие фрагментам к-казеина 31 – 102 и 49 - 122 были клонированы в систему экспрессии *pTwin1*. Экспрессия вектора *pTwin1* в клетках *E. coli* позволяет получать химерный белок, содержащий на N-конце хитин-связывающий домен, соединенный с дрожжевым интеином *Ssp* DnaB и одной из последовательностей лактаптина. В полученных химерных белках интеин подвергается автокаталитическому расщеплению с освобождением целевых пептидов.

Работа поддержана грантами: РФФИ № 10-04-01109-а, № 11-04-12100 офиМ, ФЦП “Научные и научно-педагогические кадры инновационной России” № 02.740.11.0715 и ФЦП “Развитие фармацевтической и медицинской промышленности РФ на период с 2020 года и дальнейшую перспективу” № 16.N08.12.1009.

ENGINEERING OF RECOMBINANT ANALOGUES OF CYTOTOXIC FACTOR OF HUMAN MILK LACTAPTINE

Potapenko M.O., Saveleva A.V., 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

Lactaptin, a fragment of κ –casein, is one of biologically active peptides of human milk that induces apoptotic death of cultured human breast adenocarcinoma MCF-7 cells. Recently we have characterized lactaptin as a 66 – 123 fragment of κ –casein with molecular weight 8.6 kDa. Unfortunately the precise amino acid sequence of N-terminus of investigated peptide remains uncertain.

The objective of the present work was the precise identification of N-ternimal sequence of lactaptin and development of recombinant analogues, corresponding to primarily structure of natural peptide.

Results of lactaptin sequencing by Edman and MALDI-TOF analysis suggest two possible N-terminal sequences, corresponding to 31 – 102 and 49 – 122 fragments of human κ-casein.

For that purpose native peptide extracted by chromatography was analyzed by degradation of amino acids by Edman and by MALDI-TOF.

Based on our finding, cDNA corresponding to 31 – 102 and 49 – 122 fragments of κ-casein are cloned in *pTwin1* expression system. Expression of *pTwin1* vector in *E. coli* cells allows receiving recombinant protein which contains N-terminal chitin-binding domain fused to yeast intein *Ssp* DnaB and one of the lactaptin sequences. In received fused proteins intein undergoes autocatalytic cleavage with release of desirable peptides.

This work was supported by grants: RFBR № 10-04-01109-a and № 11-04-12100, Federal target program «Scientific and scientific-pedagogical personnel of innovative Russia» № 02.740.11.0715, Federal target program “The Development of the Pharmaceutical and Medical Industries of the Russian Federation until 2020 and Beyond” № 16.N08.12.1009.

СЕГРЕГАЦИОННО СТАБИЛИЗИРОВАННЫЙ ПЛАЗМИДНЫЙ ВЕКТОР pHYP ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ В БАКТЕРИАЛЬНОЙ СИСТЕМЕ ЭКСПРЕССИИ

Усакин Л.А., Орлова Н.А., Шендер В.О., Воробьев И.И.
Институт Биоорганической химии РАН,
117997, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10.

Цель исследования: Основой платформенной технологии получения фармацевтически значимых рекомбинантных белков при помощи бактериальной системы экспрессии может быть плазмидный вектор, включающий генетический элемент сегрегационной стабилизации и кодирующий короткий N-концевой пептид, полностью отделяемый от молекул целевых белков обработкой сайт-специфической протеиназой. Целью работы являлся дизайн вектора, содержащего генетический элемент hok-sok в оптимальном положении и ориентации, а также кодирующего минимальный N-концевой пептид, пригодный для эффективной очистки целевых белков в денатурирующих условиях и удаления после обработки энетрокиназой.

Результаты: Были исследованы варианты N-концевого пептида, содержащие олигогистидиновый кластер размером от 6 до 10 остатков, соединенный с сайтом узнавания энтерокиназы коротким линкерным участком. Было установлено, что максимальная эффективность очистки полипептидов с исследуемыми N-концевыми пептидами металлохелатной хроматографией в денатурирующих условиях достигается для кластеров с 8 и 10 остатками гистидина. При сравнении вариантов расположения и ориентации элемента hok-sok было обнаружено, что статистически значимый стабилизационный эффект достигается при удалении из последовательности вектора генетического элемента ограничения копийности rop и введении элемента hok-sok между терминатором гена целевого белка и терминатором гена селекционного маркера, при одинаковом направлении транскрипции гена селекционного маркера и токсина Hok.

Выводы: Разработанный экспрессионный вектор pHYP может быть использован для унифицированного и высокопродуктивного получения рекомбинантных белков в бактериальной системе экспрессии в форме белков-предшественников с отделяемым N-концевым дополнительным пептидом.

SEGREGATIONALLY STABILIZED PLASMID VECTOR pHYP FOR RECOMBINANT PROTEINS PRODUCTION IN BACTERIAL EXPRESSION SYSTEM

Usakin L.A., Orlova N.A., Shender V.O., Vorobiev I.I.
Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Miklukho-Maklaya, 16/10, Moscow, Russia, 117971

Goal and scope: The basis of platform technology for the pharmaceutically significant recombinant proteins using bacterial expression systems could be a plasmid vector encoding the genetic element providing the plasmid segregation stability and a short N-terminal peptide, which could be completely separated from the molecules of the target protein by site-specific protease processing. Purpose of the present study was to design a vector containing segregationally stabilizing genetic element hok-sok in the optimal position and orientation, as well as the minimal N-terminal peptide suitable for effective purification ща target proteins under denaturing conditions and removal by enterokinase processing.

Results: Variants of the N-terminal peptide containing oligohistidine cluster sized from 6 to 10 residues coupled with the recognition site of enterokinase by a short linker peptide were investigated. It was found that the maximum efficiency of the polypeptides purification by metal

affinity chromatorgraphy under denaturing conditions among N-terminal peptides under study was achieved for clusters bearing 8 and 10 histidine residues. Comparative study of various positions and orientations of hok-sok element revealed, that statistically significant increase in the segregational stability of the plasmid may be achieved only after removal of the ROP copy number restriction genetic element and insertion of the hok-sok element between the terminator of the target protein gene and terminator of the kanamycin resistance gene in the parallel orientation of transcription of target gene and *hok* toxin gene.

Conclusions: Designed pHYP expression vector can be used for a unified and high yielding recombinant proteins production in bacterial expression system in the form of precursor proteins with a detachable additional N-terminal peptide.

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

ПРИСУТСТВИЕ ФОСФОЛИПИДОВ В МОЛОКЕ ПОВЫШАЕТ НИТРИТ ВОССТАНАВЛИВАЮЩУЮ АКТИВНОСТЬ КСАНТИНОКСИДАЗЫ

Алтайулы С., Аликулов З.
Евразийский национальный университет им. Л.Н.Гумилева,
010008 Астана, Казахстан
sagimbek@mail.ru

Резюме. Очищенная и тканевая ксантиноксидаза (КО) катализирует восстановление нитрата и нитрита до окисда азота (NO), который является физиологически полезным газом. Высокая концентрация КО содержится в жировых глобулах ткани вымя животных. Связывание КО с жировыми глобулами сильно снижает ее ферментативную активность. Установлено, что присутствие фосфолипидов почти 100 раз повышает нитритредуктазную активность КО коровьего молока. Восстановление нитрита и образование NO, катализируемые КО в присутствии фосфолипидов могут играть важную роль в детоксификации нитратов и нитритов молока животных, включая человеческого.

Ключевые слова: ксантиноксидаза, оксид азота, нитрат и нитрит, восстановление нитрита, фосфолипиды, жировые глобулы.

Фософлипиды играют важную роль в переваривании жиров. Процесс эмульсификации жировых глобул детергентными свойствами фосфолипидов в кишечнике приводит к разрушению глобул до смешанных мицелл. Гидрофобная часть (жирные кислоты) фосфолипидов проникает внутрь гидрофобных глобул жиров, а гидрофильные полярные головные группы взаимодействуют с окружающей водой. Образование маленьких мицелл из больших жировых глобул сильно повышает поверхностную площадь, на которых действуют гидролитические липазы в кишечнике.

В настоящее время в метаболизме лекарств и чужеродных веществ внимание обращаются на молибденсодержащие ферменты (молибдоферменты), такие как ксантиноксидаза (КО) и альдегидоксидаза (АО). Мембраносвязанные микросомальные монооксигеназы и цитозольные молибдоферменты играют важную роль в окислении ароматических соединений. Однако присутствие одного или более атомов азота в ароматическом кольце делает гетероциклические соединения более доступными для окисления молибдоферментами. Более того, было установлено, что очищенная и тканевая ксантиноксидаза (КО) катализирует восстановление нитрата и нитрита до оксида азота (газообразный NO). Этот газ участвуют во многих физиологических процессах, включающих вазолидацию, ингибирования агрегацию тромб, нейротрансмиссию и цитотоксичекие защитные механизмы клеток. Синтезы NO являются результатом окисления L-аргинина семейством NO-синтетаз, однако образование NO этими ферментами сильно подавляется в условиях гипоксии. Образование NO ксантинокисдазой требует НАДН в качестве донора электронов и эта реакция не зависима от кислорода.

Установлено, что нитраты в живых организмах легко превращаются в нитриты. При связывании нитрита с гемоглобином, последний превращается в метгемоглобин, который теряет способность переносить кислород. Нитрит вступая в реакцию с первичными аминами, превращает их в нитрозмины, которые являются сильными канцерогенами. Таким образом, присутствие нитратов и нитритов очень важно для здоровья младенцев.

Уровни КО выше в печени млекопитающих. КО присутствует в молокообразующей ткани вымя и концентрирована 1000 раз в жировых глобулах молока. Установлено, что активность КО, связанной с жировыми глобулами, сильно снижается в отношении ксантина. Поэтому, нами были изучены эффекты действия фосфолипидов в отношении нитритредуктазной активности КО молока. Контрольные и обработанные фосфолипидами образцы молока были инкубированы с нитритом в присутствии НАДН в условиях гипоксии и затем определен накопленный газообразный NO. Мы установили, что добавление фосфолипидов приводит к 100-кратному повышению образования NO. Наши результаты предполагают, что обработка фосфолипидом включает активность КО, использующую преимущественно нитрит в качестве субстрата. Таким образом, восстановление нитрита и образование NO в присутствии фосфолипидов может иметь важное значение в детоксификации нитратов и нитритов в молоке животных, включая человека.

Использованная литература

1. BishopW.R., BellR.M. 1988. Assembly of phospholipids into cellular membranes: biosynthesis, transmembrane movement and intracellular translocation. Annu.Rev.Cell Biol. 4: 579-610.

2. Raetz C.R.H., Dowhan W. 1990. Biosynthesis and function of phospholipids in Esherichiacoli.J.Biol.Chem. 265: 1235-1238.

3. Dowhan W. 1997. Molecular basis for membrane phospholipids diversity: why are there so many lipids? Annu.Rev.Biochem. 66: 199-232.

4. Dobrosotskaya Y. 2002. Regulation of SREBP processing and membrane lipid production by phospholipids in Drosophila. Science 296 (5569): 879-883.

5. Zhang Z., Naughton D., Winjard P.G., Benjamin N., Blake D.R., Symons V. 1998. Generation of nitric oxide by nitrate reductase activity of xanthine oxidase: a potential pathway for nitric oxide formation in the absence of nitric oxide synthase activity. Bioch.Biophys. Res. Comm. 249: 767-772.

6. Millar T.M., Stevens C.R., Benjamin N., Eisenthal R., Harrison R., Blake D.R.1998. Xanthine oxidoreductase catalyzes the reduction of nitrates and nitrite to nitric oxide under hypoxic conditions. FEBS Letters. 427: 225-228.

THE PRESENCE OF PHOSPHOLIPIDS INCREASES NITRITE REDUCTASE ACTIVITY OF MILK XANTHINE OXIDASE

Altaiuly S., Alikulov Z.
The L.N.Gumilev Eurasian National University, 010008 Astana, Kazakhstan
sagimbek@mail.ru

Abstract. Both purified and tissue containing xanthine oxidase XO catalyze the reduction of nitrate and nitrite to nitric oxide (NO), a physiological beneficial gas. High concentration of XO is present in lactating mammary tissue in milk fat globules. XO binding to fat globules strongly reduces its enzyme activity. It was found that in presence of phospholipids the nitrite reductase activity of bovine milk XO increased approximately 100-fold. XO-catalyzed reduction of nitrite and generation of NO in the presence of phospholipids may be important in detoxification of nitrate and nitrite in animal milk including that of human.

Key words: Xanthine oxidase, nitric oxide, nitrate and nitrite, nitrite reduction, phospholipids, fat globules.

Phospholipids play an important role in digestion of fat. The process of emulsification of hydrophobic fat globules by the detergent action of phospholipids in the gut breaks the globules down to mixed micelles. The hydrophobic moieties (fatty acid chain) of phospholipids are inserted into the hydrophobic fat globules and the hydrophilic polar head groups interact with and face the water. The formation of small micelles from large fat globules greatly increases the surface area available for the action of hydrolytic lipases in the gut.

At present most the attention to date in metabolism of drugs and foreign compounds has been focused on the molybdenum containing enzymes (molybdoenzymes) such as xanthine oxidase (XO) and aldehyde oxidase (AO). Membrane bound microsomal monooxygenases and cytosolic molybdoenzymes play an important role in the oxidation of aromatic compounds. However, the presence of the one or more nitrogen atoms in the aromatic ring makes heterocyclic compounds more susceptible to oxidation via a molybdoenzymes. Furthermore, it was found that both purified and tissue containing XO catalyze the reduction of nitrate and nitrite to nitric oxide (gaseous NO). This gas is involved in many physiological and pathological processes, including vasolidation, inhibition of platelet aggregation, neurotransmission and cytotoxic host defense mechanisms. NO synthesis is now well-known to result from oxidation of L-arginine by a family of NO-synthases, however, NO production by NO-synthase diminished greatly under hypoxic conditions. NO production by XO requires NADH as an electron donor, and this reaction is oxygen independent.

It was well established that nitrate in living organisms may be readily converted to nitrite. Nitrite binding to hemoglobin converts it to methemoglobin which becomes unable to transport of oxygen. Nitrite reacting with primary amines forms nitrosamines which are recognized as strong carcinogens. Thus, the presence of nitrate and nitrite is very important for baby health.

Levels of XO are high in mammalian liver. XO is present in lactating mammary tissue and concentrated 1000-fold in bovine milk lipid globules. It was found that XO binding to fat globules strongly reduces its affinity toward xanthine. Therefore, we investigated the effects of phospholipid action in terms of the nitrite reductase activity of milk XO. Control and phospholipid-treated milk samples were incubated with nitrite in the presence of NADH under hypoxic conditions and accumulated gaseous NO was then determined. We found that the addition of phospholipids caused an approximately 100–fold elevation of NO production. Our results suggest that phospholipid treatment may mediate a “switch” in the activity of XO to a predominance of NO production using nitrite as substrate. Thus, the XO-catalyzed reduction of nitrite and generation of NO in the presence of phospholipids may be important in detoxification of nitrate and nitrite in milk including that of human.

REFERENCES

1. BishopW.R., BellR.M. 1988. Assembly of phospholipids into cellular membranes: biosynthesis, transmembrane movement and intracellular translocation. Annu.Rev.Cell Biol. 4: 579-610.

2. Raetz C.R.H., Dowhan W. 1990. Biosynthesis and function of phospholipids in Esherichiacoli.J.Biol.Chem. 265: 1235-1238.

3. Dowhan W. 1997. Molecular basis for membrane phospholipids diversity: why are there so many lipids? Annu.Rev.Biochem. 66: 199-232.

4. Dobrosotskaya Y. 2002. Regulation of SREBP processing and membrane lipid production by phospholipids in Drosophila. Science 296 (5569): 879-883.

5. Zhang Z., Naughton D., Winjard P.G., Benjamin N., Blake D.R., Symons V. 1998. Generation of nitric oxide by nitrate reductase activity of xanthine oxidase: a potential pathway for nitric oxide formation in the absence of nitric oxide synthase activity. Bioch. Biophys. Res. Comm. 249: 767-772.

6. Millar T.M., Stevens C.R., Benjamin N., Eisenthal R., Harrison R., Blake D.R.1998. Xanthine oxidoreductase catalyzes the reduction of nitrates and nitrite to nitric oxide under hypoxic conditions. FEBS Letters. 427: 225-228

КЛОНИРОВАНИЕ МНОГОКОПИЙНЫХ CPG-МОТИВОВ В СОСТАВЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ПЛАЗМИДЫ

Коровашкина А.С., Квач С.В., Зинченко А.И.

Институт микробиологии НАН Беларуси, 220141, Минск, ул. Купревича, 2

Известно, что бактериальная ДНК при введении в организм млекопитающих активирует иммунитет благодаря наличию особых олигонуклеотидных фрагментов (CpG-мотивов), содержащих неметилированные CpG-динуклеотиды. В настоящее время CpG-мотивы в основном синтезируются химически и содержат фосфоротиоатмодифицированный сахаро-фосфатный скелет, обуславливающий проявление серьезных побочных эффектов.

Альтернативным подходом к практическому использованию CpG-мотивов в иммунологии является встраивание этих нуклеотидных последовательностей в плазмиды с последующим клонированием в бактериальных клетках и введением таких конструкций, не содержащих неприродных фосфоротиоатных связей, в организм человека или животных.

Цель настоящего исследования состояла в конструировании плазмид, содержащих множество копий иммуностимулирующих CpG-мотивов.

Для получения двухцепочечной ДНК, содержащей CpG-мотивы, использовали химически синтезированные частично перекрывающиеся прямые и обратные цепи олигодезоксинуклеотидов (праймеры). После отжига праймеров и самолигирования полученных продуктов, имеющих 3’- и 5’-концы, соответствующие сайтам узнавания рестрицирующей эндонуклеазы *Hind*III, фрагменты наибольшей длины (900–1300 пар оснований) лигировали с вектором pXcmkn12, предварительно обработанным рестриктазой *Hind*III.

В результате выполнения работы получены две плазмиды: pCpG-KH11 (содержит 96 повторов мотива GTCGTT, наиболее эффективно по литературным данным стимулирующего иммунную систему человека) и pCpG-KM11 (содержит 120 повторов мотива GACGTT, наиболее эффективно стимулирующего иммунную систему мышей, рыб и др. животных). Наличие указанных CpG-мотивов в составе плазмид подтверждено методами ПЦР- и рестрикционного анализа.

CLONING OF MULTI-COPY CPG MOTIFS IN BACTERIAL PLASMID

Korovashkina A.S., Kvach S.V., Zinchenko A.I.
Institute of Microbiology, National Academy of Sciences of Belarus,
220141, Minsk, Kuprevich Str., 2

It is known that bacterial DNA introduced into mammals can activate both innate and adaptive immune systems due to presence of unmethylated CpG dinucleotides in particular sequence contexts (CpG motifs). At present CpG motifs are generally synthesized chemically and contain phosphorothioate backbone modification responsible for severe by-effects. Therefore, manufacturing a potent immunomodulatory CpG-DNA that does not cause side effects is highly desirable. Another way of CpG DNA production is construction of CpG-enriched plasmids with subsequent cloning in bacterial cells. Such CpG-containing plasmids are non-toxic for organisms as they lack unnatural phosphorothioate linkages. *Taking all aspects into consideration,* the aim of the research was construction of recombinant CpG-enriched plasmids.

To prepare multi-copy CpG DNA fragments, two partially overlapping primers containing four CpG motifs were chemically synthesized. The overlapping primers were annealed by heating at 95°C and slow cooling down to 4°C. The products formed were self-ligated, and fragments with the largest size (900–1300 base pairs) were separated using agarose gel electrophoresis. To construct vector containing multi-copy CpG motifs, the longest products were ligated with the *Hind*III restrictase-digested pXcmkn12 plasmid.

As a result of the work two plasmids were obtained. The plasmid pCpG100-KH11 carries 96 copies of CpG motif GTCGTT, with the latter being the most effective in stimulation of the human immune system in accordance with literature data. The plasmid pCpG-KM11 harbors 120 repetitions of GACGTT-motif, which enhances immune status of mice, fish, etc. The sequence of inserted fragments was verified by PCR and restriction enzyme digestion techniques.

ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ СИНТЕЗ ЦИКЛИЧЕСКОГО 3′,5′-ДИГУАНИЛАТА И ЕГО 2′-ДЕЗОКСИПРОИЗВОДНОГО

Коровашкина А.С.[1], Квач С.В.[1], Квач М.В.[2], Рымко А.Н.[1], Зинченко А.И.[1]
[1]*Институт микробиологии НАН Беларуси, 220141, Минск, ул. Купревича, 2*
[2]*Институт физико-органической химии НАН Беларуси, 220072, Минск, ул. Сурганова, 13*

Недавние исследования показали, что циклический 3′,5′-дигуанилат (c-di-GMP) и другие циклические динуклеотиды, выполняющие функцию вторичных посредников у бактерий, могут стимулировать иммунную систему мышей, что открывает широкие возможности их потенциального применения в качестве терапевтических средств и адьювантов для вакцин.

С расширением исследований, направленных на изучение иммуностимулирующих и иммуномодулирующих свойств c-di-GMP и его аналогов, возрастает и потребность в синтезе препаративных количеств данных циклических динуклеотидов. В настоящее время их в основном получают химическим способом, недостатками которого являются сложность, дороговизна и небольшой выход целевого продукта. Синтез с использованием бактериального фермента дигуанилатциклазы также не позволяет достигать высоких выходов c-di-GMP, вследствие строгого ингибирования фермента продуктом реакции. Для повышения выхода этой реакции в литературе предложено использовать фрагмент молекулы дигуанилатциклазы гипертермофильной бактерии *Thermotoga maritima*, с мутантным (инактивированным) аллостерическим центром.

Целью данной работы явилась проверка возможности синтеза c-di-GMP и других циклических динуклеотидов с использованием полноразмерного мутантного белка дигуанилатциклазы *T. maritima* (№ TM1788, GenBank).

В результате выполнения работы получена и охарактеризована рекомбинантная полноразмерная дигуанилатциклаза *T. maritima* с инактивированным аллостерическим центром. Впервые показана возможность применения такого ферментного белка для синтеза c-di-GMP, а также его 2′-дезоксипроизводного.

ENZYMATIC SYNTHESIS OF 3′,5′-CYCLIC DIGUANYLATE AND ITS 2′-DEOXY DERIVATIVE

Korovashkina A.S.[1], **Kvach S.V.**[1], **Kvach M.V.**[2], **Rymko A.N.**[1], **Zinchenko A.I.**[1]
[1]*Institute of Microbiology, National Academy of Sciences of Belarus, 220141, Minsk, Kuprevich Str., 2*
[2]*Institute of Physical Organic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus, 220072, Minsk, Surganov Str., 13*

The latest investigations have shown that 3′,5′-cyclic diguanylate (c-di-GMP) and other cyclic dinucleotides playing the role of secondary messengers in bacteria are potent in stimulation of murine immune system. It opens wide prospects for their possible application as therapeutic agents and vaccine adjuvants.

Expanding research of immunostimulating and immunomodulating activity of c-di-GMP and its analogues requires preparative quantities of these cyclic nucleotides. Currently they are mainly produced by chemical methods suffering from such limitations as complexity, high cost and low yield of the end product. Enzymatic synthesis of c-di-GMP with bacterial diguanylate cyclases is also not efficient due to strong inhibition of the enzyme by the reaction product. To increase c-di-GMP yield other authors proposed to use fragment of diguanylate cyclase from hyperthermophilic bacterium *Thermotoga maritima* with mutant (inactivated) allosteric site.

The aim of the research was verification of c-di-GMP and its analogues synthesis using full-size mutant diguanylate cyclase from *T. maritima* (GenBank, No TM1788).

The completed studies resulted in production and characterization of full-size recombinant diguanylate cyclase from *T. maritima* with inactivated allosteric site.

Possibility of applying this enzyme protein for synthesis of c-di-GMP and its 2′-deoxy derivative was originally demonstrated.

УНИВЕРСАЛЬНАЯ СИСТЕМА ЭКСПРЕССИИ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ НА ОСНОВЕ ШТАММА *ASPERGILLUS AWAMORI* РЕКОМБИНАНТНЫХ ПРОДУЦЕНТОВ ФЕРМЕНТОВ

Середа А.С.,[1] **Костылева Е.В.,**[1] **Цурикова Н.В.,**[1] **Римарева Л.В.,**[1] **Поляков В.А.,**[1] **Рожкова А.М.,**[2] **Винецкий Ю.П.**[2], **Синицын А.П.**[3]
[1]*ГНУ ВНИИПБТ Россельхозакадемии,* [2]*Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН,* [3]*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова*

Благодаря способности к высокой продукции белка и возможности применения различных систем трансформации, мицелиальные грибы рода *Aspergillus* широко используются для получения рекомбинантных продуцентов терапевтических продуктов, например, человеческого интерлейкина и моноклональных антител.

Для трансформации промышленного продуцента глюкоамилазы *A.awamori* на основе промотора и терминатора гена собственной глюкоамилазы (*glaA*) разработана универсальная система экспрессии, позволяющая вводить в геном реципиента как гомологичные, так и гетерологичные гены.

С применением универсальной системы экспрессии получены рекомби-нантные продуценты ферментов, используемых для повышения питательной ценности диетических продуктов, а также в фармацевтической промышленности.

В результате гомологичной трансформации штамма *A.awamori* плазмидой pPrGA-GAAwa, содержащей ген глюкоамилазы, получен рекомбинантный штамм с увеличенным на 40% уровнем активности глюкоамилазы.

При гетерологичной трансформации *A.awamori* плазмидами, несущими гетерологичные гены ксиланазы *Penicillium sp*. и эндоглюканазы *Trichoderma sp.,* получены перспективные рекомбинантные штаммы с увеличенной продукцией целевых ферментов в 3 и 6 раз, соответственно. Максимальный эффект был получен при трансформации *A.awamori* плазмидой pGA-PhyA, содержащей ген фитазы *A. niger* — фитазная активность штамма была увеличена в 300 раз.

Применение разработанной системы экспрессии позволит вводить в геном *A.awamori* гены различных функциональных белков для получения продуктов медицинского назначения.

THE UNIVERSAL EXPRESSION SYSTEM FOR *ASPERGILLUS AWAMORI* RECOMBINANT ENZYME PRODUCERS OBTAINING

Rojkova A.M., Sinitsyn A.P., Vinetsky U.P., Sereda A.S., Tsurikova N.V., Polyakov V.A., Rimareva L.V.

[1]*State Russian Research Institute for Food Biotechnology of Russian Agricultural Academy, 4b, Samokatnaya str., Moscow, 111033,*

[2]*A.N. Bach Institute of Biochemistry, Russian Academy of Sciences, 119071 Moscow,* [3] *M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation*

Due to the ability for high protein production and the possibility of various transformation systems application, filamentous fungi of the *Aspergillus* genus are widely used to obtain producers of recombinant therapeutic products, such as human interleukin and monoclonal antibodies.

In order to transform the industrial producer of glucoamylase *A.awamori*, on the basis of it's own glucoamylase gene (*glaA*) promoter and terminator a universal expression system was developed allowing to introduce both homologous and heterologous genes in the genome of the recipient.

Using the universal expression system the recombinant strains were obtained producing enzymes used to improve the nutritional value of dietary products as well as in the pharmaceutical industry.

The recipient strain homologous transformation with a plasmid *pPrGA-GAAwa*, containing the glucoamylase gene, resulted in a recombinant strain obtaining with an increase of 40% the glucoamylase activity level.

At the recipient *A.awamori* strain heterologous transformation with plasmids carrying the heterologous genes of xylanase *Penicillium sp*. and endoglucanase *Trichoderma sp*., promising recombinant strains were created with enhanced production of target enzymes in the 3 and 6 times, respectively. The maximum effect was obtained at the recipient strain transformation with plasmid pGA-PhyA carrying the phytase gene *A. niger* – phytase activity of the strain was increased 300-fold.

The developed expression system application will allow to introduce genes encoding various functional proteins into the *A.awamori* genome to obtain products for medical purposes.

ЦЕЛЛЮЛАЗНЫЕ ФЕРМЕНТЫ ГРИБА ASPERGILLUS TERREUS ВЫДЕЛЕННЫЕ ИЗ ПОЧВ УЗБЕКИСТАНА

Умаров Б.Р., Хамидова Х.М.
Институт Микробиологии АН РУ, ул. Абдулла. Кадыри 7б., 100000 г. Ташкент

Введение: Целлюлотические ферменты участвующие в гидролизе целлюлозы, представляют собой комплекс, состоящий из нескольких ферментов с различной специфичностью действия: эндоглюканазы, экзоглюкозидазы, β-глюкозидазы и др. Целлюлазы и гемицеллюлазы могут быть получены только с помощью микроорганизмов. Целлюлазы, продуцируемые грибами родов Fusarium, Trichoderma, Penicillium, применяют в спиртовой, пищеконцентратной промышленностях, где сырьем являются растительные материалы или отходы переработки растений, например, в производстве растворимого кофе.

Цель данного исследования было получить очищенные препараты эндоглюканазы и 1,3 β -глюкозидазы из культуральной жидкости грибной культуры Aspergillus terreus.

Материалы и методы исследования: Штаммы Aspergillus terreus были выделены из почв Узбекистана и анализировано их свойства продуцировать целлюлазную активность. Штаммы были выращены в углеродных и безуглеродных средах. В безуглеродных средах использовали пшеничные отруби как единственного источника углерода. Из культуральной жидкости выделяли целлюлатические ферменты. С помощью ионообменной хроматографии на DEAE TOYOPEARL 650 M геле в градиенте 0,5 M NaCl было выделена и очищена ферменты эндоглюканаза и β-глюкозидаз с высокой целлюлатической активностью. За единицу CMC активности принимали такое количество фермента, которое за 30 мин образует 1 мг редуцирующих сахара. Количество редуцирующих сахаров было определено по методу Сомоджи-Нельсона.

Результаты обсуждения: Молекулярная масса выделенных ферментов была определена с помощью СДС гель электрофореза, который составлял 67 kDa. Полученные данные могут быть использованы для промышленного производства получения ферментных препаратов для использования биоконверсии растительных отходов и в других целях промышленного производства.

CELLULOTIC ENZYMES OF THE FUNGUS *ASPERGILLUS TERREUS* ISOLATED FROM THE SOILS OF UZBEKISTAN

Umarov B.R., Khamidova Kh.M.
Institute of Microbiology of AN RUz. 7б. A.Kadyri str., 100000, Tashkent

The cellulotic enzymes of cellulose participating in the hydrolysis, consisting from the complex of several enzymes with various specificity of action: endoglucanase, exoglucanase and β-glucosidase etc. Cellulase and Hemicellulase can be received only by means of microorganisms. Cellulase of produced by fungus of Fusarium, Trichoderma, Penicillium, apply in filed food industries where raw materials are vegetative materials or a waste of processing of plants, for example, in instant coffee manufacture.

Objective of this research was to isolate and purification endoglucanase, exoglucanase and β-glucosidase from the extracellular culture of the fungus Aspergillus terreus.

Materials and methods: Strains Aspergillus terreus have been isolated from the soils of Uzbekistan and was analysed their properties to produce cellulotic activity. Strains have been grown up in carbon and without carbon environments. In without carbon environments used wheaten bran as unique source of carbon. From the liquid mediums isolated cellulotic enzymes. With the help ionexchange chromatography on DEAE TOYOPEARL 650 M gel in the gradient of 0,5 M NaCl was it is isolated

and cleared enzymes endoglucanase, exoglucanase and β-glucosidase with high cellulotic activity. For unit CMC of activity accepted such quantity of enzyme which for 30 mines forms 1 mg reducing sugars. The quantity of reducing sugars has been defined on a method of Somodgy-Nelson.

Results of discussion: Molecular weight of the isolated enzymes was defined by means of SDS gel electrophoresus which consist 67 kDa. The obtained data can is used for industrial production of reception of enzymes preparations for use of bioconversion of a vegetative waste and in other purposes of industrial production.

НАУЧНЫЕ ОСНОВЫ РАЦИОНАЛЬНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ШАМПАНСКИХ АСД

Романенков Р.Д., Мартыненко Н.Н.
ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет пищевых производств», 125080, г. Москва, Волоколамское ш., д.11

Необходимость в разработке специальных методов подготовки сухих шампанских дрожжей к процессу брожения обусловлена тем, что они характеризуются повышенной проницаемостью мембран. Это приводит, с одной стороны к очень высокой чувствительности сухих дрожжей к наличию в среде различных ингибиторов, а с другой, обуславливает выход в среду различных компонентов их клеток – аминокислот, витаминов и минеральных веществ, что затрудняет нормальное протекание процессов репарации и восстановления их физиологической активности.

Как видно из практики использование шампанских АСД нередко приводит к удлинению процесса брожения, недобродам и ряду других проблем. Причиной этого являются, с одной стороны, достаточно тяжелые условия, принятые в шампанском производстве — довольно низкая температура брожения (12-15 °С) и высокое содержание спирта в среде (до 10% об.), а с другой — высокая чувствительность сухих дрожжей к неблагоприятным условиям, обусловленная повышенной проницаемостью их мембран и клеточных стенок.

Решение проблемы быстрой подготовки сухих шампанских дрожжей к работе состоит именно в оптимизации процессов восстановления их жизнедеятельности. При этом очень важно, чтобы с самого начала клетки сухих шампанских дрожжей находились в условиях, благоприятствующих их росту и развитию, и не подвергались стрессовым воздействиям. Согласно современным представлениям, это позволяет им максимально быстро завершить процессы репарации и восстановить нормальное функционирование мембранного и белоксинтезирующего аппарата, что резко снижает их чувствительность к неблагоприятным факторам среды.

В связи с этим подбор и оценка эффективности тех или иных методов активизации сухих дрожжей должна проводиться не только с точки зрения интенсивности брожения, но также следует учитывать их влияние на физиологическое состояние клеток дрожжей.

THE SCIENTIFIC BASIS FOR THE RATIONAL USE OF CHAMPAGNE ADY

Romanenkov R.D., Martynenko N.N.
Moscow State University of Foodstuff Productions, 125080, Moscow, Volokolamskoe sh., 11

The need to develop special methods of preparation dry champagne yeasts before fermentation due to the fact that they are characterized by an increased permeability of membranes. This leads, on the one hand to a very high sensitivity to the presence of dry yeasts in a medium of various inhibitors, on the other hand, causes the output to the environment of various components of their cells – amino

acids, vitamins and minerals, which makes the normal flow of the processes of repair and restoration of their physiological activity.

As is evident from practice of using champagne ADY often leads to a lengthening of the fermentation process, not-ended fermentation and some other problems. The reason for this is, on the one hand, quite harsh conditions adopted in the champagne production – a fairy low temperature of fermentation (12-15 °C) and high alcohol content in the medium (up to 10% by vol.), and on the other hand – high sensitivity of the dry yeast to adverse conditions due to increased permeability of membranes and cell walls.

Addressing the rapid preparation of dry champagne yeast for use it is to optimize the recovery process of vital activity. It is very important that from the beginning of dry champagne yeasts cells were in an environment conducive to their growth and development, and are not subjected to stress. According to modern concepts, it allows them to quickly complete the process of repair and restore the normal functioning of membrane and protein-synthesizing apparatus, which dramatically reduces their sensitivity to environmental stress.

In this regard, the selection and evaluation of the effectiveness of various methods of activation dry yeasts should be carried out not only in terms of the intensity of fermentation, but should also consider the impact on physiological state of yeasts cells.

ПРОВЕДЕНИЕ КЛИНИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА КАНЦЕРОЛИЗИН, СОЗДАННОГО НА ОСНОВЕ МУТАНТНОГО АДЕНОВИРУСА 5-ГО ТИПА

Шишкина Л.Н.[1], **Михайлова И.Н.**[3], **Карпова Е.В.**[2], **Г.В. Вдовиченко**[1], **М.П. Богрянцева**[1], **В.А. Терновой**[1], **И.В. Плясунов**[1], **Кабанов А.С.**[1], **Скарнович М.О.**[1], **Иванова М.Ю.**[1], **Индикова И.Н.**[2], **Бурдюков М.С.**[3], **Синельников И.Е.**[3], **Нечипай А.М.**[3], **Игнатьев Г.М.**[2], **Демидов Л.В.**[3], **Сергеев А.Н.**[1]

[1]*Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»), р.п. Кольцово Новосибирской области, Россия, 630559;*

[2]*Федеральное Государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» (ФГБУ «НЦ ЭСМП»), г. Москва, Россия, 127051;*

[3]*Российский онкологический научный центр (РОНЦ) им. Н.Н. Блохина, г. Москва, Россия, 115478*

Препарат Канцеролизин, созданный в ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» на основе генетически модифицированного аденовируса 5-го типа, избирательно размножающегося в p53-дефицитных раковых клетках и вызывающего их разрушение, предназначен для лечения злокачественных опухолей. На базе РОНЦ им. Н.Н. Блохина проведена 1-я фаза клинических испытаний Канцеролизина. Отчет «Ограниченные клинические испытания безопасности препарата Канцеролизин у больных плоскоклеточным раком, локализованным в области головы и шеи, и диссеминированной меланомой кожи» прошел экспертизу в государственных органах контроля. Установлено, что Канцеролизин не обладает токсичностью и реактогенностью при его применении в течение трех циклов интратуморального введения в минимальных и максимальных дозах. По результатам экспертизы Канцеролизин был признан перспективным для дальнейших клинических испытаний в качестве аденовирусного противоопухолевого препарата. В настоящее время получено разрешение на проведение 2-й фазы и ведется подготовка клинических исследований Канцеролизина по протоколу «Оценка эффективности и безопасности препарата Канцеролизин у пациентов с распространенным плоскоклеточным раком головы и шеи и неоперабельным раком поджелудочной железы».

CARRYING OUT OF CLINICAL TRIALS OF THE ANTICANCER CANCEROLYSIN PREPARATION CREATED ON THE BASIS OF MUTANT TYPE 5 ADENOVIRUS

L.N. Shishkina[1], I.N. Mikhailova[3], E.V. Karpova[2], G.V. Vdovichenko[1], M.P. Bogryantseva[1], V.A. Ternovoi[1], I.V. Plyasunov[1], A.S. Kabanov[1], M.O. Skarnovoch[1], M.Yu. Ivanova[1], I.N. Indikova[2], M.S. Burdyukov[3], I.E. Sinelnikov[3], A.M. Nechipai[3], G.M. Ignatyev[2], L.V. Demidov[3], A.N. Sergeev[1]

[1]*Federal Budget Research Institution «State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector» (FBRI SRC VB «Vector»), Koltsovo, Novosibirsk region, Russia, 630559;*

[2]*Federal State Budget Institution «Scientific Center on Expertise of Medical Application Products» (FSBI «SCEMAP»), Moscow, Russia, 127051;*

[3]*N.N. Blokhin Cancer Research Center (CRC), Moscow, Russia, 115478.*

Preparation Cancerolysin created at FBRI SRC VB «Vector» on the basis of genetically modified type 5 adenovirus, selectively replicating in p53-deficient cancer cells and causing their destruction, is intended for treatment of malignant tumours. The 1st phase of Cancerolysin clinical trials have been conducted on the basis of N.N. Blokhin CRC. The report «The limited clinical trials of safety of Cancerolysin preparation at patients with squamous cell carcinoma, localized in the field of head and neck, and disseminated melanoma of skin» has passed examination in the state control organizations. It is established that Cancerolysin does not possess toxicity and reactogenicity at its application during three cycles of intratumoral injection in the minimum and maximum doses. By results of examination Cancerolysin has been recognized by perspective for the further clinical trials as an adenoviral antineoplastic preparation. Now the permission to carrying out of 2nd phase is received and background of clinical researches of Cancerolysin under the protocol «The estimation of efficiency and safety of Cancerolysin preparation at patients with extended head and neck squamous cell carcinoma and an inoperable cancer of a pancreas» is conducted.

ПУРОЛАЗА И МИНИПЛАЗМИНОГЕН — ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ ДЛЯ ФИБРИНОЛИТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

Бибилашвили Р.Ш.

КНПК ФГБУП МЗиСО РФ *Россия, Москва, Черепковская 15а*

Тромбозы являются одними из важнейших острых патологий сердечно сосудистой системы. Основой современной системы лечения пациентов является использование одного из двух природных активаторов плазминогена тканевого или урокиназного типа для быстрого растворения образовавшегося тромба. Оба активатора представленных на российском рынке «Тенектеплаза» и «Пуролаза» являются продуктами генноинженерной технологии и значительно отличаются по структуре от природных аналогов. Необходимость введения существенных изменений в структуру молекулы природного активатора в значительной степени обусловлено необходимостью применения препарата в концентрациях несколькими порядками величины превосходящими их физиологические концентрации и способностью этих молекул осуществлять помимо активации плазминогена целый ряд других, иногда нежелательных эффектов, в частности влияющих на гемостаз.

Будут обсуждены вопросы связанные с фармакодинамикой «Пуролазы» на основе опыта ее использования в России для лечения острого инфаркта миокарда и необходимости введения коррекции в виде дополнительного введения плазминогена для компенсации системного падения ее концентрации при фибринолитической терапии. Для этой цели предполагается использовать разрабатываемый в настоящее время Препарат на основе генноинженерного модифицированного человеческого плазминогена.

СЕКЦИЯ 3. «КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В МЕДИЦИНЕ»
SECTION 3 "CELLULAR TECHNOLOGY IN MEDICINE"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ КАК РЕГУЛЯТОРЫ РЕГЕНЕРАТИВНЫХ И РЕПАРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ

Ткачук В.А., Парфенова Е.В., Калинина Н.И., Рубина К.А., Сысоева В.Ю.
Факультет фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова;
ФГУ Российский кардиологический научно-производственный комплекс МЗ СР РФ,
г. Москва

В последние десятилетия появились доказательства того, что физиологическое обновление и регенерация тканей в течение всей жизни животного и человека происходят благодаря стволовым клеткам. Важнейшей популяцией стволовых клеток взрослого организма являются мезенхимальные стволовые клетки (МСК). Впервые эти клетки были обнаружены и выделены из стромы костного мозга. Считалось, что МСК костного мозга служат источником для обновления и восстановления таких соединительных тканей как костная, хрящевая и жировая. В настоящий момент аналоги МСК костного мозга обнаружены и во всех других тканях. Благодаря появлению подходов, позволяющих идентифицировать МСК in situ, выделять их из тканей и, наконец, оценивать их биологические свойства, появилась возможность пересмотреть роль МСК в различных органах и тканях. Нами было установлено, что МСК способствуют репарации и регенерации тканей, активируя рост кровеносных сосудов и нейритов, а также воздействуя на резидентные стволовые клетки. Такое стимулирующее действие во многом обусловлено выраженной секреторной активностью этих клеток. Согласно нашим представлениям, в организме МСК выполняют функцию регуляторов репарации и регенерации тканей, взаимодействуя с кровеносной и нервной системами, а также с иммунными и резидентными тканеспецифичными стволовыми клетками.

СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ (ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ В БИОМЕДИЦИНСКОЙ ПРАКТИКЕ)

Васильев А.В., Терских В.В., Е.В. Киселева
НИИ биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, г. Москва

Исследования в области клеточных технологий и тканевой инженерии, сегодня, сосредоточены на изучении двух типов клеток- клеток с индуцированной плюрипотентностью и постнатальных стволовых клеток. Именно эти типы клеток могут стать основным инструментом для трансплантационной коррекции основных социально-значимых заболеваний. Однако, клетки с индуцированной плюрипотентностью будут соответствовать условиям клинического применения только через 5-10 лет. Именно постнатальные столовые клетки могут быть применены в клеточных технологиях сегодня. Концепция регенерации постнатального организма предполагает наличие стволовых клеток как регенеративного потенциала для всех тканей и органов. Тем не менее, не всегда возможно использование этих клеток для выделения, культивирования и последующей трансплантации. Нерешенной проблемой остается получение предшественников для кардиомиоцитов, функционирующих нейронов, гепатоцитов, инсулин-продуцирующих и некоторых других типов клеток. В связи с этим актуальным представляется исследование феномена пластичности стволовых клеток, создания трехмерных тканевых

эквивалентов на основе принципов функционального или гистоморфологического подобия. Несмотря на огромное число публикаций, феномен пластичности стволовых клеток является не достаточно научно-обоснованным. В частности, недооцененной представляется границы трансдифференцировки эпителиальных клеток. Использование трансдифференцировки эпидермальных клеток человека в составе трехмерной гистотипической композиции позволило обосновать восстановление широкого спектра эпителиально-стромальных дефектов тканей и органов. Так было разработаны и успешно апробированы технологии восстановления кожи, роговицы, уретры, гортани и трахеи.

Поиск источников среди гистотипически близких предшественников позволил приблизиться к получению эндодермальных предшественников инсулин-продуцирующих клеток, гепатоцитов.

Реализация этого подхода может позволить уже сегодня получать специализированные клеточные типы для заместительной терапии и тканевой инженерии.

НЕЙРАЛЬНЫЕ, ПРОГЕНИТОРНЫЕ И ГЕМОПОЭТИЧЕСКИЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ В ТЕРАПИИ ГЛИОМ

Чехонин В.П., Баклаушев В.П.

[1]*ФГУ «ГНЦССП им. В.П. Сербского Минздравсоцразвития РФ»,*
Отдел фундаментальной и прикладной нейробиологии;
[2]*Российский государственный медицинский университет им. Н.И. Пирогова,*
Отдел медицинских нанобиотехнологий и Отдел клеточных технологий и регенеративной медицины

В экспериментах *in vitr*o и *in vivo* исследовано влияние на клетки глиомы С6 нейральных прогениторных и гемопоэтических стволовых клеток. В условиях кокультивирования клеток глиомы с нейральными прогениторными клетками обнаружено, что последние достоверно уменьшают интенсивность пролиферации при количественной оценке в МТТ-тесте и с помощью анализа со включением бромдезоксиуридина. В результате имплантации меченых нейральных прогениторных и гемопоэтических стволовых клеток в очаг внутримозговой экспериментальной глиомы С6 было показано, что имплантированные клетки выживают в мозге экспериментальных животных не менее семи дней после трансплантации, мигрируют вместе с глиомными клетками, концентрируясь в периопухолевом пространстве. Нейральные прогениторные клетки, при этом дифференцируются с образованием длинных отростков.

Морфометрический анализ глиом показал, что имплантация нейральных прогениторных и гемопоэтических стволовых клеток сопровождается достоверным замедлением роста экспериментальной глиомы С6 по сравнению с контролем. Механизмы опухоль-супрессивного воздействия нейральных и гемопоэтических стволовых клеток требуют дальнейшего изучения.

НСК В ТЕРАПИИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Александрова М.А.

Институт биологии развития РАН, Москва, Россия, mariaaleks@inbox.ru

Исследование биологии нейральных стволовых клеток (НСК) *in situ, in vitro* и при трансплантации направлено на выявление механизмов регуляции регенераторными процессами в мозге млекопитающих.

В работе исследовали ряд молекулярно-генетических механизмов в ходе развития нейральных стволовых и прогениторных клеток (НСКП) неокортекса и нейральной сетчатки человека *in vivo* и *in vitro*. Установлен паттерн экспрессии генов транскрипционных факторов *PAX6*, *PROX1*, *NANOG* и семейства *OCT4* в нативных тканях 8- 20 недель развития. Экспрессии *PAX6* и *PROX1* отражают специфику клеточной дифференцировки в изученных структурах, в то время как экспрессии *NANOG* и генов семейства *OCT4* свидетельствуют о наличии пула клеток с высокой пластичностью. В тоже время, при культивировании клетки нейральной сетчатки проявляют большую консервативность в экспрессии этих генов по сравнению с клетками неокортекса.

В тканях взрослого человека свойствами НСК обладают клетки ретинального пигментного эпителия сетчатки (РПЭ). ПЦР анализ показал, что *in vitro* стволовые свойства РПЭ проявляются в экспрессии генов *NANOG,* генов семейства *OCT4, PROXI, PAX6, NS* и *MUSASHI*. Клетки РПЭ, в средах для нейральных стволовых клеток с FGF и EGF и в средах кондиционированных НСПК из мозга, образуют агрегаты наподобие нейросфер. Иммуногистохимический анализ предполагает, что экспрессия культивируемыми клетками РПЭ глиальных и нейрональных маркеров отражает пластичность этих клеток *in vitro*. Одновременная экспрессия Pax6, нестина и GFAP клетками РПЭ *in vitro* свидетельствует о нахождение их на стадии ранних прогениторов/нейральных стволовых клеток. Увеличение ко 2-ому пассажу доли клеток, несущих маркеры beta-тубулин-III, NF, Prox1 и CNPase, свидетельствует о дифференцировке клеток в нейральном направлении в процессе культивирования. Иммуноферментный анализ и проточная цитофлуориметрия свидетельствовали, что в условиях культивирования клетки РПЭ сохраняют способность к синтезу и секреции важных регулирующих факторов PEDF и VEGF. К 4-пассажу клетки снижают экспрессию ряда нейральных маркеров, что подчеркивает необходимость подбора факторов стабилизирующих их дифференцировку, поскольку РПЭ могут быть потенциальным источником аутологичных клеток с нейральными свойствами для восстановления поврежденных тканей головного мозга и сетчатки.

Работа частично поддержана грантом РФФИ-11-04-00510

РОЛЬ МАКРОФАГОВ В РЕГУЛЯЦИИ РЕПАРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ В ЦНС И ИХ ВОЗМОЖНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ПРИ ПАТОЛОГИИ ЦНС

Черных Е.Р., Кафанова М.Ю., Шевела Е.Я., Сахно Л.В, Останин А.А., Козлов В.А.
Научно-исследовательский институт клинической иммунологии Сибирского отделения РАМН, 630099, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, д.14

Роль воспалительной реакции при повреждениях центральной нервной системы (ЦНС) противоречива. С одной стороны макрофаги могут оказывать токсический эффект на нейроны и клетки глии, с другой – обеспечивать нейропротекцию и стимулировать рост аксонов, спраутинг и ремиелинизацию. Оппозитные эффекты макрофагов могут быть обусловлены их функциональной гетерогенностью. Так, классические провоспалительные макрофаги (М1) обладают тканедеструктивной активностью, тогда как противовоспалительные макрофаги стимулируют репарацию тканей. Недавно нами была разработана технология генерации М2-подобных макрофагов с низкой провоспалительной активностью и высоким регенераторным потенциалом и исследована безопасность и эффективность применения этих клеток в лечении детского церебрального паралича (ДЦП). Эндолюмбальное введение М2-подобных макрофагов характеризовалось хорошей переносимостью и не сопровождалось развитием локальных или системных аллергических реакций, гематом или инфекционных осложнений. Через 3 мес после терапии у пациентов отмечалось снижение балла спастичности по Эшвоурту с $3,9 \pm 0.2$ до $3,1 \pm 0.2$ балла ($pu<0.01$). Моторная функция (GMFM тест) возрастала с $12,1 \pm 9,0$ до 60 ± 19 баллов

(pu<0.01). У трех из 6 детей отмечалось прекращение судорожного синдрома, у 4 – улучшение ментальных функций. Трансплантация М2-подобных макрофагов не вызвала увеличения IFN-γ и IL-17, однако сопровождалось достоверным возрастанием сывороточного уровня BDNF и VEGF. Таким образом, эндолюмбальное введение М2-подобных макрофагов является безопасным и улучшает неврологический статус у детей с ДЦП. Однако для более полной оценки эффекта этих клеток необходимы рандомизированные проспективные исследования с длительным наблюдением.

THE ROLE OF MACROPHAGES IN CNS REPAIR AND THEIR POSSIBLE APPLICATION IN CNS PATHOLOGY

Chernykh E.R., Kafanova M.Yu, Shevela E.Ya., Ostanin A.A., Kozlov V.A.
Research Institute of Clinical Immunology RAMS (Sib.Div.), 630099, Novosibirsk, Yadrintsevskaya, 14.

The role of inflammation following the damage of central nervous system is controversial. Macrophages can cause neuronal and glial toxicity as well as enhance neuroprotection and promote axon growth, sprouting and remyelination. The opposite effects of macrophages on CNS repair may be conditioned by their functional diversity. Thus, classical pro-inflammatory macrophages (M1) are tissue destructive, while anti-inflammatory (M2) macrophages mediate tissue repair. Recently we have generated M2-like macrophages with low proinflammatory activity and considerable regenerative potential and evaluated the safety and clinical efficacy of of these cells in treatment of cerebral palsy (CP). Endolumber administration of M2-like cells was well tolerated with no evidence of local and systemic allergic reactions, hematoma or infection complications. In 3 months after therapy average Ashworth scores decreased from 3.9 ± 0.2 to 3.1 ± 0.2 in the lower extremities (pu<0.01). Gross Motor Function Measure (GMFM) test improved from 12.1 ± 9.0 to 60 ± 19 points (pu<0.01). Three of six children with seizure syndrome experienced seizures arrest, four children improved mental functions. M2-like macrophage introduction was not accompanied by increase of serum levels of IFN-γ and IL-17, but resulted in significant enhancement of BDNF (pu<0,05) and strong tendency to enlargement of VEGF (pu=0.07). Thus, transplantation of M2-like macrophages via lumbar puncture is safe and improves neurological status in children with CP. However, to better define the therapeutic effect of these cells in CP, randomized, prospective trials and long-term follow-up are required.

ПРОБЛЕМЫ АДРЕСНОЙ КОРРЕКЦИИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

Козлов В.А.
Учреждение Российской академии медицинских наук Научно-исследовательский институт клинической иммунологии Сибирского отделения РАМН,
630099, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, д. 14

Мезенхимальныестромальные клетки (МСК) поддерживают пролиферацию, дифференцировку гемопоэтических предшественников и представляют интерес для клеточной терапии. АутологичныеМСК благоприятны для применения по этическим и практическим соображениям. Однако, данные о биологических свойствах МСК при гемобластозах и других патологиях, достаточно малы и часто противоречивы. При сравнении МСК, полученных из костного мозга, у доноров и у больных с гемобластозах, мы показали, что у пациентов МСК более адгезивны, имеют фибробластоподобную морфологию и типичный фенотип с незначительным снижением экспрессии стромальных антигенов. В отличие от доноров, МСК пациентов имеют

уменьшенный остеогенный потенциал и сниженную супрессорную активность в отношении Т-клеточной пролиферации, которая зарегистрирована только при высоких концентрациях МСК, в то время как эффективны в стимулировании роста гемопоэтических прекурсоров. Эти свойства в сочетании с exvivo способностью к экспансии легли в основу возможности клинического применения аутологичных ГСК/МСК при трансплантации в онкогематологии. Действительно, со-трансплантация МСК в средней дозе 0,17 x106/кг, проведенных у 22 пациентов с лимфомами, приводит к существенному снижению нейтро- и тромбоцитопении. Раннее восстановление абсолютного числа лимфоцитов выявляется значительно чаще при совместной трансплантации ГСК и МСК. Наконец, больные с МСКкотрансплантацией характеризовались более интенсивным восстановлением относительного и абсолютного числа наивных CD4+Т-клеток с тенденцией к более активному восстановлению всей популяции CD4+Т-клеток. Возможные механизмы, опосредующих влияние МСК на восстановление Т-лимфоцитов обсуждаются.

THE PROBLEM OF THE ADDRESS CORRECTION OF THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF STEM CELLS *IN VITRO*

Kozlov V.A

Research Institute of Clinical Immunology RAMS (Sib.Div.), 630099, Novosibirsk, Yadrintsevskaya, 14

Mesenchymal stromal cells (MSCs) support proliferation and differentiation of hematopoietic precursors, so are very attractive for cell therapy. Autologous MSCs are favourable in several applications for ethical and practical reasons. However, the data concerning the biologic properties of MSCs in hematological malignancies are few and often inconsistent. When comparing bone marrow-derived MSCs in donors and patients with hemoblastoses, we revealed that patient's MSCs are adhesive, have fibroblast-like morphology and a typical phenotype with slight decrease of stromal antigen expression. In contrast to donors, patient's MSCs have a reduced osteogenic potential and a lowered suppressive activity for T-cell proliferation which is only registered at high concentrations of MSCs, while are effective in stimulating of hematopoietic precursor growth (assessed by CFU-E and CFU-GM). These properties coupled with ex vivo expansion ability proved clinical use of autologous HSCs/MSCs transplantation in oncohematology to achieve a rapid hematopoietic recovery and avoid transplantation reactions. Indeed, co-transplantation of MSCs in an average dose of 0.17 $x10^6$/kg conducted in 22 patients with lymphomas results in significant decrease of neutropenia and thrombocytopenia. Moreover, early absolute lymphocyte count (ALC) recovery which predicts better survival after autologous HSC transplantation, was shown to be revealed significantly frequently in co-transplanted patients (71 vs 43%; $p<0.004$). Finally, patients with MSC co-transplantation were characterized by more intensive reconstitution of relative and absolute number of naive $CD4^+$T-cells ($p_U=0.047$ and $p_U=0.022$) and a trend towards more active reconstitution of total $CD4^+$T-cell ($p_U=0.058$). At the same time, MSC infusions did not affect Treg reconstitution andearly reconstitution of $CD8^+$T-cells. Analysis of 3-year overall survival also found no significant differences between the patients with standard HSC transplantation and co-transplantation of HSCs and MSCs.Possible mechanisms mediating effects of MSC on T lymphocyte reconstitution are discussed.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ ОЦЕНКИ ТОКСИЧНОСТИ НАНОЧАСТИЦ ОКИСЛОВ МЕТАЛЛОВ

Суетина И.А.[1], Подчерняева Р.Я.[1], Гущина Е.А.[1], Лопатина О.А.[1], Поклонов В.А.[2], Остроумов С.А.[2]

[1]*ФГБУ НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского Минздравсоцразвития РФ, Москва;*
[2]*МГУ имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Москва; ar55[at]yandex.ru;*

Рост использования наноматериалов делает необходимым исследования потенциальной опасности наночастиц для окружающей среды и человека [1-3].

Цель данной работы – оценить возможную токсичность наночастиц (НЧ) окислов металлов (наночастиц CuO и двух видов оксидов железа) в системе с клетками человека HeLa. Для изучения токсичности наночастиц и их воздействия на пролиферативную активность клеток HeLa применяли метод МТТ. Раститровку препаратов проводили на 96 - луночных планшетах (панелях) фирмы Wink с 24 - часовым монослоем клеток HeLa. Клетки HeLa рассевали на 96-луночную панель в концентрации 200000 кл/мл в каждую лунку в объёме 100мкл среды 199 с 10% эмбриональной телячьей сывороткой (ЭТС) и инкубировали в течение 24 часов в термостате с CO2 при 37ºС. Перед внесением препаратов инкубационную среду меняли, добавляя по 100 мкл среды 199 с 1% ЭТС в лунку.

Изучаемые препараты титровали в разведении: 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, 1/512, 1/1024 с помощью внесения их по 100 мкл в лунку и с 2-мя повторами на точку. Инкубация клеток с препаратами проводилась 24 часа в среде 199 с ЭТС. Для контроля титрование исходной H_2O на клетках проводилось параллельно с препаратами.

После инкубации клеток с препаратами в течение 24 часов в термостате с CO_2 при 37ºС среду 199 с 1% ЭТС отсасывали из лунок и добавляли по 100 мкл среды 199 с 20 мкл МТТ (фирма Sigma, в исходной концентрации 5 мг/ мл) и проводили инкубацию клеток с МТТ в течение 4 часов. Затем среду с МТТ удаляли и добавляли по 100 мкл диметилсульфоксида (ДМСО) для растворения восстановленного клетками HeLa формазана. Осадок клеток ресуспендировали в течение 5 мин пипетированием и измеряли оптическую плотность (ОП) при длине волны 492 нм с использованием фотометра «Stat Fax 3200».

На основании результатов тестирования с помощью МТТ-теста были рассчитаны коэффициенты пролиферации. Для контроля титрование исходной H_2O на клетках HeLa проводилось параллельно с препаратами.

Все три препарата вызвали снижение коэффициента пролиферации при разведениях ½ и ¼. Препараты 1 и 3 снижали коэффициент пролиферации также и при больших разведениях – вплоть до разведения 1/256. При всех этих разведениях препарат 1 сильнее снижал коэффициент пролиферации, чем препарат 3, т.е. препарат 1 проявил более высокую токсичность.

Наиболее сильным ингибирующим воздействием на пролиферацию клеток обладал препарат № 1 (НЧ оксида меди). Наименьшей токсичностью из этих трех препаратов обладал препарат № 5 (НЧ Fe_2O_3). Препарат № 3 [НЧ Fe_2O_3 (alpha)], занимал промежуточное положение.

Электронная микроскопия выявила патологические нарушения морфологии клеточных структур при воздействии НЧ Fe_2O_3 (alpha) на клетки [4]. НЧ были обнаружены в цитоплазе и вакуолях, но не в ядрах клеток HeLa.

Литература:

1. Johnson M.E., S.A. Ostroumov, J.F. Tyson and B. Xing. // Russian Journal of General Chemistry, 2011. 81 (13): 2688-2693. (на англ.яз).

2.Ostroumov S.A., Podchernyaeva R. Ya., Suetina I.A., Lopatina O.A., Johnson M.E., Tyson J.F.3, Xing B. //The 2nd International School «Nanomaterials and nanotechnology in living systems. Safety and nanomedicine. « (September 19-24, 2011). Moscow. P. 142. (на англ.яз).

3.Podchernyaeva R. Ya., Suetina I.A.1, Lopatina O.A., Ostroumov S.A.// The 2nd International School «Nanomaterials and nanotechnology in living systems. Safety and nanomedicine. « (September 19-24, 2011). Moscow. P.186-187. (на англ.яз).

4. Гущина Е.А., Суетина И.А., Лопатина О.А., Остроумов С.А., Клименко С.М., Подчерняева Р.Я.// Высокие технологии. Фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине. Том 3. Санкт-Петербург. 2011. С.18-21.

USING CELL TECHNOLOGIES TO ASSESS THE TOXICITY OF NANOPARTICLES OF METAL OXIDES

Suetina I.A.[1], Podchernyaeva R. Ya.[1], Gushina E.A.[1], Lopatina O.A.[1], Poklonov V.A.[2], Ostroumov S.A.[2]

[1]*D.I. Ivanovsky Institute of Virology of Minsotzdravrazvitia of the Russian Federation, Moscow;*
[2]*M.V. Lomonosov Moscow State University, Biological Faculty, Moscow; ar55 [at] yandex.ru;*

It is necessary to get data on potential hazards and behavior of nanomaterials in environment [1-3]. The aim of this work is to evaluate the possible toxicity of nanoparticles (NP) of metal oxides to the human cells HeLa. To study the toxicity of nanoparticles and their effects on the proliferative activity of HeLa cells, we used the MTT method.

The samples were put into the 96-well cell culture plates from Wink. 24 - hour monolayers of the cells HeLa were in the wells. The HeLa cells were in the 96 - well plates at a concentration of 200,000 cells / ml. Into each well, 100 ml of medium 199 with 10% fetal calf serum (FCS) was added. Then, the incubation was carried out for 24 hours in an incubator with CO_2 at 37 ° C. Before addition of the samples to the wells, the incubation medium was changed by adding 100 ml of 199 medium with 1% FBS to the wells.

The study samples of NP were titrated in a dilution of 1 / 2, 1 / 4, 1 / 8, 1 / 16, 1 / 32, 1 / 64, 1 / 128, 1 / 256, 1 / 512, 1 / 1024. The samples (100 ml) were added into the wells, in duplicates.

Cells were incubated with the samples of NP for 24 hours in an incubator with CO_2 at 37 ° C in 199 medium with 1% FBS. After that, the medium was removed from the wells. Then added to 100 ml of medium 199 with 20 ml of MTT (from Sigma, at the initial concentration of 5 mg / ml) was added. After that the cells were incubated with MTT for 4 hours. Then the medium with MTT was removed. Then 100 ml of dimethyl sulfoxide (DMSO) was added to dissolve the formazan which was reduced by the HeLa cells. The cell pellet was resuspended 5 minutes using a pipette. The optical density (OD) at a wavelength of 492 nm was measured using the photometer “Stat Fax 3200”. Based on the results of testing using the MTT test, rates of proliferation were calculated. In the control, the initial titration of H_2O on the HeLa cells was carried out in parallel with the preparations.

All three samples caused a decrease in proliferation rate at dilutions of ½ and ¼. Samples 1 and 3 reduced the rate of proliferation also at high dilutions, including the dilution 1 / 256. With all these sample dilutions, sample 1 reduced rate of proliferation more than the sample 3. Thus, sample 1 (CuO) showed the highest toxicity.

Among the three sample of nanoparticles which were tested, sample No. 1 (copper oxide nanoparticles) demonstrated the most potent inhibitory effect on the cell proliferation. Sample No. 5. — Fe_2O_3, — was found to be the least toxic of the three samples. Sample 3 - Fe_2O_3 (alpha), — occupied an intermediate position. Electron microscopy [4] demonstrated some pathology in cell structures under the effect of NP of Fe_2O_3 (alpha); the NP entered the cell cytoplasm and vacuoles but not the nuclei.

References.

1.Johnson M.E., S.A. Ostroumov, J.F. Tyson and B. Xing. // Russian Journal of General Chemistry, 2011. 81 (13): 2688-2693.

2.Ostroumov S.A., Podchernyaeva R. Ya., Suetina I.A., Lopatina O.A., Johnson M.E., Tyson J.F.3, Xing B. //The 2nd International School "Nanomaterials and nanotechnology in living systems. Safety and nanomedicine. " (September 19-24, 2011). Moscow. P. 142.

3.Podchernyaeva R. Ya., Suetina I.A.1, Lopatina O.A., Ostroumov S.A.// The 2nd International School "Nanomaterials and nanotechnology in living systems. Safety and nanomedicine. " (September 19-24, 2011). Moscow. P. p.186-187.

4. Gushina E.A.,1 Suetina I.A.,1 Lopatina O.A., 1 Ostroumov S.A., Klimenko S.M.,1 Podchernyaeva R. Ya. // High Technologies. Fundamental and Applied Studies in Physiology, Pharmacology, and Medicine. S.Petersburg, 2011. P.19-21.

ДЕНДРИТНЫЕ КЛЕТКИ: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ПОДХОДЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ ДЛЯ ТЕРАПИИ ИНФЕКЦИОННЫХ И ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Сенников С.В., Курилин В.В., Лопатникова Ю.А.

Научно-исследовательский институт клинической иммунологии Сибирского отделения РАМН, 630099, г.Новосибирск, ул. Ядринцевская, д.14

В настоящее время активно разрабатываются и используются клеточные технологии иммунотерапии социально-значимых инфекционных и онкологических заболеваний. С этой целью применяют аутологичные антиген-праймированные дендритные клетки, полученные в условиях *in vitro*. Дендритные клетки, способные распознавать и представлять антигены в комплексе с молекулами HLA I и II класса Т- и В-лимфоцитам, а также экспрессировать костимуляторные молекулы (CD80, CD86), демонстрируют высокую способность презентировать патогенассоциированые антигены. Разрабатываются различные подходы для праймирования антигенами дендритных клеток, в том числе с помощью белковых лизатов опухолевых клеток, РНК опухолевых клеток, специфических белков, РНК, а также ДНК конструкций, включающих последовательности антигена или отдельных эпитопов антигенов. В наших работах был отработан и экспериментально оценен протокол получения дендритных клеток, нагруженных антигенным материалом различными способами, а также оценена их способность стимулировать противоинфекционный и противоопухолевый цитотоксический клеточный иммунный ответ *in vitro* у больных с различной инфекционной и онкологической патологией. Эффективность модуляции иммунного ответа в культуре мононуклеарных клеток с помощью дендритных клеток была продемонстрирована при туберкулезе, гепатите В, раке яичника, колоректальном раке, раке молочной железы. Обсуждаются различные способы доставки антигена, различные протоколы получения дендритных клеток, способы оценки эффективности модуляции специфического иммунного ответа и перспективы клинического применения клеточной иммунотерапии с использованием дендритных клеток. Работа выполнена при финансовой поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» (ГК П 404) и «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007-2012 г.» (ГК 16.512.11.2188).

DENDRITIC CELLS. EXPERIMENTAL APPROACHES AND PERSPECTIVES OF THEIR APPLICATION FOR TREATMENT OF INFECTIOUS DISEASES AND CANCER

Sennikov S.V., Kurilin V.V., Lopatnikova Y.A.
Research Institute of Clinical Immunology RAMS (Sib.Div.),
630099, Novosibirsk, Yadrintsevskaya, 14.

At present it is actively developed and used cellular technologies of socially important infectious and oncological diseases immunotherapy. For this purpose, autologous antigen-primed dendritic cells obtained in vitro are used. Dendritic cells which are capable of recognize and present antigens in a complex with molecules of HLA I and II classes to T-and B-lymphocytes and express costimulatory molecules (CD80, CD86) demonstrate a high ability to present pathogen-associated antigens. It is developed different approaches to antigens priming of dendritic cells, including those witch are realized with a use of tumor cells proteins lysates, tumor cells RNA, specific proteins, RNA, as well as DNA constructs containing sequences of antigen or separate antigens epitopes.

In our studies a protocol of obtaining of dendritic cells loaded with antigenic material in different ways has been worked out and experimentally evaluated and also their ability to stimulate anti-infective and anti-tumor cytotoxic cellular immune response in vitro in patients with various infectious diseases and cancer has been assessed. The effectiveness of the modulation of immune response in cultures of mononuclear cells with the help of dendritic cells has been demonstrated in tuberculosis, hepatitis B, ovarian cancer, colorectal cancer, breast cancer. We discuss different ways of an antigen delivery, different protocols of dendritic cells obtaining, methods of evaluating of the modulation of a specific immune response effectiveness and the prospects of clinical application of cellular immunotherapy wits the use of dendritic cells.

This work was financially supported by the Federal Program “Scientific and scientific-pedagogical personnel of innovative Russia” (GC P404) and “Research and development on priority directions of scientific-technological complex of Russia in 2007-2012” (GC 16.512.11.2188).

АНАЛИЗ СВОЙСТВ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК, СУЩЕСТВЕННЫХ ДЛЯ ПОНИМАНИЯ ПЕРВОПРИЧИН СТАРЕНИЯ

Халявкин А.В.[1,2]**, Крутько В.Н.**[2]
[1]*Институт биохимической физики РАН, ул. Косыгина 4, Москва 119334*
[2]*Институт системного анализа РАН, ул. 60-летия Октября 9, Москва 117312*

Соматические стволовые клетки, являются источником новых клеток для всех тканей. И было необходимо объяснить «почему стареют организмы, состоящие из потенциально нестареющих клеток» [1,2]. Но клеточные технологии и аналитические подходы пока не приблизили нас к пониманию причин и механизмов старения. Ведь укорочению теломерных участков хромосом, возрастному гипометилированию генома, повреждающему действию активных форм кислорода, и т.п. могут препятствовать теломераза, ДНК-метилаза, эндогенные антиоксиданты с механизмами репарации, и т.п. Переход на мезоуровень, вкупе с теорией управления, системным подходом и закономерностями статистики смертности позволяет понять, как темп старения связан со степенью удаления режимов жизнедеятельности от состояния динамической устойчивости организмов [2-5]. Вне устойчивого режима потенциально нестареющие стволовые клетки должны неизбежно снижать свою активность, приводя к старению особи. Однако старение самих стволовых клеток обратимо. Это доказывается гетерохронным парабиозом или культивированием клеток вне угнетающих сигналов нестабильности и стареющего организма.

1. *Frolkis V.V., Muradian K.K.*Life span prolongation. CRC Press, Boca Raton, 1991.
2. *Khalyavkin A.V.*Potential non-senescence of human cells and human body // Cell Biology International 1994, Vol. 18 (5), P. 522.
3. *Khalyavkin A.V.*Influence of environment on the mortality pattern of potentially non-senescent organisms. General approach and comparison with real populations // Adv. Gerontol. 2001, Vol. 7, P. 46-49.
4. *Khalyavkin A.V.*The updated view concerning the possibility of growing old without senescence // Rejuvenation Res. 2010, Vol. 13 (2-3), P. 319-321.
5. *Khalyavkin A.V., Yashin A.I.*Nonpathological senescence arises from unsuitable external influences // Ann. N.Y. Acad. Sci. 2007, Vol. 1119, P. 306-309.

THE ANALYSIS OF THE PROPERTIES OF STEM CELLS THAT ARE ESSENTIAL FOR UNDERSTANDING THE UNDERLYING CAUSES OF AGING

Khalyavkin A.V.[1,2]**, Krutko V.N.**[2]
[1]*Institute of Biochemical Physics of RAS, Kosygin Str. 4, Moscow 119334*
[2]*Institute for System Analysis of RAS, ul. 60-letiya Oktyabrya 9, Moscow 117312*

Somatic stem cells are a source of new cells for all tissues. For this reason it is necessary to explain «why the organisms consisting of potentially ageless cells grow old» [1,2]. But cell technologies and analytical tools yet haven't approached us to understanding of the causes and mechanisms of aging. Because we know that telomerase can interfere with shortening telomeric tips of chromosomes, as well as the endogenous antioxidants and reparation mechanisms can resist to damaging action of active forms of oxygen, as well as the DNA methylase can operate against age-dependent hypomethylation of genome, etc. Transition to *meso* level, together with the control science regularities, with the systems theory approach and with the patterns of mortality allows understanding, how rate of aging is connected with the degree of deviation of mode of life from a state of dynamic stability of organisms [2-5]. Outside of a steady mode potentially non-senescent stem cells should inevitably reduce the activity, resulting to aging of an organism. However aging of stem cells is reversible. It is proved via heterochronic parabiosis or cultivation of stem cells outside of oppressing signals of internal instability and growing old organism.

1. *Frolkis V.V., Muradian K.K.*Life span prolongation. CRC Press, Boca Raton, 1991.
2. *Khalyavkin A.V.*Potential non-senescence of human cells and human body // Cell Biology International 1994, Vol. 18 (5), P. 522.
3. *Khalyavkin A.V.*Influence of environment on the mortality pattern of potentially non-senescent organisms. A general approach and comparison with real populations // Adv. Gerontol. 2001, Vol. 7, P. 46-49.
4. *Khalyavkin A.V.*The updated view concerning the possibility of growing old without senescence // Rejuvenation Res. 2010, Vol. 13 (2-3), P. 319-321.
5. *Khalyavkin A.V., Yashin A.I.*Nonpathological senescence arises from unsuitable external influences // Ann. N.Y. Acad. Sci. 2007, Vol. 1119, P. 306-309.

ПОСТЕРЫ
POSTERS

ВЛИЯНИЕ БЕЛКОВ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА НА ПРИКРЕПЛЕНИЕ К СУБСТРАТУ И СТРУКТУРУ АКТИНОВОГО ЦИТОСКЕЛЕТА МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА

Монахова В.С.[1], **Пинаев Г.П.**[2]

[1]*Санкт-Петербургский Государственный Технологический Институт (Технический Университет),190013, Санкт-Петербург, Московский пр., 26*

[2]*Институт цитологии РАН, 196064, Санкт-Петербург, Тихорецкий пр.,4*

Для применения мультипотентных мезенхимных стромальных клеток (ММСК) костного мозга в тканевой инженерии в составе имплантов необходимо обеспечить их прочную иммобилизацию на подходящих носителях, контролируемый рост и направленную дифференцировку. В последние годы в качестве «посредника» между клетками и носителем активно используются различные белки внеклеточного матрикса (ВКМ), являющиеся обязательной частью клеточного микроокружения и играющие важную роль во многих процессах, происходящих в клетке. Ранее было показано, что во время распластывания на иммобилизованных белках в клетках формируются специфические структуры актинового цитоскелета, отражающие степень взаимодействия между клетками и субстратом и их дальнейшее поведение. Целью настоящего исследования являлось изучение адгезивной способности и влияния на формирование актинового цитоскелета ММСК костного мозга отдельных белков ВКМ — фибронектина, ламинина 2/4, коллагенов I и IV типа.

Проводили изучение формы клеток, количества распластанных клеток и характера организации актинового цитоскелета ММСК, выделенных из костного мозга кролика и прокультивированных *in vitro* в течение нескольких пассажей, под влиянием ряда белков ВКМ, иммобилизованных на пластике культуральной посуды. После часовой инкубации ММСК на белках ВКМ можно было наблюдать, что наиболее распластанными выглядели клетки, прикрепившиеся к фибронектину. Анализ числа адгезировавших к субстрату клеток выявил, что по сравнению с отрицательным контролем (1%-ный раствор альбумина) количество клеток в лунках с фибронектином было в 2.01±0.41, ламинином 2/4 – в 1.96±0.56, коллагеном I типа – в 2.26±0.83 и коллагеном IV типа – в 1.5±0.26 раза выше. Изучение особенностей структурной организации актинового цитоскелета ММСК выявило, что большинство клеток, распластанных на фибронектине (~95%), обладали многоугольной или округлой формой и хорошо структурированным цитоскелетом, представленным стресс-фибриллами. На субстрате, покрытом ламинином 2/4, клетки приобретали вытянутую форму с широкой ламеллой на ведущем крае, в которой были сосредоточены пучки актиновых филаментов. ММСК, посаженные на коллаген I типа, в основном, представляли собой клетки округлой формы со складчатой ламеллой по краю с сетью актиновых филаментов. ММСК на коллагене IV типа имели несколько филоподий, направленных в разные стороны, элементы цитоскелета в виде коротких пучков актиновых филаментов были представлены по краю клетки. Нужно отметить, что после инкубации на последних трех белках в течение 1 ч около трети клеток еще оставались не распластанными.

На данном этапе работы, в котором определялась степень взаимодействия ММСК с белками ВКМ, было выявлено, что фибронектин в наибольшей степени способствовал иммобилизации стромальных клеток к субстрату и препятствовал их активной миграции. В дальнейшем планируется внесение белков ВКМ в индуцирующие среды с целью изучения их влияния на способность стволовых клеток к дифференцировкам в различных направлениях.

INFLUENCE OF EXTRACELLULAR MATRIX PROTEINS TO ATTACHMENT FOR SUBSTRATE AND STRUCTURE OF ACTIN CYTOSKELETON OF MULTIPOTENT MESENCHYMAL STROMAL CELLS FROM BONE MARROW

Monahova V.S.[1], **Pinaev G.P.**[2]

[1]*Saint-Perersburg State Institute of Technology (Technical University), 190013, St.-Petersburg, Moskovsky prospect, 26*

[2]*Institute of Cytology of Russian Academy of Sciences, 196064, St.-Petersburg, Tikhoretsky avenue, 4*

For the application of multipotent mesenchymal stromal cells (MMSCs) from bone marrow in tissue engineering as a part of implants it is necessary to ensure strong immobilization on appropriate solid substrate, controlled growth and multilineage differentiation. In recent years extracellular matrix (ECM) proteins, which are the mandatory part of the cellular microenvironment and play an important role in many processes, taking place in the cells, are often used as "intermediators" between cells and solid substrate. It was previously shown that during the spreading on immobilized proteins specific structures of actin skeleton were forming, that reflect the degree of interaction between cells and substrate and determine the cell behavior in future. The aim of this investigation was to evaluate the influence of discrete ECM proteins – fibronectin, laminin 2/4, collagen type I and IV – on adhesive ability and formation actin cytoskeleton of MMSCs.

The study of cell shape, the number of spreading cells and actin cytoskeleton organization of MMSCs, isolated from rabbit bone marrow and cultivated *in vitro* for several passages on solid substrate coated with ECM proteins, immobilized on plastic culture dishes, were carried out. After an hour incubation on immobilized ECM proteins the cells, spreading on fibronectin, looked like the most attached. Analysis of the number of cells adhered to different substrates was shown that as compared with the negative control (1% albumin solution) the number of cells attached to fibronectin was 2.1±0.41, laminin 2/4 – 1.96±0.56, collagen type I – 2.26±0.83 and collagen type IV – 1.5±0.26 times higher. Study of the feature of the structural organization of actin cytoskeleton found out that the majority of cells attached to fibronectin (~95%) had a polygonal or round shape and a well-structured cytoskeleton, represented by the stress-fibrils. On the substrate, coated with laminin 2/4, the cells acquired an elongated shape, had a wide lamellae at the leading edge, where bundles of actin filaments concentrated. MMSCs, planted on collagen type I, basically, had a round shape and a wide lamellae with the network of actin filaments at the edge. MMSCs on collagen type IV had a few filopodia, directed in different sides, also the elements of cytoskeleton presented at the edge of the cells in the shape of short bundles of actin filaments. It should be noted that in an hour incubation on substrates coated by the last three proteins, about one third of the cells still had not attached.

This investigation of interaction between bone marrow stromal cells and different ECM proteins was reveled that fibronectin promoted to the immobilization of MMSCs to the substrate to the fullest extent and prevented their active migration. Continuation of that work will be study of the role of ECM proteins in stem cells multilineage differentiation processes.

ИЗУЧЕНИЕ АДГЕЗИВНЫХ СВОЙСТВ ПРОБИОТИЧЕСКОГО ШТАММА *ENTEROCOCCUS THAILANDICUS* С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЛИНИИ КЛЕТОК CACO-2

Нгуен Тхи Минь Кхань, Машенцева Н.Г.
ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет пищевых производств»
109316, Москва, ул. Талалихина, 33

В нашей работе проведено изучение адгезивных свойств непатогенного штамма *Enterococcus thailandicus* КПБ-2 (ВКПМ В-10684), выделенного из национальной колбасы Вьетнама «Нем-Чуа». В качестве контроля был выбран штамм *Enterococcus faecalis* 55 (ВКПМ В-8652), в геноме которого обнаружен ген вирулентности *agg* (прикрепление бактерий к поверхности эукариотической клетки).

Для изучения адгезивных свойств штамма *E. thailandicus* КПБ-2 использовали линию клеток Caco-2 (эпителеподобные клетки аденокарциномы ободочной кишки человека) в монослое. Клеточную культуру выращивали на 6-луночном планшете в условиях 5% CO_2 до образования монослоя в течение 5–7 суток. Образовавшийся монослой клеток Caco-2 инокулировали 1 мл бактериальной культуры определенной концентрации. После инокуляции культуры выдерживали в течение 1 ч при 37 °С, затем отмывали физраствором для удаления несвязанных бактериальных клеток. Снятие монослоя со связанными бактериальными клетками осуществлялось растворами Версена 0,02% и трипсина 0,25% в соотношении 3:1. Для подсчета связанных бактериальных клеток использовать метод разведений при выращивании клеток на плотной среде MRS. Адгезивные свойства микроорганизмов определяются по числу бактерий, связывающихся с 1000 клетками Caco-2: от 1010 до 3000 бактериальных клеток – высокоадгезивный штамм; от 210 до 1000 – среднеадгезивный; от 0 до 200 – низкоадгезивный. Результаты исследования показали, что с 1000 клетками Caco-2 связывается 27×10^3 клеток *E. thailandicus* КПБ-2 и 109×10^3 клеток *E. faecalis* 55. Из этого исследует, что *E. thailandicus* характеризуется высокоадгезивными свойствами, хотя ниже, чем у штамма *E. faecalis*. Адгезивность является одним из важных свойств пробиотических штаммов, поэтому определение адгезивных свойств является важным этапом для исследования пробиотических микроорганизмов.

STUDY THE ADHESIVE PROPERTIES OF STRAIN ENTEROCOCCUS THAILANDISCUS USING CACO-2 CELL LINE

Nguyen Thi Minh Khanh, Mashentseva N.G.
FGBOU VPO «Moscow State University of Food Production»
109316, Moscow, Talalikhina street, 33

The adhesive properties of non-pathogenic strain *Enterococcus thailandicus* KPB-2 (VKPM B-10684), which was isolated from Vietnam national sausage «Nem Chua», was studied in our research. The strain was used as a control called *Enterococcus faecalis* 55 (VKPM B-8652), which has virulence genes *agg* in its genome (to help the bacteria adhere to the surface of eukaryotic cells).

For the purpose of studying adhesive properties of the strain *E. thailandicus* KPB-2, the cell line Caco-2 (human epithelial colorectal adenocarcinoma cells) in a monolayer was used. Cell culture was cultivated in 6-well plates 5% CO_2 in the incubator up to the time (in 5–7 days), when a monolayer of cells was formed. Then 1 ml of bacterial culture with a certain concentration was inoculated on the surface of the Caco-2 formed monolayer. After inoculation, the bacterial culture was kept to grow in an hour at 37 °C, after that, the monolayer was washed with physiological saline to remove non-adhering bacterial cells. For removing the Caco-2 monolayer with adhering bacterial cells used solutions Versene 0,02% and Trypsin 0,25% in the ratio of 3:1. In order to determine the number of

bacteria, which adhered to the monolayer, the dilution technique and cultivation on the MRS agar medium in the plates were used. The adhesive properties of these microorganisms was determined by the number of bacterial cells adhered to 1000 Caco-2 cells: from 1010 to 3000 bacterial cells – high adhesive properties, from 210 to 1000 – average properties, from 0 to 200 – weak adhesive properties. By the result, 27×10^3 cells of *E. thailandicus* KPB-2 and 109×10^3 cell of *E. faecalis* 55 were adhered to 1000 Caco-2 cells. It shows that *E. thailandicus* KPB-2 has high adhesive properties, although those properties are lower than the adhesive properties of the strain *E. faecalis* 55. Adhesive properties are one of the most important characters of probiotic strains. Therefore, determining adhesive properties is an important stage to study about probiotic microorganisms.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КЛЕТОЧНЫХ НОСИТЕЛЕЙ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ РЕЗОРБИРУЕМЫХ ПОЛИГИДРОКСИАЛКАНОАТОВ РАЗЛИЧНОГО ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА

Николаева Е.Д.[1], **Шишацкая Е.И.**[1,2], **Волова Т.Г.**[1,2], **Горева А.В.**[1]
[1]*Институт биофизики СО РАН, 660036, г. Красноярск, Академгородок 50, стр. 50*
[2]*Сибирский Федеральный университет, г. Красноярск*

В работе проведена оценка биосовместимости матриксов, полученных из ПГА разного состава: гомополимер 3-гидроксимасляной кислоты, сополимеры 3-гидроксимасляной и 4-гидроксимасляной кислот, 3-гидроксимасляной и 3-гидроксивалериановой кислот, 3-гидроксимасляной и 3-гидроксигексановой кислот. Изучена микроструктура поверхности матриксов и физико-химические свойства поверхности и показаны отличия основных характеристик в зависимости от состава ПГА. Биосовместимость материалов изучена *in vitro* при прямом контакте с культурой клеток и *in vivo* – при подкожной имплантации крысам линии Вистар в течение 6 месяцев. Исследована биоразрушаемость матриксов из ПГА *in vivo*.

Установлено, что при прямом контакте с клетками все типы ПГА не оказывали цитотоксического эффекта, по адгезивным свойствам и способности поддерживать пролиферацию фибробластов ПГА сопоставимы с полистиролом и превосходят полилактид. Существенных отличий в реакции тканей на имплантацию матриксов, изготовленных из всех исследованных типов ПГА, не выявлено. Реакция тканей на матриксы из ПГА разных типов характеризуется непродолжительным посттравматическим воспалением без образования выраженных фиброзных капсул и иных неблагоприятных реакций. Биодеградация матриксов *in vivo* зависит от химического состава ПГА. Наиболее быстро разрушаемыми являются сополимеры П3ГБ/3ГГ, далее интенсивность разрушения снижается в ряду П3ГБ/4ГБ — П3ГБ/3ГВ — П3ГБ.

COMPARATIVE INVESTIGATION OF PHA SCAFFOLDS WITH VARIOUS CHEMICAL COMPOSITIONS

Nikolaeva E.D.[1], **Shishatskaya E.I.**[1,2], **Volova T.G.**[1,2], **Goreva A.V.**[1]
[1]*Institute of Biophisycs, Siberian Branch of RAS,*
660036, Krasnoyarsk, Akademgorodok 50, bild. 50
[2]*Siberian Federal University, Krasnoyarsk*

Biocompatibility of PHAs of different chemical compositions (poly-3-hydroxybutyrate, poly-(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate), poly-(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate), poly-(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) was investigated. Surface microstructure and physicochemical properties of scaffolds were studied. It has been found experimentally that PHAs

of different chemical compositions had some differences of main characteristics. Biocompatibility of PHAs is studied *in vitro* in contact with cell culture and *in vivo* by subcutaneous implantation to rats of Wistar line for 6 months. Also biodegradation of PHA scaffolds was studied *in vivo.*

In this study all investigated PHAs had no cytotoxicity effect for cells. Cell attachment and proliferation on PHA scaffolds were similar to those on polystyrene and better than those on membranes prepared from polylactic acid.

No significant differences have been found in tissue response to implantation of PHAs used in this study. Tissue reaction for PHA scaffolds expressed by short-term posttraumatic inflammation and non-coarse fibrous capsules that formed around PHA scaffolds without backlashes. *In vivo* biodegradation behavior of polymer matrices is related to the chemical composition of the PHA. Matrices prepared from copolymer PHAs that, in addition to 3-hydroxybutyrate, contained 3-hydroxyhexanoate or 4-hydroxybutyrate exhibited the fastest degradation rates. P3HB/3HV matrices were degraded more slowly, and P3HB matrices were the most durable.

СТАБИЛИЗАЦИЯ ОКСИДАЗЫ D-АМИНОКИСЛОТ ИЗ ДРОЖЖЕЙ *TRIGONOPSIS VARIABILIS* ГИДРОФОБИЗАЦЕЙ А-СПИРАЛЕЙ МЕТОДОМ НАПРАВЛЕННОГО МУТАГЕНЕЗА

Рыженкова К.В.[1], **Комарова Н.В.**[2,3]
[1]*Химический факультет МГУ имени М.В.Ломоносова, 119992 Москва*
[2]*Институт Биохимии им. А.Н. Баха РАН, 119071 Москва*
[3]*ООО «Инновации и высокие технологии МГУ», 109559, Москва*
E-mail: ksenia.ryzhenkova@gmail.com

Оксидаза D аминокислот (DAAO, КФ 1.4.3.3) относится к классу FAD содержащих оксидоредуктаз и катализирует окислительное дезаминирование D-аминокислот в соответствующие α-кетокислоты. Фермент играет важную роль в регуляции живой клетки и широко применяется на практике. Однако природные оксидазы D-аминокислот из всех изученных источников обладают рядом недостатков, например, невысокой температурной стабильностью, что затрудняет применение фермента на практике. Для получения TvDAAO с заданными свойствами применяются как методы неупорядоченного мутагенеза, так и рационального дизайна.

Ранее был клонирован ген оксидазы D-аминокислот из дрожжей *Trigonopsis variabilis*, и создана система экспрессии фермента в клетках *E.coli*. Рекомбинантный фермент получен в растворимой и активной форме. Также в нашей лаборатории впервые в мире была определена структура TvDAAO, что позволяет проводить эксперименты по направленной инженерии свойств фермента.

Для повышения термостабильности был выбран метод гидрофобизации α-спиралей. Был проведен подробный анализ трехмерной структуры TvDAAO, в результате которого были найдены остатки серина, находящиеся в альфа-спиралях и не являющиеся консервативными. В данной работе была проведена замена четырех остатков серина на остаток аланина.

Для изучения влияния этих остатков на свойства TvDAAO получены четыре мутантные формы фермента с аминокислотнойи заменой Ser/Ala в различных положениях. Мутантные ферменты экспрессировали в клетках *E.coli* по разработанной ранее методике. Все мутеины получили в активной и растворимой форме. Было изучено влияние введенных аминокислотных замен на термостабильность и субстратную специфичность фермента.

STABILIZATION OF D-AMINO ACID OXIDASE OBTAINED FROM *TRIGONOPSIS VARIABILIS* YEAST USING HYDROPHOBIZATION OF A -HELIXES WITH SITE-DIRECTED MUTAGENESIS METHOD

Ryzhenkova K.V.[1], **Komarova N.V.**[2,3]

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

[2]*A.N. Bach Institute of Biochemistry, Russian Academy of Sciences, 119071 Moscow, Russian Federation*

[3]*Innovations and High Technologies MSU Ltd., 109559 Moscow, Russian Federation*

E-mail: ksenia.ryzhenkova@gmail.com

D-amino acid oxidase (DAAO, EC 1.4.3.3) is FAD containing enzyme that catalyzes oxidative deamination of D-amino acids to corresponding α ketoacids. This enzyme plays important part in regulation of many processes, and it is widely used in practice. The main drawbacks of all native DAAO are insufficient temperature stability, non-optimal profile of substrate specificity etc. These factors are limiting the practical application of DAAO. To improve the properties of enzymes, different mutagenesis approach are used. One of the most promising methods is site-directed mutagenesis method.

D-amino acid oxidase obtained from yeast *Trigonopsis variabilis* (TvDAAO) is one of the most popular enzymes and it is used in some practical processes including oxidation of cephalosporin C. Gene of *Tv*DAAO was cloned and expressed in *E.coli* cells in our laboratory. The enzyme was expressed at high level in soluble and active form. Solution of 3D structure of mutant TvDAAO provided powerful background for rational design of the enzyme properties.

Method of hydrophobization of a-helix has been chosen for improvement of thermal stability of the enzyme. To locate the promising positions in protein globule for site directed mutagenesis, analysis of 3D structure was combined with alignment of DAAO amino acid sequences from different sources. In this work we decided to change serine for alanine.Four mutant forms — Ser77Ala, Ser78Ala, Ser270Ala and Ser277Ala were obtained and expressed in *E.coli* cells. The mutants were characterized for substrate specificity and thermal stability.

ПОЛУЧЕНИЕ БИОМЕДИЦИНСКИХ КОНСТРУКЦИЙ В ВИДЕ МАТРИКСОВ ИЗ ПГА ДЛЯ ЗАДАЧ КЛЕТОЧНОЙ И ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ

Шумилова А.А.[1], **Шишацкая Е.И.**[2]

[1]*Сибирский Федеральный Университет, Россия, г. Красноярск, 660041, пр. Свободный, 79*

[2]*Институт Биофизики СО РАН, Россия, г. Красноярск, 660036, Октябрьский район, Академгородок, 50*

Последние достижения в области клеточной и тканевой инженерии открыли широкие перспективы для создания принципиально новых и эффективных биомедицинских технологий восстановления поврежденных тканей и органов, лечения ряда тяжелых заболеваний человека. Тканевая инженерия в настоящее время является одной из наиболее молодых и перспективных отраслей в медицине; используемый в ней междисциплинарный подход направлен в первую очередь на создание новых биокомпозиционных конструкций для восстановления утраченных функций отдельных тканей или органов в целом. Основные принципы данного подхода заключаются в разработке и применении при имплантации в поврежденный орган или ткань носителей из биодеградирующих материалов, которые используются в сочетании либо с донорскими клетками или с биоактивными веществами.

Среди материалов, разрабатываемых и исследуемых, применительно к этим задачам большой интерес вызывают — полигидроксиалканоаты (ПГА). ПГА — этобиоразрушаемые линейные полиэфиры микробиологического происхождения. Полигидроксиалканоаты самостоятельно могут выполнять роль каркаса (матрикса), а также использоваться в сочетании (композиции) с различными материалами, препаратами и клетками для улучшения их биосовместимости и физико-механических свойств.

В работе получены и исследованы экспериментальные образцы полимерных конструкции в качестве матриксов для культивирования клеток.

Использованы образцы гомогенного полимера 3-гидроксимасляной кислоты (П-3-ГБ) с включением 3-гидроксивалерата (3-ГВ) 9,3 мол %.

Объемные пористые матриксы коллаген-3-ПГБ готовили на основе коллагеновой губки (ОАО «Лужский з-д Белкозин») растворов полимера различной плотности (1, 3 и 5 %).

Установлено, что наибольший показатель (0,65 ± 0,12 См3/г) суммарной пористости имела коллагеновая губка, пропитанная 1% раствором полимера. Показатель влагопоглощения коллаген-полимерных матриксов для растворов в 3 и 5% имел близкие значения (44,3 ± 0,23%; 49,2 ± 0,185%) в отличие от матриксов, пропитанных 1%-м раствором полимера (79,8 ± 0,25%). В гибридном матриксе коллаген-П-3-ГБ (пропитанный 3 и 5% растворами полимера) это значение немного ниже (32,5 ± 0,25%; 38,5 ± 0,20%).

Доказано, что для стерилизации разработанных матриксов пригодна сухо — жаровая стерилизация, которая не вызывала изменения внешнего вида и структуры матрикса.

Функциональные свойства матриксов исследованы в культуре фибробластов мыши линии NIH 3T3. Засев производили из расчета 6 х 10^3 на одну губку. Губки, армированные полимером и засеянные клетками, размещали в чашках Петри (3 матрикса/чашка), содержащих 10 мл среды (ДМЕМ, сыворотка теленка 10%, раствор антибиотиков 2% (пенициллин 100ед/л, стрептомицин 100мкг/л)) (реактивы Sigma-Aldrich). Культивирование клеток проводили в культуральной среде в CO_2 – инкубаторе (Innova, CO-48).

Через 7 суток после засева число клеток на композитном матриксе, пропитанном 1%-м раствором П-3-ГБ, составило 200×10^3кл/матрикс; на матриксах, пропитанных более плотными полимерными растворами (3 и 5%), количество клеток было близким, соответственно, 160×10^3 кл/матрикс и 150×10^3 кл/матрикс. На 14 день количество клеток на всех композитных матриксах было практически одинаковым, порядка 500×10^3 кл/матрикс.

В целом, выполненные исследования показали возможность получения композитов, пригодных для выращивания клеток из объемных пористых ПГА/коллаген матриксов.

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

ИЗУЧЕНИЕ СПОСОБНОСТИ ВИРУСА ЛЕЙКОЗА КРС АКТИВИРОВАТЬ ТОЛЛ-ПОДОБНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ

Артемичева Н.М., Жарова Ю.П.
МГУПП; Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи»

Развитие реакций врожденного иммунитета начинается с распознавания рецепторами иммунной системы различных консервативных участков патогенов (молекулярных паттернов). Одними из ключевых рецепторов, выполняющих эту функцию, являются Толл-подобные рецепторы (Toll-like receptors — TLRs). Они могут распознавать молекулярные паттерны как бактериальной, так и вирусной природы. При этом, ранее считалось, что если бактерии содержат в своей структуре несколько лигандов TLRs, то вирусы содержат только один распознаваемый иммунной системой молекулярный паттерн — нуклеиновую кислоту (ДНК или РНК). Однако последние исследования показали, что некоторые вирусы также могут содержать в своей структуре несколько молекулярных паттернов и распознаваться различными TLR.

Целью нашей работы было оценить активацию различных Толл-подобных рецепторов в ответ на добавление вируса лейкоза крупного рогатого скота (ЛКРС). Для выполнения поставленной цели, была использована культура клеток NUAA (эпителий мочевого пузыря человека), которая экспрессирует большое количество Толл-подобных рецепторов (TLR2, TLR4, TLR3, TLR5, TLR8). Активация Толл-подобных рецепторов оценивалась по транслокации в ядро субъединицы p65 ядерного фактора NFkB (методом иммуноблотинга). Было показано, что в ответ на добавление лизата вируса ЛКРС происходит активация Толл-подобного рецептора 3, лигандом которого является двуспиральная вирусная РНК. Также методом от-пцр был определен профиль генов, экспрессия которых изменяется в ответ на добавление лизата вируса ЛКРС. В качестве контроля использовался ситетическая двуспиральная РНК PolyI:C (лиганд TLR 3), а также липополисахарид E.coli (ЛПС), который является лигандом TLR4. Было показано, что в ответ на добавление лизата ЛКРС, также как и в ответ на добавление Poli I:C поднимается экспрессия хемокинов RANTES, MIP1b, интерферона альфа, его рецептора и интерфрон-индуцибельных белков (IFIH1, IFIH2, IFIH3, IFIH5, IFITM 1). В ответ на добавление ЛПС экспрессия данных генов не изменялась.

STUDING THE ABILITY OF BOVINE LEUKEMIA VIRUS TO ACTIVATE TOLL-LIKE RECEPTORS

Artemicheva N.M., Zharova Y.P.
FGBOU VPO «Moscow State University of Food Production»
109316, Moscow, Talalikhinastreet, 33
D.I. Ivanovski Virology Institute, 123098, 16, Gamalei st., Moscow, Russia

The development of the innate immune reaction begins with recognition of various conservative pathogen associated molecular patterns (PAMPs) by pattern-recognition receptors (PRRs) of innate immune system. One of the key PRRs that perform this function are the Toll-like receptors (TLRs). Members of this family recognize molecular structures of bacterial and viral origin. At the same time, earlier it was believed that bacteria contain several ligands of TLRs, but the viruses contain only one recognized by the PRRs molecular pattern — a nucleic acid (DNA or RNA), recognized by TLR3 or

9, respectively. However, recent studies have shown that viruses also contain in their structure more than one type of molecules recognized by various Toll-like receptors.

The aim of our study was to evaluate the activation of different Toll-like receptors in response to the addition of Bovine leukemia virus (BLV). To fulfill this goal, we used cell culture NUAA (human bladder epithelium), which expresses a large number of Toll-like receptors (TLR2, TLR4, TLR3, TLR5, TLR8). Activation of Toll-like receptors was assessed by translocation into the nucleus p65 subunit of nuclear factor NFkB (by Western blot analysis). It was shown that addition of the virus lysate BLV led to activation of Toll-like receptor 3 which ligand is a double-stranded viral RNA. Also, using RT-PCR analysis we determined profile of genes which expression varies in response to the addition of the lysate BLV. As a positive control, we used synthetic double-stranded RNA — PolyI: C (ligand of TLR 3) and lipopolysaccharide E.coli (LPS), which is a ligand of TLR4. It was shown that addition of lysate BLV, as well as in response to the addition Poli I: C led to induction of expression of several chemokines, such as RANTES, MIP1b, interferon alpha, its receptor and interfron-inducible protein (IFIH1, IFIH2, IFIH3, IFIH5, IFITM a).At the same time in response to the addition of LPS expression of these genes did not change.

МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТРОМАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ ПОВЫШАЮТ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ С ОСТРОЙ АТАКОЙ ЯЗВЕННОГО КОЛИТА

Лазебник Л.Б.[1], **Князев О.В.**[1], **Коноплянников А.Г.**[2]

[1]*ЦНИИ гастроэнтерологии Департамента здравоохранения г. Москвы,*

[2]*Медицинский радиологический научный центр МЗ и СР РФ, г.Обнинск.*

Частота рецидивов язвенного колита (ЯК) в течение первого года после установления диагноза составляет 50%, в течение 3–7 лет после установления диагноза ремиссия сохраняется у 25% больных, ежегодные рецидивы составляют 18%. Только у 50% больных после первой атаки ЯК ремиссия сохраняется на протяжении 5 лет.

Цель: оценить влияние культуры мезенхимальных стромальных клеток (МСК) у больных с острой (первичной) атакой ЯК на продолжительность ремиссии заболевания.

Материалы и методы. Сформированы две группы пациентов с острой атакой ЯК. Первая группа МСК (n=12) — больные ЯК, получившие МСК, вторая группа — 5-АСК/ГКС (n=10) – больные, получившие стандартную противовоспалительную терапию препаратами 5-аминосалициловой кислоты (5-АСК) и глюкокортикостероидами (ГКС). Возраст больных составил от 22 до 44 лет (Me-29 лет), степень тяжести атаки заболевания – средней и тяжелой степени, протяженность поражения – левостороннее и тотальное, время наблюдения составило от 24 до 36 месяцев. Клиническая активность ЯК оценивалась по шкале Рахмилевича. Эндоскопическая картина оценивалась по шкале Мейо. Культуру аллогенных МСК вводили капельно в дозе 3 млн. на 1 кг массы тела.

Результаты. При сравнении «кривых выживаемости» у больных с острой атакой ЯК, в течение 1 года наблюдения, разницы в продолжительности ремиссии в группах больных отмечено не было (p=0.582)

При сравнении «кривых выживаемости» за 2 года наблюдения у больных первой группы продолжительность ремиссии составила 17 месяцев, у больных второй группы — 22 месяца (p<0.001). Относительный риск (ОР) развития рецидива ЯК у больных, получивших МСК (I-я группа) по сравнению со II-й группой (5-АСК/ГКС) в течение 1 года составил 0,25 (95% ДИ 0,03-1,86) (p=0,3), (x^2-1,07). ОР развития рецидива ЯК через 2 года наблюдения — 0,33 (95% ДИ 0,13-0,88) (p=0,02), (x^2-5,21), через 3 года — 0,4 (95% ДИ 0,19-0,85) (p=0,015), (x^2-5,95).

Выводы. Трансплантация МСК повышает эффективность противовоспалительной терапии у больных с острой атакой язвенного колита, способствуя увеличению продолжительности ремиссии заболевания. Риск повторной атаки ЯК за 2 года наблюдения в 3 раза ниже в группе больных, получивших МСК.

MESENCHYMAL STROMAL CELLS INCREASES THE EFFECTIVENESS OF ANTI-INFLAMMATORY THERAPY TO PATIENTS WITH ACUTE ATTACK OF ULCERATIVE COLITIS

Lazebnik L.[1], **Knyazev O.**[1], **Konoplyannikov A.**[2]
[1]*Central Research Institute of Gastroenterology, Moscow,*
[2]*Medical Radiological Research Center, Obninsk*

The relapse rate of ulcerative colitis (UC) in the first year after diagnosis is 50% within 3-7 years after diagnosis remains in remission 25% of patients, the annual relapse — 18%. Only 50% of patients have remission for 5 years. Objective: to assess the effectiveness of culture mesenchymal stromal cells (MSCs) in patients with acute (primary) attack of ulcerative colitis (UC).

Methods. Divided into two groups of patients with acute attack of UC. The first group of MSCs (n=10) — UC patients who received MSC, the second group 5-aminosalicylic acid/glucocorticosteroids (5-ASA/GCS) (n=10) — patients treated with standard anti-inflammatory therapy with 5-ASA and corticosteroids. Age from 22 to 44 years (Me-29 years), medium/heavy degree, the length of lesion — left hand side and total defeat, the observation time — from 24 to 34 months. Clinical activity of UC was assessed on a scale Rahmilevich. Endoscopic picture was assessed on a scale of Mayo. Culture MSCs injected drip dose of 3 million to 1 kg of body weight.

Results. When comparing the "survival curves" in patients with acute attack of UC, within 1 year of observation, the difference in length of remission in treatment groups were observed (p=0.582). When comparing the "survival curves" for the 2-year follow-up, the first group of patients the duration of remission was 17 months, patients of the second group — 22 months (p<0.001). The relative risk (RR) of recurrence in patients with UC who received MSCs (I-group) compared with II-nd group (5-ASA/GCS) at 1 year was 0.25 (95% CI 0,03-1,86) (p=0,3), (x^2-1,07). RR of recurrence of UC within 2 years of observation — 0.33 (95% CI 0,13-0,88) (p=0,02), (x^2-5,21).

Conclusions. MSCs transplantation improves the efficiency of anti-inflammatory therapy in patients with acute attack of ulcerative colitis. The relative risk of second attack UC for 2 years of observation to 3 times lower in patients who received MSC.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТРАНСМИССИВНЫХ ГЕНОВ АНТИБИОТКОУСТОЙЧИВОСТИ В КЛЕТКАХ ПРОБИОТИЧЕСКИХ КУЛЬТУР

Семёнышева Е.И., Бирюков Е.Г., Ганина В.И., Машенцева Н.Г.
ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет пищевых производств»,
109316, ул. Талалихина, 33, г. Москва, Россия

Лактобактерии – коммерчески важные микроорганизмы, используемые в пищевой промышленности, а также в качестве пробиотиков. Однако они потенциально способны служить резервуарами для генов, детерминирующих устойчивость к антибиотикам (AR). Большинство генов AR обнаружено на мобильных элементах: плазмидах или конъюгативных транспозонах. Поэтому риск приобретения AR промышленными микроорганизмами должен постоянно находиться под контролем биотехнологов. В связи с этим в МГУПП проводится

многоступенчатая работа по изучению и анализу AR промышленных молочнокислых бактерий. В работе исследовались штаммы молочнокислых бактерий, относящиеся к родам *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus*.

Для определения степени устойчивости микроорганизмов к различным группам антибиотиков использовали два метода: диско-диффузионный и с применением Е-тестов. Полученные данные позволили оценить AR штаммов и разделить их на чувствительные, умеренно устойчивые и устойчивые к тестируемому антибиотику и предварительно выявить природную и приобретенную AR у изученных микроорганизмов.

На следующем этапе из штаммов микроорганизмов выделяли плазмидную ДНК с применением набора AxyPrep Plasmid Midiprep Kit, Axygen, США. Метод основан на щелочном лизисе клеток бактерий в присутствии SDS. Фильтрация лизата и селективное связывание плазмидной ДНК происходит в специальных колонках AxyPrepTM. На стадии лизиса происходит разрушение белков и липидов клеток бактерий в условиях, позволяющих сохранить плазмидную ДНК интактной. Результаты исследования показали отсутствие трансмиссивных генов AR, локализованных на плазмиде штаммов *P. pentosaceus* 28, *L. curvatus* 1, *S. carnosus* 108 и *P. acidilactici* 25.

DEFINITION OF TRANSMISSIBLE GENES FOR ANTIBIOTIC RESISTANCES IN CELLS OF PROBIOTIC CULTURES

Semenysheva E.I., Biryukov E.G., Ganina V.I., Mashentseva N.G.
FGBOU VPO «Moscow State University of Food Production», 109316, st. Talalikhina, 33, Moscow, Russia

Lactobacillus are commercially important microorganisms which have been using in food industry, as well as probiotics. However they can potentially include reservoirs of genes for resistance to antibiotics (AR). Most of genes AR were found on mobile elements: plasmids or conjugative transposons. Therefore, the risk of AR of industrial microorganisms must be under the control of biotechnologists constantly. It is the reason why, in MSUFP a multi-stage research for studying and analyzing AR of industrial lactic acid bacteria has been carried out. In this study, we investigated lactic acid strains relating to the genera of *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus*.

For determining the resistance degrees of microorganisms to different groups of antibiotics two methods were used: disk-diffusion and E-tests. The obtained result allowed us to appreciate AR of strains, divide them into sensitive, moderately resistant and resistant to the tested-antibiotic and preliminarily identify the natural and acquired AR of the studied microorganisms.

In the next stage of the research, the plasmid DNA of studied strains was isolated using a set of AxyPrep Plasmid Midiprep Kit, Axygen, USA. The principle of the method was based on the alkaline lysis bacterial cells in the presence of SDS. Lysate filtrations and selective binding of plasmid DNA took place in special columns AxyPrepTM. At the stage of lysis, proteins and lipids of bacterial cells were destroyed in a condition allowing to save plasmid DNA intact. The results of research showed the absence of transmissible genes AR, localized on the plasmid of strains *Pediococcus pentosaceus* 28, *Lactobacillus curvatus* 1, *Staphylococcus carnosus* – 108 and *Pediococcus acidilactici* 25.

ЭКПРЕССИЯ ПОВЕРХНОСТНОГО ЭМБРИОНАЛЬНОГО АНТИГЕНА 1 (SSEA-1) В СПЕРМАТОГОНИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ХРЯКА *IN VITRO*

Васильева С.А., Савченкова И.П.
ГНУ НИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко (ВИЭВ)

Накапливаются сообщения о длительном культивировании сперматогоний мыши, крысы и хомяка. Предварительная изоляция сперматогониальных стволовых клеток из биоптатов семенников перед химиотерапией пациентов, поддержание и размножение их в культуре, а затем перенос в тестикулы после курса лечения являются актуальными и представляют эффективный путь для предохранения такого вида стерильности. Однако условия поддержания в культуре сперматогониальных клеток других видов млекопитающих, в том числе человека, недостаточно изучены. Целью нашего исследования было изучить экспрессию поверхностного эмбрионального антигена 1 (SSEA-1) в сперматогониальных клетках хряка. В качестве объекта использовали клеточные клоны, полученные нами ранее в результате длительного культивирования сперматогоний типа А хряка на фидерном слое STO в присутствии фактора подавляющего активность дифференцировки (DIA). В этих клонах была обнаружена щелочная фосфатаза. Для сравнения использовали свежеизолированные половые клетки, выделенные из тестикул хряков 60 сут возраста той же породы, из которой были получены культуры клеток сперматогоний. Экспрессию SSEA-1 выявляли с помощью иммуноцитохимии. Для этого клоны выращивали на покровных стеклах, помещенных в чашки Петри (d-10 см). Колонии фиксировали охлажденным метанолом (на льду) в течение 15 мин и окрашивали АТ против АГ SSEA-1 (anti-human/mouse, Vector Laboratories, clone mc-480). Вторые АТ были козьи АТ, против IgG мыши, меченные пероксидазой хрена. Иммуноцитохимический анализ показал, что SSEA-1 Аг экспрессируется на поверхности только экспериментальных клеточных клонов. В свежеизолированных сперматогониях хряка экспрессия этого Аг не была обнаружена. Таким образом, можно предположить, что условия культивирования сперматогоний хряка влияют на экспрессию SSEA-1 Аг – маркера полипотентности.

EXPRESSION OF SURFACE EMBRYONIC ANTIGEN 1 (SSEA-1) IN BOAR SPERMATOGONIAL CELLS *IN VITRO*

Vasilieva S.A., Savchenkova I.P.
Kovalenko's All Russian State Research Institute of Experimental Veterinary Medicine

Reports are accumulating about long term cultivation of spermatogonia of mouse, rat and hamster. Preliminary isolation of spermatogonial stem cells from testis before chemotherapy of patients, maintenance and their reproduction in culture, and then transfer in testis after course of treatment are actual and represent an effective way for safeguarding of such type of sterility. However maintenance conditions in culture spermatogonial cells of other types of mammals, including the human, are insufficiently studied. The purpose of our research was to study expression of surface embryonic antigen 1 (SSEA-1) in boar spermatogonial cells. As object used the cellular clones derived by us earlier as a result of the long term cultivation of boar type A spermatogonial on feeder layer of STO in the presence of the activity of differentiation inhibiting factor (DIA). In these clones has been found out alkaline phosphatase. For comparing used freshly isolated spermatogonia selected from 60 days of age boar testis of the same breed from which spermatogonial cultures have been derived. An expression of SSEA-1 revealed by means of an immunocytochemistry. For this purpose clones grew up on the glasses placed into the Petri dishes (d-10 sm). Colonies were fixed the cooled methanol (on ice) during 15 mines and stained Abs against Ag SSEA-1 (anti-human/mouse, Vector Laboratories,

clone mc-480). The horse-radish peroxidase conjugated goat Abs against IgG mice were second Abs. The immunocytochemistry analysis has shown that SSEA-1 Ag was express on a surface only the experimental cellular clones. In freshly isolated boar spermatogonia the expression of it Ag hasn't been found out. Thus, it is possible to assume that cultivation conditions of boar spermatogonia influence on expression of SSEA-1 - marker of pluripotency.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОБИОТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ НОВОГО МИКРООРГАНИЗМА *ENTEROCOCCUSTHAILANDICUS*, ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ НАЦИОНАЛЬНОЙ КОЛБАСЫ ВЬЕТНАМА

Трушанова И.Н., Нгуен Тхи Минь Кхань, Машенцева Н.Г.
ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет пищевых производств»
109316, Москва, ул. Талалихина, 33

Штаммы молочнокислых энтерококков в последнее время все чаще предлагается использовать в качестве пробиотиков для улучшения микробного баланса тонкого кишечника. За счет своих технологических свойств определенные штаммы энтерококков применяются в составе заквасок при изготовлении различных ферментированных продуктов питания. Был выделен новый микроорганизм из национальной колбасы Вьетнама «Нем-Чуа» – штамм *Enterococcusthailandicus* КПБ-2. Штамм депонирован в ВКПМ ФГУП ГосНИИгенетика под номером В-10684. У выделенного микроорганизма были изучены пробиотические свойства и получены следующие результаты.

С помощью диско-диффузионного метода было определено отношение данного микроорганизма к антибиотикам различных групп. Установлено, что штамм проявляет природную устойчивость к клоксациллину, умеренно устойчив к эритромицину, котримоксазолу.

Отсутствие факторов патогенности – главный и обязательный критерий при оценке возможности использования *Enterococcusthailandicus*в качестве пробиотика.

Для определения факторов вирулентности было проведено ПЦР-генотипирование штамма, т.е. был проведен поиск генов, отвечающих за различные признаки патогенности энтерококков: прикрепление бактерий к поверхности эукариотической клетки (*agg*); синтез токсина, обеспечивающего гемолиз эритроцитов (*gel*E); *spr*E – синтез сериновойпротеиназы, *cyl*A – активация цитолизина, *esp*– внеклеточный поверхностный протеин; *fsr*E – феромон, способствующий конъюгативной передаче плазмидной ДНК от штамма к штамму. Результаты показали отсутствие генов вирулентности в геноме исследуемого штамма.

По совокупности полученных результатов данный микроорганизм можно рекомендовать для дальнейшего использования в качестве пробиотика при производстве функциональных бактериальных препаратов.

DETERMINATION OF PROBIOTIC PROPERTIES OF A NEW MICROORGANISM *ENTEROCOCCUS THAILANDICUS*, ISOLATED FROM THE NATIONAL SAUSAGE VIETNAM

Trushanova I.N., Nguyen Thi Minh Khanh, Mashentseva N.G.
FGBOU VPO «Moscow State University of Food Production»
109316, Moscow, Talalikhinastreet, 33

Strains of lactic acid enterococci in recent years have increasingly encouraged to use as probiotics to improve the microbial balance of the small intestine. Due to their technological properties of certain

strains of enterococci used in the manufacture of various starter cultures in fermented foods.

We have isolated a new microorganism from the national sausage Vietnam «Nem-Chua»– strain *Enterococcus thailandicus* CFS-2. The strain was deposited in the All-Russian Collection of Industrial Microorganisms FSUE GosNIIgenetika at number B-10684.

New microorganisms were studied probiotic properties and obtained the following results.

With disco-diffusion method was determined attitude of the microorganism to antibiotics of different groups. It is established that the strain exhibits a natural resistance to cloxacillin, moderately resistant to erythromycin, cotrimoxazole.

The lack of pathogenicity factors – the main and mandatory criteria when evaluating the use of *Enterococcus thailandicus* as probiotics. To determine the virulence factors was carried out PCR genotyping of strains, i.e. conducted the search for genes responsible for various signs of pathogenicity of enterococci: the attachment of bacteria to the surface of eukaryotic cells (*agg*); toxin synthesis, providing hemolysis (*gelE*); *sprE*– synthesis of serine proteinase, *cylA*– activation of cytolysin, *esp*– extracellular surface protein; *fsrE*– pheromone that promotes conjugative transfer of plasmid DNA from strain to strain. The results showed the absence of virulence genes in the genome of the investigated strains.

The totality of the results given microorganism can be recommended for further use as a probiotic in the production of quality and safety of bacterial preparations.

СЕКЦИЯ 4. «ДОКЛИНИЧЕСКИЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ ИСПЫТАНИЯ ПРИ РАЗРАБОТКЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ»
SECTION 4 "PRECLINICAL AND CLINICAL TRIALS FOR DRUG DEVELOPMENT"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

СОЗДАНИЕ СОВРЕМЕННОЙ ЛАБОРАТОРИИ ДЛЯ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В РОССИИ

L. Bachdasarian[1]; **R. Bulthuis**[1]; **E. Smulders**[2]
[1]*Metris B.V., The Netherlands, 2132 NG Hoofddorp, Kruisweg 829c, www.metris.nl*
[2]*Plexx B.V., The Netherlands, 6660 AB Elst, P.O. Box 86, www.plexx.eu*

Фармацевтическая промышленность в современной России быстро развивается, что требует улучшение лабораторных условий. Чтобы построить новые виварии или лаборатории для доклинических исследований с использованием имеющихся, старые возможности создают серьезные проблемы для руководителей управления, руководителей исследований компаний и университетов, в соответствии с сегодняшними требованиями для доклинических испытаний. Эти требования будут еще более жесткими, соответственно с GLP нормами для конкретных видов исследований, таких как безопасность фармакологии.

Чтобы быть в состоянии контролировать сложный набор требований, связанных с доклиническими испытаниями, требования делятся на следующие категории:

- Требование для строительства (различные варианты будут обсуждаться, в том числе строительные требования, вопросы реконструкции и альтернативы мобильных лабораторий, модульные кабины для виварии.)
- Требование для виварий (решения, требования и оборудование для современных вивариев будут обсуждаться)
- Требование для измерительного оборудования (тенденции в методах и решениях для лабораторных животных оборудованием для анализа и решения будут обсуждаться)

Контролируя все эти требования с самого начала, качества результатов и пропускная способность доклинические испытаний будут значительно улучшены, а также будут поддерживаться текущие события российской фармацевтической промышленности.

SETTING UP A MODERN LABORATORY FOR PRE-CLINICAL RESEARCH IN RUSSIA

L. Bachdasarian[1]; **R. Bulthuis**[1]; **E. Smulders**[2]
1. *Metris B.V., The Netherlands, 2132 NG Hoofddorp, Kruisweg 829c, www.metris.nl*
2. *Plexx B.V., The Netherlands, 6660 AB Elst, P.O. Box 86, www.plexx.eu*

The pharmaceutical industry in today's Russia is quickly developing and requiring better laboratory conditions and better facilities. To build a new vivarium or laboratory for preclinical research using existing facilities poses serious challenges for the management and heads of research of companies and universities to meet today's requirements for preclinical trials. These requirements will be even more stringent when taking into GLP regulations required for specific types of research, such as safety pharmacology.

To be able to control the complex set of requirements involving preclinical trials, the requirements are split up in the following categories:

- Building requirements (various alternatives will be discussed including building requirements, renovation issues and mobile laboratory or the modular vivarium cabins alternatives
- Vivarium requirements (solutions, requirements and equipment for modern vivariums will be discussed)
- Measurement equipment requirements (trends in methods and solutions for laboratory animal analysis equipment and solutions will be discussed)

By controlling all these requirements from the beginning the quality of results and throughput of preclinical trials will be significantly improved and will also support the current developments of the Russian pharmaceutical industry.

ASSESSING NON-INVASIVE MULTIPLE-INPUT MODELING OF TUMOR GROWTH WITH APPLICATION TOWARDS SUBJECT-SPECIFIC ON-LINE MONITORING, VIRTUAL SENSORS AND CONTROL

Derrick K. Rollins, Sr.
Department of Chemical & Biological Engineering
Department of Statistics
Iowa State University
Ames, Iowa 50011

The report proposes a new paradigm in modeling tumor growth from a process systems engineering perspective. The basic idea is to identify noninvasive inputs that can measured frequently or known fairly continuouslythat influence the internal processes and chemical concentrations that impact tumor growth. Possible variables include all types of stress (measured by galvanic skin response sensors), skin temperature, chemical and radiation therapies, activity variables, circadian rhythm, diet, rest efficiency, sleep duration, environmental changes, blood glucose levels, heart rate, etc. Having a means to measure tumor growth at a sufficient rate, a multiple input dynamic model, which is likely to be nonlinear, can be identified (i.e., structure determined and parameter estimated). With a representative phenomenological structure for this model, a cause and effect relationship can be found that can be effective in providing information to control tumor growth. While this approach has been used in other areas of biomedical engineering such as glucose control for type 1 diabetics and in ambulatory thermoregulatory modeling in relation to vigilance, there does not appear to be active application of multiple-input system identification in tumor growth modeling. Thus, the objective of this report is to describe this approach to this application and discuss its potential as an active area of research as it relates to monitoring, virtual sensor development, feedback control, feedforward control, and model predictive control in subject-specific on-line adaptive modeling.

Biography

Derrick K. Rollins, Sr., male, received a B.S. degree in chemical engineering from the University of Kansas in 1979, worked for the E.I. Du Pont Chemical Company from 1979 to 1986, earned the following degrees from The Ohio State University: an M.S. degree in chemical engineering in 1987, an M.S. degree in statistics in 1989, and a Ph.D. in chemical engineering in 1990. He joined the Iowa State University (ISU) faculty in the fall of 1990 in a unique joint appointment between the Statistics Department and the Chemical Engineering Department. Since coming to Iowa State, Dr. Rollins has received many grants and awards in mentoring, teaching and research. His research areas include glucose monitoring, modeling and control for diabetic people; Bio- and Material- Informatics and data mining; and development of processes and testing procedures in nondestructive evaluation. He currently holds several administrative positions and directs several programs focusing on increasing underrepresentation in STEM areas.

ДОКЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА МЕТАБОЛИЗМА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Гилеп А.А., Янцевич А.В., Гайдукевич И.В., Сушко Т.А., Муха Д.В., Усанов С.А.
Институт биоорганической химии НАН Беларуси,
ул. Купревича 5/2, Минск, Беларусь, 220141

Индивидуальная чувствительность организма человека к лекарственным соединениям обусловлена генетическим полиморфизмом рецепторов и транспортеров лекарственных веществ, а также ферментов, участвующих в их метаболизме. Существование полиморфизма генов приводит к тому, что используемые лекарственные препараты для некоторых пациентов могут быть неэффективными либо даже оказывать выраженное токсическое действие. Многообразие полиморфных вариантов ферментов метаболизма лекарств не позволяет проводить эффективную клиническую оценку метаболизма лекарств у индивидуумов в исследованиях *in vivo*. Нами разработана технология получения препаратов рекомбинатных ферментов человека, участвующих в метаболизме лекарств (CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7 и др.), а также их полиморфных вариантов. Использование высокоочищенных препаратов (создание *in vitro* комбинаций ферментов) позволяет проводить *in vitro* оценку метаболизма различного типа лекарств у индивидуумов, носителей определенного сочетания вариантов ферментов. Применение такого подхода позволяет выяснить вклад индивидуальных полиморфных форм ферментов человека в метаболизм наиболее распространенных и новых лекарственных препаратов и сделать на основании данных молекулярной диагностики рекомендации о наиболее рациональных дозах при лекарственной терапии ряда заболеваний, а также выяснить причины индивидуальной токсичности ряда лекарств или компонентов пищи.

HUMAN RECOMBINANT DRUG METABOLIZING ENZYMES IN PRECLINICAL STUDIES OF DRUGS

Gilep AA., Yantsevich AV., Haidukevich I.V., Sushko T.A., Mukha D.V., Usanov SA.
Institute of Bioorganic Chemistry NASB, Kuprevicha str. 5/2, Minsk, Belarus, 220141

Individual sensitivity of a human body to drugs is caused by genetic polymorphism of receptors and transporters of drugs, and also the enzymes involved in their metabolism. Polymorphism of drug metabolizing enzymes leads to that application of different drugs can be inefficient or even to have a prominent toxic effect for some patients. Diversity of polymorphic variants of drug metabolizing enzymes excludes the possibility of an effective estimation of a metabolism of drug for each person. We develop technology of production of human recombinant enzymes involved in drug metabolism (CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7, etc.) and also their polymorphic variants. Use of highly purified preparation of enzymes (*in vitro* composition of multiple enzymes) allows estimating a metabolism of various types of drugs for the carrier of the specific combination of polymorphic enzymes. Application of the given approach allows to find out the contribution of individual polymorphic forms of enzymes to a metabolism of the most widespread and newly developed drugs and to make recommendations about the most rational doses at pharmacotherapy, and also to find out the reasons of individual toxicity of some drugs or food components.

ДОКЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Гуськова Т.А.
ФГУ «Институт иммунологии» ФМБА России
Москва 115478 Каширское шоссе д.24, корп. 2

Безопасность биофармацевтических препаратов оценивается по соотношению пользы от его применения и риска развития нежелательных или токсических эффектов. На стадии доклинических токсикологических исследований новых биофармацевтических лекарственных средств дизайн исследований должен обеспечить получение данных, позволяющих прогнозировать безопасность волонтеров и пациентов, участвующих в клинических исследованиях. Оценка токсичности биофармацевтических препаратов на мелких лабораторных животных при однократном введении (острая токсичность), как правило, не требует определения $ЛД_{50.}$ Особое внимание должно быть уделено выбору вида экспериментальных животных при оценке хронической токсичности. Способ и частота и длительность введений экспериментальным животным биофармацевтических препаратов должны быть максимально приближены к указанным в инструкции для клинического изучения. Многие биофармацевтические препараты оказывают выраженное влияние как на гуморальный, так и на клеточные компоненты иммунного ответа, поэтому необходимо особое внимание уделить иммунокомпетентным органам. Изучение генотоксичности должно быть проведено в тех случаях, когда существует основание для беспокойства (например, из-за присутствия органических связующих молекул в сопряженных белковых продуктах или вспомогательных веществ в составе лекарственной формы). Оценка специфических канцерогенных свойств биофармацевтических препаратов может быть необходима при значительной продолжительности клинического применения, широты использования препарата в медицинской практике и/или биологической активности продукта, когда имеется беспокойство по поводу канцерогенного потенциала. Необходимость в изучении репродуктивной токсичности зависит от препарата и клинических показаний. Особенностью доклинической оценки безопасности моноклональных антител является необходимость точного установления их соответствия заявленным иммунохимическим и физикохимическим свойствам. Безопасность биофармацевтичесих воспроизведенных препаратов должна изучаться в полном объеме в сравнении с препаратами, зарегистрированными в РФ.

PRECLINICAL SAFETY EVALUATION OF BIOPHARMACEUTICAL MEDICINES

Guskova T.A.
FGU "Institute of Immunology" FMBA Russia, Moscow Kashirskoe highway d.24, Bldg. 2

Safety of biopharmaceuticals is estimated by the ratio of the benefits of its use and risk of adverse or toxic effects. At the stage of preclinical toxicology studies of new biopharmaceutical drugs design studies should provide data that allow to predict the safety of volunteers and patients involved in clinical trials. Toxicity assessment of biopharmaceuticals in small laboratory animals with a single dose (acute toxicity), as a rule, does not require a determination of the LD_{50}. Should be limited to the introduction of the doses studied characterizing biopharmaceuticals, as belonging to a class of practically non-toxic substances. Particular attention should be given the choice of species of experimental animals when assessing chronic toxicity. Preliminary studies of biopharmaceuticals in experiments in vitro in mammalian cells can be used to select the most sensitive animal species. The method and frequency of administration to experimental animals biopharmaceuticals should be as close as possible to those specified in the instructions for the clinical study. Duration of drug administration must conform

to generally accepted rules and values LD50 of course depend on the intended application in the clinic. Many biopharmaceuticals have a marked impact on both the humoral and cellular components of the immune response. In this regard, when assessing the state of homeostasis in animal models of chronic toxicological experiments should pay special attention to immunocompetent organs. The study of genotoxicity should be conducted in cases where there is reason for concern about the drug (eg, due to the presence of organic molecules in the binding of the protein conjugate products or excipients in the dosage form). Assessment of specific carcinogenic properties of biopharmaceuticals may be necessary when a significant duration of clinical use, breadth of use of the drug in clinical practice and / or biological activity of the product (eg, growth factors, immunosuppressive drugs, etc.) when there is concern about the carcinogenic potential. Need to examine the reproductive toxicity depends on the drug and clinical indications. The peculiarity of the preclinical safety evaluation of monoclonal antibodies is the need to accurately determine compliance with the stated immunochemical and physicochemical properties. In assessing the safety of generic biopharmaceuticals to study toxicity in full and in comparison with the innovative products registered in Russia.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ *IN VIVO* МОДЕЛИРОВАНИЯ

Коршунов В.А.[1], **Илюшкина И.А.**[1,2,3], **Дьяченко И.А.**[2,3],

[1]*Институт сердечно-сосудистых исследований им. Ааба, Рочестерский Университет, г.Рочестер, США;* [2]*Филиал ИБХ РАН, г. Пущино, Россия,* [3]*Пущинский государственный естественно–научный институт, Пущино, Россия*

Повышенная частота сердечных сокращений (ЧСС) и систолического артериального давления (САД) – важные факторы развития сердечно-сосудистых заболеваний. Модели этих заболеваний на мышах широко используются для исследования механизмов и изучения терапевтической эффективности новых медицинских препаратов. Целью данного исследования было изучение генетического компонента вариабельности гемодинамических параметров (ЧСС и САД) у мышей. Мы использовали метод весегеномного исследования ассоциаций (GWAS) в совокупности с алгоритмом эффективной смешанной модели установления связей для оценки структуры генетической популяции и родственности между линиями мышей. GWAS исследования проводились на гибридной панели, отображающей разнообразие генома мыши (HMDP). HMDP включала в себя 58 мышиных линий. ЧСС и САД измеряли с помощью хвостовой манжеты в течении 5-ти дневного курса тренировок. Было обнаружено, что значения ЧСС (уд/мин) среди HMDP варьируют от 546±12 в линии C58/J до 717±7 в линии MA/MyJ. Значения САД (мм рт.ст.) варьировали от 99±6 в линии I/LnJ до 149±2 у линии SWR/J. Было обнаружено более 20 статистически значимых однонуклеотидных полиморфизмов (SNPs; -log[p-value]>5) на мышиных хромосомах 7, 12, 14 и 19 связанных с выриабльностью ЧСС. Также, было показано, что существует более 80 SNPs, чья связь с вариабельностью САД была статистически достоверна. Таким образом, значительный разброс гемодинамических параметров среди 58 инбредных линий мышей и большое количество генетических регионов, контролирующих гемодинамику, необходимо учитывать при планировании доклинических исследований новых препаратов для лечения сердечно-сосудистых заболеваний.

Исследование было проведено при поддержке ГК№ 14.740.11.0923 и NIH HL105623 (VAK).

GENOMIC ASPECTS OF *IN VIVO* MODELING

Vyacheslav A. Korshunov[1], **Irina A. Ilushkina**[1,2,3], **Igor A. Dyachenko**[2,3]
[1]*Department of Medicine, Aab Cardiovascular Research Institute, University of Rochester School of Medicine and Dentistry, Rochester, NY USA;*
[2]*Branch of Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, RAS, Pushchino, Russia;*
[3]*Pushchino State Institute of Natural Sciences, Pushchino, Russia*

Elevated heart rate (HR) and systolic blood pressure (SBP) are well-established risk factors for cardiovascular diseases. Mouse models are widely used to investigate mechanisms and therapeutic effectiveness of new drugs. The goal of this study was to identify genetic component of hemodynamic (HR and SBP) variation in mice. We utilized a genome-wide association studies (GWAS) with the efficient mixed model association algorithm to appreciate genetic population structure and relatedness among inbred strains of mice. The GWAS were done using the hybrid mouse diversity panel (HMDP; 58 mouse strains; n=4-6 per strain, The Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME USA). HR and SBP were measured by the tail cuff method in a 5-day training session. We found that HR (beats/min) ranged from 546±12 in C58/J strain to 717±7 in MA/MyJ mice. SBP (mmHg) ranged from 99±6 in I/LnJ to 149±2 in SWR/J mice. GWAS for HR recognized over 20 significant single nucleotide polymorphisms (SNPs; -log[p-value]>5) on mouse chromosomes 7, 12, 14 and 19. We also found over 80 SNPs that are significantly associated with variation in SBP in the HMDP. In summary, we showed a dramatic variation of hemodynamic traits in 58 mouse inbred strains and identified a large number of genetic loci that control hemodynamic parameters. Our findings are particular important for preclinical trails in inbred mice.

This study was supported by Russian Program «Scientific and scientific-pedagogical personnel of innovative Russia» for 2009-2013 GK №14.740.11.0923 and NIH HL105623 (VAK).

НОВЫЙ МЕХАНИЗМ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ДЕЙСТВИЯ L-ЛИЗИН-А-ОКСИДАЗЫ ИЗ МИКРОСКОПИЧЕСКОГО ГРИБА РОДА TRICHODERMA

Лукашева Е.В.[1], **Маклецова М.Г.**[1], **Лукашев А.Н.**[2], **Березов Т.Т.**[1]
[1]*Кафедра биохимии, Российский университет дружбы народов, 117198 Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 8*
[2]*НИИ Митоинженерии МГУ*

L-лизин-α-оксидаза (ЛО) – перспективный противоопухолевый агент, для которого показано цитотоксическое, антиинвазивное, антиметастазное и противоопухолевое действие. ЛО окислительно дезаминирует L-лизин с образованием H_2O_2. Кроме того, с эффективностью, не превышающей 8% активности по отношению к L-лизину, этот фермент способен превращать его структурные аналоги, такие как L-аргинин и L-орнитин, являющиеся предшественниками полиаминов (ПА). В цели работы входило исследовать, оказывает ли введение ЛО в организм влияние на уровень ПА. Опыты были выполнены на мышах, которым вводили субстанцию ЛО в хвостовую вену. Через 10-мин, 30-мин и 1-ч после введения ЛО животных подвергали эвтанации. В каждой временной точке было 3 животных, по 2 повторности. Мозг и печень замораживали в жидком азоте и позже определяли в них содержание ПА методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Уже в первые 10 мин после введения ЛО в печени резко снижалось по сравнению с контролем содержание путресцина – на 63%, спермидина – на 35% и спермина — на 22%. В последующие временные интервалы при низком уровне путресцина уменьшались концентрации спермина и спермидина до 50% от контроля. В мозге мышей ЛО действовала медленнее и снижала

концентрации ПА в меньшей степени, чем в печени.

До настоящего времени были известны два пути реализации противоопухолевого эффекта ЛО в организме: за счет расщепления незаменимой аминокислоты L-лизина, остро необходимой быстро растущим опухолевым клеткам, и за счет выделения в лизиноксидазной реакции цитотоксичного H_2O_2. Полученные результаты указывают на новый механизм антипролиферативного действия ЛО через снижение концентраций известных регуляторов опухолевого роста – полиаминов.

L-LYSINE A-OXIDASE FROM TRICHODERMA FUNGUS: NEW MECHANISM OF ANTICANCER ACTION

Lukasheva E.V.[1], **Makletsova M.G.**[1], **Lukashev A.N.**[2], **Berezov T.T.**[1]
[1]*Department of Biochemistry, Russian Peoples' Friendship University, 117198 Moscow, Miklucho-Maklaya Street 8, Russian Federation*
[2]*Mitoengineering Research Institute of MSU, 119991 Moscow, Vorobievi Gori, Lomonosov Moscow State University, GSP-1, Russian Federation*

L-lysine-α-oxidase (LO) is a promising antitumor drug candidate with cytotoxic, anti-invasive and anti-metastatic properties. LO catalyses L–lysine oxidative deamination with the formation of H_2O_2. This enzyme is also capable of processing L–lysine structural analogs, L-arginine and L-ornithine, which are the precursors of polyamines (PA), however the efficacy of LO towards these substrates is less than 8% of that towards L–lysine. The goal of the present work was to determine the ability of LO to influence the PA level in the organism. LO was administered to mice by intravenous injection into the tail vein. In 10, 30 and 60 minutes after administration three animals per time point were sacrificed. Brain and liver were snap-frozen in liquid nitrogen. The content of PA in the samples was measured using high-performance liquid chromatography with two repeats.

In 10 min after LO administration marked reduction of PA levels compared to controls was observed. The level of putrescine decreased by 63%, the level of spermidine – by 35%, and the level of spermine — by 22%. Later at the constantly low putrescine level the concentrations of spermidine and spermine further dropped down to 50% of the control. In brain the effect of LO on PA levels was smaller than in liver.

Presently two mechanisms of LO anticancer action are known: 1) depletion of the essential amino acid L-lysine and 2) production of H_2O_2.and the following oxidative stress. The results of the present study indicate that an alternative route of LO anti-tumor action may be the decrease of the concentrations of PA, which are known as regulators of cellular proliferation.

ВЫЯВЛЕНИЕ УЧАСТНИКОВ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ С ПОМОЩЬЮ ГИАЛУРОНИДАЗНОГО ТЕСТА МЕТОДОМ ЛАЗЕРНОЙ ДОПЛЕРОВСКОЙ ФЛУОМЕТРИИ

Максименко А.В.[1], **Турашев А.Д.**[1], **Федорович А.А.**[2], **Тищенко Е.Г.**[1], **Рогоза А.Н.**[2]
[1]*Институт экспериментальной кардиологии и* [2]*Институт клинической кардиологии имени А.Л. Мясникова, ФГБУ Российский Кардиологический Научно-Производственный Комплекс Минздравсоцразвития, 121552 Москва, Россия*

Ковалентная модификация бычьей тестикулярной гиалуронидазы хондроитинсульфатом меняла противоположным образом характер гликирования нативного и модифицированного фермента нейтральными сахаридами и N-ацетилгексозаминами. Моно- и ди- сахариды сильнее

инактивировали нативную гиалуронидазу, чем модифицированную хондроитинсульфатом. Взаимодействие с N-ацетилгексозаминами давало обратную картину: модифицированная гиалуронидаза инактивировалась сильнее нативной. Такие свойства превращали нативную и модифицированную гиалуронидазу в информативную исследовательскую ферментную тест-систему для определения *in vivo* доминирующего вида сахаридных агентов в кровотоке. Данные взаимодействия гиалуронидазных производных с фрагментами гиалуронана и их смесью подтвердили возможность такой оценки. На модели постишемической перфузии конечности крысы следили за восстановлением уровня микроциркуляции с помощью метода лазерной допплеровской флоуметрии с участием ферментных производных и их компонентов. Нативная гиалуронидаза ускоряла восстановление исходного уровня микроциркуляции, а модифицированный фермент выражено ингибировался продуктами деградации гликокаликса. У их восстанавливающего конца в качестве естественной метки располагались N-ацетилгексозамины. Полученные (при разных схемах введения исследованных средств) данные свидетельствовали об участии эндотелиального гликокаликса в нарушениях микроциркуляции.

Исследование было частично поддержано грантами РФФИ 09-04-00023 и 09-08-00023.

ELICITATION OF PARTAKER FOR PATHOLOGICAL MICROCIRCULATION DISTURBANCES WITH HELP OF HYALURONIDASE TEST BY LASER DOPPLER FLOWMETRY

Maksimenko A.V.[1], **Turashev A.D.**[1], **Fedorovich A.A.**[2], **Tischenko E.G.**[1], **Rogoza A.N.**[2]
[1]*Institute of Experimental Cardiology and* [2]*A.L. Myasnikov Institute of Clinical Cardiology, Russian Cardiology Research-and-Production Complex, 3-rd Cherepkovskaya Street 15A, 121 552 Moscow, Russia*

Covalent modification of bovine testicular hyaluronidase with chondroitin sulphate led to changes in the pattern of glycation of the native and modified enzyme in its reaction with neutral saccharides and N-acetylhexosamine. Thus, mono- and di- saccharides inactivated the native hyaluronidase to a greater extent than the chondroitin sulfate-modified enzyme. N-acetylhexosamine, on the opposite, inactivated the modified hyaluronidase to a greater extent than the natural one. These properties made it possible to use native and modified hyaluronidase as an informative research system for *in vivo* measurement of the predominant type of saccharide agents in the circulation. The proposed approach was experimentally substantiated by our results on these interactions of hyaluronidase derivatives with hyaluronan fragments and their mixture. In a model of post-ischemic perfusion of the rat limb, the effect of hyaluronidase derivatives and their components on restoration of the microcirculation was tracked using laser Doppler flowmetry. Native hyaluronidase accelerated the restoration of the level of the microcirculation, but the modified enzyme was markedly inhibited by glycocalyx degradation products. N-acetylhexosamine was positioned at the reducing terminus of these products as a natural marker for these glycocalyx fragments. These and other data obtained under various experimental conditions supported the participation of endothelial glycocalyx in microcirculation disturbances.

This research was supported by the Federal program “Novel Methodology in Bioengineering” (in the “Enzyme Engineering” and “Biocatalytic Technologies” fields) and by grants RFFI 06-04-48058, 07-04-12057-ofi, 09-04-00023 and 09-08-00023, as well as by Roszdrav, Rosmedtekhnologia, and the Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation.

ОРГАНИЗАЦИЯ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ В СООТВЕТСТВИИ С ПРИНЦИПАМИ GLP

Мурашев А.Н.,
Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, г.Пущино; Первый МГМУ им. И.М.Сеченова, г. Москва

Соблюдение принципов GLP обеспечивает и гарантирует достоверность полученных результатов. Исследования, выполняемые по GLP, должны быть особым образом организованы. До начала исследования утверждаются следующие документы: 1) протокол, в котором подробно описывается, что планируется сделать, 2) стандартные операционные процедуры (СОП), в которых подробно описывается, как будут выполняться все манипуляции, 3) формы рабочих листов, в которые будут заноситься экспериментальные данные, 4) заявка на лабораторных животных, которая должны быть утверждена институтской комиссией по биоэтике, 5) расписание выполнения протокола. Во время проведения исследования протокол и СОП строго выполняются научным и техническим персоналом. Экспериментальные данные, а также факты выполнения всех манипуляций фиксируют в рабочих листах, которых подписывает лицо их выполнивших с указанием дата и время выполнения. Кроме этого, все изменения протокола и все отклонения от протокола, СОП и принципов GLP должны быть особым образом зафиксированы. По окончании исследования составляется подробный итоговый отчет, включающий все первичные данные. На каждое исследование назначается руководитель, который несет персональную ответственность за его выполнение и пользуется правом единоначалия. Качество проведения исследований обеспечивается контролем со стороны руководителя исследования и независимым аудитом. Аудиты могут быть внутренними со стороны службы обеспечения качества исследовательской организации и внешними со стороны заказчика и соответствующих государственных учреждений. Таким образом, первоочередными задачами по внедрению принципов GLP в РФ при проведении доклинических испытаний являются структурно-организационные преобразования в имеющихся лабораториях и соответствующее обучение их персонала.

ORGANIZATION OF PRECLINICAL STUDIES ACCORDING GLP PRINCIPLES

Arkadi N. Murashev,
Branch of the Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Pushchino; I.M.Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow

Observance of principles GLP provides and guarantees reliability of the received results. The researches which are carried out on GLP, should be organized by special image. Prior to the beginning of research the following documents affirm: 1) the report in which it is in detail described that is planned to make, 2) standard operational procedures (SOPs) in which it is in detail described how all manipulations will be carried out, 3) forms of working sheets in which experimental data will be brought, 4) the application for laboratory animals which should be authorized by the institute commission on bioethics, 5) the schedule of performance of the report. During realization of research the report and SOPs are strictly carried out scientific and technicians. Experimental data, and also the facts of performance of all manipulations fix in working sheets which are signed by the person their executed with the date and time of performance. Except for it, all changes of the report and all deviations from the report, SOPs and principles GLP should be fixed by special image. Upon termination of research the detailed final report including all initial data is made. Study Director means the individual responsible for the overall conduct of the study. Quality Assurance Unit means any person or organizational element, except the study director, designated by testing facility management to perform the duties

relating to quality assurance of the studies. A testing facility shall permit an authorized employee of the sponsor and the official state organs, at reasonable times and in a reasonable manner, to inspect the facility and to inspect all records and specimens required to be maintained regarding studies. Thus, priorities on introduction of principles GLP in the Russian Federation at realization nonclinical studies are structural — organizational transformations to available laboratories and the appropriate training of their personnel.

КОМПЬЮТЕРНОЕ ПРОГНОЗИРОВАНИЕ В ОЦЕНКЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Пройков В.В., Глориозова Т.А., Лагунин А.А., Филимонов Д.А.
ФГБУ «ИБМХ» РАМН, отдел биоинформатики,
119121, Москва, ул. Погодинская, 10, Россия

Эмпирический путь исследования биологической активности химических соединений малоэффективен из-за наличия десятков миллионов доступных для тестирования веществ и тысяч потенциальных фармакологических мишеней. Компьютерные методы позволяют ограничить пространство исследования сравнительно небольшим числом мишеней (видов биологической активности). Используются две различные группы методов: Target-Based Drug Design – дизайн, основанный на структуре макромолекулы-мишени, и Ligand-Based Drug Design – дизайн, основанный на структуре лигандов. Большинство современных методов сфокусированы на одной-единственной мишени либо на специфическом фармакологическом эффекте и, тем самым, они не предназначены для прогноза плейотропного действия веществ. Компьютерная программа PASS прогнозирует более 4300 видов биологической активности со средней точностью около 95% на основе анализа обучающей выборки, содержащей информацию о более чем 250000 лекарственных субстанций и биологически активных соединений. Поскольку PASS позволяет одновременно прогнозировать взаимодействие химических соединений с большим количеством биологических мишеней, на основе результатов прогноза можно с помощью компьютерной программы PharmaExpert отбирать вещества с плейотропным действием. Таким путем нами выявлены новые антигипертензивные и противовоспалительные фармакологические вещества с дуальными механизмами действия, а также обнаружены ноотропные свойства у антигипертензивных лекарственных препаратов, не связанные с их антигипертензивным действием. Мы создали свободно-доступный веб-сервис (http://pharmaexpert.ru/passonline), позволяющий получать прогноз спектра биологической активности на основе структурной формулы химического соединения через Интернет. Веб-сервис используется ~7500 пользователей из ~60 стран; в десятках случаев результаты компьютерного прогноза подтверждены в эксперименте.

COMPUTER-AIDED PREDICTIONS IN ESTIMATING THE EFFICACY AND SAFETY OF PHARMACEUTICALS

Poroikov V.V., Gloriozova T.A., Lagunin A.A., Filimonov D.A.
IBMC RAMS, Department for Bioinformatics, 119121, Moscow, Pogodinskaya Str., 10, Russia

Empirical studies of biological activity of chemical compounds are not very effective because of availability of dozens millions of chemicals, which can be tested, and thousands of potential pharmacological targets. Computational approaches restrict the space of experimental testing by relatively small number of relevant targets (biological activities). Two different groups of methods

are used: Target-Based Drug Design and Ligand-Based Drug Design. The majority of modern computational methods are focused on a single target or a particular pharmacological effect and, therefore, they do not allow predicting the pleiotropic action of compounds. Computer program PASS predicts over 4300 kinds of biological activity with mean accuracy about 95% based on the analysis of the training set with information about ~250000 pharmaceutical agents and biologically active compounds. Since PASS predicts simultaneously interaction of chemical compounds with a large number of biological targets, based on the prediction results with computer program PharmaExpert it is possible to select the compounds with pleiotropic action. In such way we found new antihypertensive and antiinflammatory pharmaceutical agents with dual mechanisms of action, and also we discovered nootropic effects in antihypertensive drugs, which are not caused by their antihypertensive action. We developed freely-available web-service (http://pharmaexpert.ru/passonline), which allows obtaining prediction of biological activity spectra via Internet. Web-service is utilized by ~7500 users from ~60 countries; in dozens cases the prediction results are confirmed by further experiments.

ПРИМЕНЕНИЕ LIMS ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ

Ржевский Д.И.[1], **Идзиковский В.И.**[2], **Мезенцева О.В.**[3],

[1]*Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, г. Пущино; 2ЗАО «ЛАБВЭА СНГ», г. Москва;*

[3]*ФГУП «ВНИЦСМВ», г. Москва*

ЛИМС (LIMS — Laboratory Information Management System) – это система управления информацией, представляющая собой программное обеспечение, которое используется для автоматизации процессов документооборота и управления лабораторными данными. В сферу интересов ЛИМС входят все составляющие исследовательского процесса в лаборатории: планирование испытаний, манипуляции с тест-системами, сбор и анализ образцов, получение и ввод первичных данных, формирование отчётов, обработка персональных данных сотрудников лаборатории, а также поддержка системы обеспечения качества.

На базе лаборатории биологических испытаний ФИБХ РАН реализуется пилотный проект по построению и использованию лабораторной информационной системы LabWare LIMS для выполнения доклинических исследований в соответствии с принципами GLP. Целями создания данной системы являются: автоматизация и стандартизация рабочих процессов и информационных потоков лаборатории; автоматическое оповещение участников исследования путем отправки информационных сообщений; доступность информации в соответствии с правами доступа, в том числе для принятия управленческих решений; оперативный учет, хранение, обработка и представление данных по результатам исследований; унификация выходных документов, создание отчётов, предназначенных как для внутреннего, так и для внешнего использования; сокращение временных затрат персонала на ведение первичной документации, формирование выходных документов по исследованиям, ведение лабораторных протоколов и журналов; поэтапный переход на электронный документооборот.

Приобретенный опыт лаборатории в области использования системы ЛИМС может быть использован другими лабораториями и организациями, работающими в сфере доклинических испытаний, с целью оптимизации процесса планирования и проведения исследований в соответствии с принципами GLP.

THE USE OF LIMS DURING NONCLINICAL TRIALS

Rzhevsky D.I.[1], Idzikovsky V.I.[2], Mezentseva O.V.[3],
[1]*Branch of Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, Pushchino,*
[2]*CJSC "LABWARE CIS", Moscow;*
[3]*FSUE "VNICSMV", Moscow*

LIMS — laboratory information management system, is software that is used to automate workflow processes and management of laboratory data. The area of interest of LIMS includes all components of the research process in the laboratory: test planning, manipulation with test systems, data collection and analysis of samples, obtaining and input of raw data, reports generation, laboratory staff personal data processing, and support of quality assurance system.

On the basis of biological testing laboratory of BIBCH RAS a pilot project for the construction and use of laboratory information system LabWare LIMS for pre-clinical studies in accordance with the principles of GLP is being implemented. The objectives of the establishment of this system are: automation and standardization working processes and information flows of laboratory; automatic notification of study participants by sending messages; the availability of information in accordance with the rights of access, including for management decisions; records management, storage, processing and reporting of research results; unification of documents output, generation of reports, for both internal and external use; reducing time spending of laboratory staff on maintenance of primary documents, formation of output documents on research, management of laboratory protocols and logs; gradual transition to electronic documents circulation.

The experience gained in the use of laboratory LIMS system can be used by other laboratories and organizations working in the field of preclinical testing, in order to optimize the planning and conduct research in accordance with the principles of GLP.

СИСТЕМА ПОИСКА НОВЫХ ИНГИБИТОРОВ ТРАНСЛЯЦИИ

Сергиев П.В.[1], Остерман И.А.[1], Прохорова И.В.[1], Ордабаев Е. [1], Сысоев В.[1], Нестерчук М.В.[1], Сергеева О.В.[1], Головина А.Я.[1], Головин А.В.[1], Шишкина А.В.[1], Сумбатян Н.В.[1], Коршунова Г.А.[1], Евфременкова О.В.[2], Донцова О.А.[1]
[1]*НИИ ФХБ МГУ и Химический факультет МГУ, Москва*
[2]*НИИ по изысканию новых антибиотиков, Москва*

Бактериальная рибосома является мишенью множества антибактериальных препаратов. Распространение штаммов патогенных микроорганизмов, устойчивых к действию антибиотиков, представляет существенную проблему для медицины. В этой связи актуальный вопрос это поиск новых и усовершенствование существующих антибиотиков, способных преодолевать устойчивость патогенных организмов.

Преодоление устойчивости бактерий к макролидным антибиотикам, вызванное метилированием 23S рРНК, возможно с помощью изменения участка антибиотика, соседствующего с метильной группой рибосомы или с помощью ингибиторов метилтрансферазы. Также перспективен поиск новых антимикробных препаратов, действующих на рибосому. В нашей лаборатории разработан дешевый и высокопроизводительный метод поиска ингибиторов трансляции, основанный на использовании репортерных конструкций.

A SCREENING SYSTEM FOR TRANSLATION INHIBITORS

P.V. Sergiev[1], I.A. Osterman[1], I.V. Prokhorova[1], Y. Ordabayev[1], V. Sysoev[1], M.V. Nesterchuk[1], O.V. Sergeeva[1], A.Ya. Golovina[1], A.V. Golovin[1], A.V. Shishkina, N.V. Sumbatyan[1], G.A. Korshunova[1], O.V. Evfremenkova[2], O.A. Dontsova[1]

[1]*Belzersky Institute of PhysicoChemical Biology and Department of Chemistry Moscow State University, Moscow*

[2]*Gauze Institute for Search for New Antibiotics, Moscow*

Bacterial ribosome is the target of many antibiotics. One of the main problems of modern medicine is spread of resistant pathogenic bacteria. An important goal is search for new antibiotics and improvement of old ones to overcome the resistance.

Two ways are possible to overcome the resistance towards macrolide antibiotics caused by methylation of the 23S rRNA, namely modification of antibiotic and creation of methyltransferase inhibitor. Also useful is a search for new antimicrobial compounds targeting ribosome. We developed a cheap and productive screening system for translation inhibitors search based on reporter constructs.

ДОКЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ДЕЙСТВИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Янцевич А.В., Муха Д.В., Шкель Т.В., Диченко Я.В., Бритиков В.В., Лущик А.Я., Усанов С.А.

Институт биоорганической химии НАН Беларуси,

ул. Купревича 5/2, Минск, Беларусь, 220141

Принципиальное совершенствование существующих лекарственных соединений за короткий срок возможно только благодаря использованию современных подходов структурной биологии, составляющих ядро рационального дизайна химической структуры высокоспецифичных низкомолекулярных эффекторов. В течение последних лет нами, в соавторстве с коллективом Structural Genomics Consortium (Prof. H.-W. Park и N.V. Strushkevich), получены рентгеноструктурные данные о пространственном строении нескольких изоформ цитохрома Р450. В частности, расшифрована структура изоформы CYP51A1 человека, являющейся стерин-14α-деметилазой и играющей важную роль в синтезе холестерина. Огромный интерес для фармацевтической отрасли представляют гомологи этого фермента у патогенных микроорганизмов, грибов и некоторых простейших. Данные о пространственном строении фермента послужили основой для моделирования межмолекулярного взаимодействия с рядом субстратов – аналогов ланостерина с использованием высокопроизводительных суперкомпьютерных вычислений.

Результаты применения вычислительных методов оценки термодинамических параметров межмолекулярного взаимодействия посредством использования методов молекулярной динамики показали высокую степень корреляции с экспериментальными данными. Разработана технологическая цепочка, обеспечивающая проведение скрининга низкомолекулярных эффекторов фермента *in silico*, посредством вычислений с дальнейшей валидацией наиболее значимых результатов в экспериментах *in vitro* с использованием полученных очищенных препаратов рекомбинантного фермента человека. Разработанные комплексные подходы скрининга эффективности действия химических соединений в экспериментах *in silico* и *in vitro* применены и в отношении других клинически значимых молекулярных объектов (CYP17A1, CYP24A1, ароматаза, альдостеронсинтаза, NO-синтаза и др.).

PRECLINICAL EVALUATION OF THE EFFICIENCY OF DRUGS

Yantsevich AV., Mukha D.V., Shkel T.V., Dichenko Ya.V., Britikov V.V., Luschik A.Ya., Usanov S.A.
Institute of Bioorganic Chemistry NASB, Kuprevicha str. 5/2, Minsk, Belarus, 220141

Principal improvement of existing drugs in short terms is available due to application of modern structural biology approaches, that is a core of the rational design of the chemical structure of low molecular weight enzyme and receptor effectors. During last few years we with coworkers from Structural Genomics Consortium (Prof. H.-W. Park and N.V. Strushkevich) obtain X-ray data for spatial structure of several cytochrome P450 isoforms. Particularly, structure of the human CYP51A1 (sterol-14α-demethylase) that performs critical role in cholesterol synthesis was solved. Homologues of this protein from pathogenic bacteria, fungus and some protista are of great importance for developing of antipathogenic drugs. Structural data about the enzyme formed the base for the modeling of intermolecular interactions with supercomputer calculations.

Application of computational methods for evaluation of thermodynamical interaction parameters display good correlation with experimental data. We developed algorithm, that enables to perform *in silico* screening with further validation of most important results in *in vitro* experiments with human recombinant enzyme. Developed approaches for screening of the effectiveness of effectors in *in silico* and *in vitro* experiments are also applied for other clinically important objects (CYP17A1, CYP24A1, aromatase, aldosterone synthase, NO-synthase and others).

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЕЛИЧИН LD_{50} ДЛЯ ГРЫЗУНОВ И LC_{50} ДЛЯ ЭМБРИОНОВ И ВЗРОСЛЫХ РЫБ DANIO RERIO.

Золотарёв К.В., Беляева Н.Ф.
Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича» Российской академии медицинских наук. 119121 Москва, Погодинская ул., 10.

При разработке и внедрении новых соединений различного назначения их испытание на токсичность является одним из существенных этапов. В этой связи перспективной является задача сравнения токсикологических параметров одних и тех же химических соединений для разных тест-организмов. В качестве ключевого физико-химического параметра, определяющего соотношение величин острой токсичности одного и того же соединения для млекопитающих и рыб, выбран коэффициент липофильности lgP (lgK_{ow}).

В ИБМХ РАМН были проведены сравнительные исследования значений LD_{50} для крыс (при пероральном введении) и LC^{a}_{50} для взрослых рыб Danio rerio и других видов для 50 различных соединений. Также были сопоставлены значения LC^{e}_{50} для эмбрионов зебрафиш с LD_{50} для грызунов для 30 разных соединений. Критерием сравнения в исследованиях была выбрана величина lgP соединения. В результате проведенного сравнения получены соответствующие уравнения. Эти уравнения выведены путём построения прямой линии тренда между экспериментальными точками с вычислением критерия достоверности регрессии – коэффициента детерминации R^2.

Используя полученные зависимости, можно оценивать величину острой токсичности того или иного соединения для одного тест-организма, если она известна для другого. Кроме того, эти уравнения могут наглядно показать влияние гидрофобности соединений на их токсичность для рыб по сравнению с грызунами.

COMPARATIVE ANALYSIS OF LD_{50} VALUES FOR RODENTS AND LC_{50} VALUES FOR DANIO RERIO ADULT FISH AND EMBRYOS

K. Zolotarev, N. Belyaeva
Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry of RAMS.
10 Pogodinskaya Str. 119121 Moscow, Russia

While creation and adoption of new compounds for different purposes estimation of their toxicity for living organisms is one of significant steps. Comparison of toxicological parameters for various test organisms of the same chemicals shows good prospects. The partition coefficient designated as logP or $logK_{ow}$ has been selected as a key physicochemical value defining a ratio of acute toxicity values of the same chemical for mammals and fish.

In IBMC RAMS, empirical ties have been figured out between: a) a decimal logarithm of a ratio of peroral LD_{50} for rats to LC^{a}_{50} for adult fishes of different species and logP for 50 different chemicals; b) a decimal logarithm of a ratio of peroral LD_{50} for rodents (i.e. rats, mice, rabbits) to LC^{e}_{50} for Danio rerio embryos and logP for 30 different chemicals. All the ties have been figured out with building a trend line amongst empirical data points followed by calculating a coefficient of determination R^2 as a regression reliability criterion.

These ties may help to estimate an acute toxicity value of a chemical for some test organism if a value for another one is known. Such equations may clearly show the influence of lipophilicity of a chemical to its toxicity for fish in comparison with mammals.

КОМПЬЮТЕРНОЕ КОНСТРУИРОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗ БИБЛИОТЕК ФРАГМЕНТОВ

Фильц О.А., Лагунин А.А., Филимонов Д.А., Поройков В.В.
ФБГУ Институт биомедицинской химии РАМН им. В.Н. Ореховича
г. Москва, ул. Погодинская, д.10

Компьютерное конструирование структур молекул из фрагментов применяется для поиска новых высокоафинных лигандов, поскольку на этапе конструирования можно добавлять фрагменты, улучшающие конкретную биологическую активность, биодоступность и исключать потенциально токсические химические группы.

Мы рассчитываем вклады фрагментов в проявляемую активность на основе оценок вклада каждого атома, входящего во фрагмент с использованием алгоритма программы PASS (http://www.pharmaexpert.ru/passonline/) с целью создания библиотеки фрагментов, сфокусированной на определенные биологические активности. Учитываются также частоты встречаемости фрагментов в структурах активных и неактивных соединений обучающей выборки. Алгоритм отбора фрагментов был апробирован на выборке, содержащей комплексы белок-ингибитор из базы данных PDB (www.rcsb.org). Было показано, что наблюдаются статистически значимые различия в частотах межмолекулярных взаимодействий среди группы фрагментов, которые вносят положительный вклад в ингибирование фермента от фрагментов, которые вносят отрицательный или нейтральный вклад в ингибирование. Разработанный алгоритм был применен для поиска новых ингибиторов COX-1/2 и LOX в качестве НПВС. Добавление бензотиазола, вносящего положительный вклад в ингибирование COX/LOX, согласно прогнозу, в структуру тиазолопроизводных приводит к значительному увеличению ингибирования COX-1, COX-2 и LOX, что подтверждено экспериментальными данными. Разработан алгоритм генерации новых структур из библиотек фрагментов. Используя молекулярный докинг и специально разработанные правила из библиотеки сгенерированных структур (250000) было отобрано

13 потенциальных ингибиторов mdm2-p53. В результате синтеза и тестирования одного из соединений (LCTA-2081), было показано, что оно ингибирует p53-зависимый рост опухолевых клеток (HCT-116).

AN APPLICATION OF IN SILICO APPROACH TO FRAGMENT-BASED DRUG DESIGN

O. A. Filz, A. A. Lagunin, D. A. Filimonov, V. V. Poroikov
V.N. Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry of RAMS
10, Pogodinskaya st., Moscow, Russia.

Fragment-based drug design can be applied for finding of new biologically active substances due to the possibility to include in the designed compounds fragments increasing activity and bioavailability, and exclude fragments leading to adverse effects and toxicity.

We propose application of Bayes statistics realized in PASS approach (http:/pharmaexpert.ru/PASSonline/) to the design of fragment library, focused on the particular biological activities. Fragments' contributions are calculated on the basis of each atom's contribution which composed the specific fragment based on the PASS algorithm. Frequencies of fragments included in the structures of active and inactive compounds of the training set are also considered. The algorithm of fragments selection has been validated using computational experiments based on the set of "enzyme-inhibitor" complexes (nine enzymes were considered) retrieved from PDB database (http://www.rcsb.org). Statistically significant differences were found between frequencies of intermolecular interactions among the group of fragments having positive contribution into the enzyme inhibition and fragments having negative or neutral contribution into enzyme inhibition. Our algorithm was also applied to the search of COX-1/2 and LOX inhibitors as NSAIDs. The introduction of benzothiazole fragment, having positive contribution into COX-1/2 and LOX inhibition by prediction, to the set of thiazole derivatives lead to the increased inhibition of COX-1, 2 and LOX, demonstrated *in vitro*.

The algorithm of *de-novo* structure generation using fragment library was developed and tested in the design of p53-mdm2 interaction inhibitors. Chemical library (more than 250000 structures) was generated using set of fragments, derived from known p53-mdm2 inhibitors. One compound (LCTA-2081) of about 13 selected using specific rules and molecular docking experiments was synthesized and tested. The inhibition of cancer cells (HCT 116) growth in a p-53 dependent mode has been found for the selected compound (cell line assay).

ПОСТЕРЫ
POSTERS

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С БИОМЕМБРАНАМИ АДАПТОГЕНА ФЕНОЗАНА И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ

Алексеева О.М., Миль Е.М., Бинюков В.И., Албантова А.А., Вольева В.Б., Комиссарова Н.Л., Белостоцкая И.С., Голощапов А.Н., Бурлакова Е.Б.
ИБХФ им. Н.М. Эмануэля РАН, Россия. 119334 Москва ул. Косыгина, 4

В работе проведено сравнение мембранотропных свойств антиоксиданта и адаптогена фенозана (-β-(4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилфенил) пропионовая кислота) и его производных ИХФАНов (С16;С12;С10;С8) и ГМАО. Модификация БАВ боковыми группировками разной природы придает дополнительные свойства. Так, если фенозан воздействует преимущественно на верхний листок бислоя, то липофильный длинноцепочечный алкильный хвост ИХФАНов заякоривает их в бислое и структурно «укрепляет» мембрану, но при концентрациях более 10^{-5} М ИХФАНы полностью разрушают структуру микродоменов и даже образуют собственные домены, как показано методом ДСК на липосомах ДМФХ. В молекулах ГМАО на гидрофильных полимерах равномерно с помощью мостиков ковалентно пришиты молекулы фенозана в разном процентном соотношении. В результате активное вещество равномерно распределяется в биомембране. В протеолипосомах теней эритроцитов микродомены «укреплены» белками, их структура меньше подвержена изменениям, однако обнаружено слияние микродоменов в присутствии Ихфан-10 10^{-5} М. Фенозан и ГМАО в таких концентрациях не влияют. Структура растворимого белка – БСА (бычий сывороточный альбумин) разрыхляется высокими концентрациями БАВ (10^{-6}М), средними, напротив, укрепляется, причем с возрастанием в ряду ИХФАНов С16≥С12≥С10≥С8 (показано по тушению собственной флуоресценции БСА). Методом АСМ выявлено, что фенозан 10^{-11}, 10^{-7} и 10^{-5} М влияет на форму эритроцитов, уменьшая площадь имиджа, объем и среднюю высоту. ИХФАН-10 изменяет параметры эритроцитов только при 10^{-5} М. Т.е. лабильные структуры значительно изменяются даже средними концентрациями БАВ различной природы. ИХФАНы концентрируются в мембране или в белке с помощью алкильных хвостов, что позволяет снизить их действующую концентрацию. Присутствие гидрофильных полимеров в молекулах ГМАО, «разбавляет» фенозан, поэтому влияние ГМАО слабее, и не происходит локального концентрирования БАВ в мембране.

THE INTERACTION OF ADAPTOGEN — PHENOZAN AND ITS DERIVATIVES WITH BIOMEMBRANES

Alekseeva O.M., Mil E.M., Binyukov V.I., Albantova A.A., Vol,eva V.B., Belostotskaya I.S., Komissarova N.L., Goloshapov A.N., Burlakova E.B.
N.M. Emmanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, Russia, 119334, Moscow, St. Kosygin, 4

We presented the data of the comparing of membrane directed properties of antioxidant and adaptogen — phenozan (- β — (4-hydroxy-3,5-di-tert-butylphenyl) propionic acid), and its derivatives: ICHFANs (C16; C12; C10; C8) and GMAO. The modification of biological active substance (BAS) molecule by the variable side groups gives the certain additional property to this BAS. So, if the phenozan affects primarily on the outer leaf of bilayer, then the lipophilic long chain alkyl tail of ICHFANs anchorages them at always of bilayer thickness. As result the ICHFANs structurally <fortify>

the membrane. But at concentrations of more 10^{-5} M ICHFANs fully destroy the microdomains structure. Furthermore ICHFAN-C16 form the own domains at the DMPC-liposome membrane, as was demonstrated by the DSC method. In structure of GMAO molecules the phenozan molecules in different percentage ratio are bounded covalently at the hydrophilic polymers: dextrin or PEG, evenly by means of variable bridges. Due to the active substance is distributed in biomembrane evenly. In erythrocyte ghost (proteoliposoma) the lipid microdomains <are reinforced> by proteins, as result the ghost structure are the subject to alteration at least, then lipid liposomes. However has been found the microdomains amalgamation in the presence of ICHFANs 10^{-5} M. The phenozan and GMAO do not exert action under such concentrations. The structure of soluble protein — BSA (the bovine serum albumin) is loosened by high concentrations of BAS (10^{-6} M). The average concentrations, fortified the BSA structure; ICHFANs C10≥C12≥C10≥C8 (has been shown on extinction of BSA intrinsic fluorescence). The phenozan $10^{-11,-7,-5}$ M influence to the erythrocytes form, decreasing the image area, the volume and the average elevation. ICHFAN-10 changes the erythrocytes parameters only when 10^{-5} M (the AFM data). Thus the labile structures are changed greatly by medium concentrations of tested BAS. ICHFANs are concentrated in membrane or in protein by means of alkyl tails that makes it possible to decrease their effectual concentration. The attendance of hydrophilic polymers in molecules GMAO <dilutes> the phenozan. The influences of GMAO were weaker, and GMAO does not formed local over concentration of BAS in the membrane.

ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ ЛИМОНА И ОРЕГАНО В ЭКСПЕРИМЕНТАХ НА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Алинкина Е.С., Воробьева А.К., Мишарина Т.А., Фаткуллина Л.Д., Бурлакова Е.Б.
Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва;
119334, Москва, ул. Косыгина, 4. E-mail: katrinalinka@gmail.com

В последние годы обнаружено наличие биологической активности у многих эфирных масел. Большая часть таких данных получена в модельных экспериментах, поэтому сложно провести оценку реального влияния эфирных масел на живые организмы, а также определить механизм их действия *in vivo*. Целью работы явилось изучение влияния малых доз эфирных масел орегано и лимона на некоторые биохимические характеристики окислительного стресса в организме мышей линии Balb. Определяли влиние эфирных масел на параметры, характеризующие работу системы регуляции ПОЛ в биомембранах и контролирующие их структуру и функции: устойчивость мембран эритроцитов к гемолизу, микровязкость липидов мембран, содержание пероксидов. Найдено, что прием эфирных масел в течение 3-х месяцев практически не влиял на резистентность мембран эритроцитов и их структурное состояние. Эфирное масло орегано увеличивало устойчивость мембран эритроцитов к окислению, масло лимона не влияло на этот процесс. Прием масла орегано значительно снижал окисление липидов в мозге мышей (на 35%). Прием эфирного масла лимона не влиял на ПОЛ, таким образом, масло орегано влияло на мозг мышей как биоантиоксидант, действие масла лимона было выражено слабее. Совокупность полученных данных демонстрирует перспективность дальнейших исследований индивидуальных эфирных масел и их композиций различного состава в качестве биоантиксидантных, геропротекторных, профилактических и терапевтических средств при различных патологиях, вызываемых окислительным стрессом или вредным воздействием свободных радикалов.

ESTIMATION OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF LEMON AND OREGANO ESSENTIAL OILS IN EXPERIMENTS ON LABORATORY ANIMALS

Alinkina E.S., Vorobyova A.K., Misharina T.A., Fatkullina L.D., Burlakova E.B.
Emanuel Institute of Biochemical Physics RAS, Moscow;
4. Kosygin Street, Moscow, 119334, Russia; E-mail: katrinalinka@gmail.com

In recent years, the presence of biological activity of many essential oils was found out. Most of such data were obtained in model experiments, that is why it is difficult to assess the real impact of essential oils on living organisms and to determine their mechanism of action *in vivo*. The aim of this work was studying the effect of oregano and lemon essential oils in low doses on some biochemical characteristics of oxidative stress in mice line Balb. The effect of essential oils on parameters characterizing the system of regulation lipid peroxidation in biological membranes and controlling their structure and function: the stability of erythrocyte membranes by hemolysis, microviscosity of membrane lipids, the content of peroxides were determined. It was found that supplementation of essential oils for 3 months in actual fact no effect on the resistance of erythrocyte membranes and their structural state. Essential oil of oregano increased the stability of erythrocyte membranes to oxidation, lemon oil didn't effect on this process. Oregano oil intake significantly reduced oxidation of lipids in the mice brain (up to 35%). Lemon oil intake did not effect on lipid peroxidation. Thus, oregano oil effected on the mice brains as bioantioxidant, the action of lemon oil was weaker. The obtained data show promise for the future studies of essential oils and their mixtures of various composition as bioantioxidative, geroprotective, prophylactic and therapeutic agents in various pathologies caused by oxidative stress and the unfavourable effects of free radicals.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ И КЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИННОВАЦИОННОГО СИНБИОТИЧЕСКОГО НАПИТКА, СОДЕРЖАЩЕГО БИФИДОБАКТЕРИИ И КОМПЛЕКС ПОЛИСАХАРИДОВ ИЗ БУРОЙ ВОДОРОСЛИ F. EVANESCENS

Кузнецова Т.А.[1], Запорожец Т.С.[1], Беседнова Н.Н.[1], Звягинцева Т.Н.[2], Имбс Т.И.[2]
[1]*Учреждение Российской академии медицинских наук НИИ эпидемиологии и микробиологии СО РАМН, Владивосток (690087, г. Владивосток, ул. Сельская, 1)*
[2]*Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН, 690022, г. Владивосток, пр-т 100 лет Владивостоку, 159*

В работе представлены результаты экспериментальной и клинической оценки эффективности нового синбиотического напитка (СН), содержащего бифидобактерии и комплекс полисахаридов (ПС) из бурой водоросли *F. evanescens* (фукоидан и альгинат). Установлено 5-10 кратное увеличение выхода биомассы бифидобактерий при обогащении питательной среды ПС, либо при использовании ПС в качестве углеводной основы вместо лактозы, нормализация кишечной микрофлоры у мышей с экспериментальным лекарственным *дисбактериозом при лечении СН* (увеличение количества бифидо- и лактобактерий, типичной кишечной палочки, элиминация *Staphylococcus saprophyticus* и бактерий рода *Proteus*)**.** Подготовлена нормативно-техническая документация на новый СН. Проведена оценка клинической эффективности СН у пациентов с хроническими заболеваниями ЖКТ, критериями которой служили динамика изменения клинических симптомов и лабораторные данные по составу микрофлоры кишечника. Нарушение кишечного микробиоценоза выявлено у 35 из 80 человек, часть из которых получали в течение 6 недель дважды в день СН (I группа, опытная), часть – кисломолочный бифидобактерин (II группа, контрольная). Лечение оказалось эффективным для 90% пациентов I группы и для 75%

пациентов II группы и сопровождалось нормализацией содержания бифидобактерий, снижением содержания условно-патогенной микрофлоры, однако у пациентов I группы содержание лактобактерий значимо превышало таковое у пациентов II группы, а также значимо ниже было содержание лактозонегативной и гемолитической кишечной палочки. Таким *образом,* СН может быть рекомендован для лечения больных с хроническими заболеваниями ЖКТ, сопровождающихся дисбактериозом.

Работа выполнена при финансовой поддержке МНТЦ (проект № 4000 от 01.05.2010)

EXPERIMENTAL AND CLINICAL EVALUATION OF INNOVATIVE SYNBIOTIC DRINK CONTAINING BIFIDOBACTERIA AND COMPLEX POLYSACCHARIDES FROM BROWN ALGAE F. EVANESCENS

Kuznetsova T.A[1], Zaporozhets T.S.[1], Besednova N.N.[1], Zvyagintsev T.N.[2], Imbs T.I.[2]

[1]*Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Siberian Branch of Russian Academy of Medical Sciences, (690087, Vladivostok, Selskaya st., 1)*

[2]*Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch of Russian Academy of Sciences (690022, Vladivostok,100-letiya, 159)*

In the present study, we investigated the effectiveness of a new synbiotic drink (SD) containing bifidobacteria and complex polysaccharides (PS) from brown algae F. evanescens (fucoidan and alginate). Established that fucoidan and alginic acid from Fucus evanescens have prebiotic properties towards *Bifidobacterium bifidum* (ability to stimulate growth and biomass accumulation). 5-10 fold increase biomass yields of bifidobacteria compared with control ($p < 0,05$) addition of fucoidan and alginic acid to the culture medium, or using a PS as a basis instead of the carbohydrate lactose was found. Normalization of intestinal microflora in mice treated orally with a (fermented bifidumbacterin with fucoidan and alginic acid is shown in an experimental drug (gentamicin-induced) dysbacteriosis. Scientific and technical documentation for the production of the new synbiotic drink was prepared. Investigation investigation of clinical effectiveness the new synbiotic product in patients with chronic gastrointestinal tract was conducted. Criteria for clinical efficacy were changes in the dynamics of clinical symptoms and laboratory data on the composition of intestinal microflora. We examined 80 patients with chronic gastrointestinal disorders, violation of the intestinal microbiocenosis was found in 35 patients. 15 patients were treated within 6 weeks of twice daily CH (I group, experimental), 20 patients — fermented bifidobakterin (II group, the control). Therapy was effective for 90% of patients in group I and 75% of patients in group II and was accompanied by normalization of bifidobacteria, decrease the content of pathogenic microorganisms. However, the content of lactobacilli in patients in group I was significantly higher than that of patients in group II, and was significantly lower content lactosonegative and haemolytic *E.coli.* Thus, CH may be recommended for the treatment of patients with chronic gastrointestinal tract, accompanied by dysbiosis.

Work was supported by the ISTC (project № 4000 from 01.05.2010)

ДЕЙСТВИЕ ГИБРИДНОГО АНТИОКСИДАНТА ИХФАНА В ОПЫТАХ *IN VIVO* КАК ПЕРСПЕКТИВНОГО СРЕДСТВА ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА

Подчуфарова Д.Е., Фаткуллина Л.Д., Бурлакова Е.Б.
Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва;
119334, Москва, ул. Косыгина, 4. E-mail: biochemic83@yandex.ru

В настоящее время не вызывает сомнения тот факт, что многие нейродегенеративные заболевания, в том числе болезни Альцгеймера и Паркинсона, являются «мембранными» патологиями, характеризующиеся развитием окислительного стресса со значительными изменениями регуляции перекисного окисления липидов (ПОЛ), структуры мембран, их липидного состава и функций. Поэтому поиск новых перспективных средств коррекции окислительных нарушений в организме при таких патологиях является крайне важным. В ИБХФ РАН синтезированы гибридные антиоксиданты (АО) ИХФАНы (производные антиоксиданта фенозана), которые в модельных экспериментах проявляют высокую АО-активность и являются ингибиторами холинэстеразной активности в эритроцитах человека, а также в липидах клеток головного мозга животных. В данной работе изучали *in vivo* биологическое действие ИХФАНа в разных дозах на показатели ПОЛ и структурное состояние (микровязкость) мембран эритроцитов и клеток головного мозга мышей. Исследование препарата проводили в двух дозах (10^{-5}и 10^{-14} М), одна из которых является сверхмалой. Обнаружено, что ИХФАН подавляет окислительный стресс при введении в организм животных: снижает содержание продуктов ПОЛ, оказывает антигемолитический эффект, изменяет микровязкость и состав липидов мембран. Эффект зависит как от введённой дозы, так и от времени после введения. Полученные результаты дают основание рассматривать данный гибридный антиоксидант ИХФАН как потенциальное лекарственное средство нового поколения при нейродегенеративных заболеваниях.

THE EFFECT OF HYBRID ANTIOXIDANT ICHFAN IN EXPERIMENTS *IN VIVO* AS A PROMISING MEDICINE FOR THE CORRECTION OF OXIDATIVE STRESS

Podchufarova D.E., Fatkullina L.D., Burlakova E.B.
Emanuel Institute of Biochemical Physics RAS, Moscow, Russia;
4, Kosygin Street, Moscow, 119334, Russia; E-mail: studentka_medic@mail.ru

No doubt the fact that many neurodegenerative diseases, including Alzheimer's and Parkinson's diseases, are "membrane" pathologies, that characterized by the development of oxidative stress with significant changes of the regulation of lipid peroxidation (LPO), the membranes' structure, their lipid composition and functions. Therefore it is extremely important to find the new and promising medicine for correction of oxidative disturbances that accompany such pathologies in the body. In the Institute of Biochemical Physics RAS hybrid antioxidants (AO) ICHFANs (the derivative of fenozan antioxidant) was synthesized, which in the model experiments show a high AO-activity and which are inhibitors of cholinesterase activity in human erythrocytes and in lipids of the animals' brain cells. The study of this medicine was performed in two doses (10^{-5} and 10^{-14}M), one of which is an ultra-low. It was found that ICHFAN suppresses oxidative stress when it is administered to animals: it reduces the content of LPO products, has antihemolytic effect and changes the microviscosity and composition of membrane lipids. The effect depends on the dose and the time after injection. The results obtained give grounds to consider this hybrid antioxidant ICHFAN as a potential drug of new generation for neurodegenerative diseases.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ С ПОМОЩЬЮ БИОТЕСТ-СИСТЕМ *IN VITRO*

Дубинская В.А.[1], **Поляков Н.А.**[1], **Ефремов А.А.**[2], **Быков В.А.**[1]
[1]*ГНУ ВИЛАР Россия, 123056, Москва, Красина 2.*
[2]*ФГАОУ ВПО "Сибирский федеральный университет" Россия, 660041, г. Красноярск, пр. Свободный,79*

Исследование биологических свойств эфирных масел, как правило, проводят на микроорганизмах и животных, что является дорогостоящим и длительным процессом.

Разработанные в ВИЛАР специфические ферментные биотест-системы *in vitro* позволяют анализировать эфирные масла в небольших объемах, обеспечивают стандартные условия проведения испытаний для каждого образца, а так же позволяют проводить направленный поиск искомой биологической активности (противомикробной, противовирусной, антиоксидантной, противовоспалительной и др.). В качестве материалов исследования использовали эфирное масло из растительного сырья багульника болотного, пихты и кедра, собранных в разных регионах страны: Республика Хакасия, Иркутская область и Красноярский край.

Для определения химического состава образцов эфирного масла применяли хроматомасс-спектрометрию. Биологическую активность исследуемых эфирных масел определяли с помощью молекулярных тест-систем *in vitro*, в которых в качестве тест-объектов применяли ферменты системы антиоксидантной защиты: глутатионредуктазу [ГР], и каталазу [КАТ], а также ацетилхолинэстеразу [АХЭ] — фермент, катализирующий реакцию гидролиза природного нейромедиатора ацетилхолина.

Установлены существенные различия в составе эфирного масла, полученного из разного сырья, районов произрастания и фаз вегетации растений. При помощи биотест-систем *in vitro* выявлено, что изученные эфирные масла активируют фермент КАТ. При анализе с использованием другого фермента — ГР, показано, что все образцы, за исключением эфирного масла багульника, собранного в Иркутской области и имеющего другой химический состав, значительно активируют этот фермент по сравнению с контролем, что свидетельствует о наличии антиоксидантных свойств. Ингибирование фермента АХЭ исследованными образцами эфирных масел, приводит к накоплению ацетилхолина в органах и тканях, усиливая его действие в процессе передачи импульса нервными волокнами. Таким образом, предложенные молекулярные биотест-системы *in vitro* могут быть использованы не только для выявления определенной биологической активности на этапе первичного скрининга, но и в технологии получения эфирных масел.

DETERMINATION OF BIOLOGICAL ACTIVIY OF ESSENTIAL OILS BY THE TEST-SYSTEM *IN VITRO*

V.A. Dubinskaya[1], **N.A. Polyakov**[1], **A.A. Efremov**[2], **V.A. Bykov**[1]
[1]*Russian Science Research Institution for Medicinal and Aromatic Plants (VILAR) Moscow, Krasina 2, 123056 (Russia)*
[2]*Siberian Federal University, 79 Svobodny Prospect Krasnoyarsk, 660041 (Russia)*

Study of biological properties of essential oils is usually carried out by micro-organisms and animals, is costly and time consuming procedure.

Developed in VILAR specific molecular *in vitro* test-systems allow analysis of essential oils in small amounts — a few tens of microliters, provide the standard test conditions for each sample, which excludes the impact of individual differences characteristic when tested in animals and

microorganisms, also allow directing search of pharmacological activity (antimicrobial, antiviral, antioxidant).

Essential oil produced from raw materials of Ledum palustre L., Pinus sibirica, Abies sibirica, harvested in different regions of the country: the Republic of Khakassia, Irkutsk and Krasnoyarsk regions were used in the course of experiments. Gas chromotograph – mass spectrometer (Hewlett-Packard 5890/11) was used for determining the chemical composition of essential oils. Pharmacological activity of the investigated essential oils was determined by the molecular test systems *in vitro*. The following enzymes of anti-oxidative protection system, such as catalase (CAT), glutathione reductase (GR) and acetylcholine sterase (AchE) were used as test objects. Established significant differences in the composition of essential oil produced from different raw materials, areas of growth, phases of vegetation. The results of determining the biological activity of the samples of essential oils using molecular test systems *in vitro* have shown that all the studied essential oils activate the enzyme CAT. Essential oil of Abies sibirica and Pinus sibirica increases the rate of enzymatic reaction of 2,5 and 3 times respectively. In the analysis of samples of biological activity of essential oils with another antioxidant enzymes — GR, it is shown that all samples, except for the essential oil of Ledum palustre L.(Irkutsk region) having different chemical composition, significantly activate this enzyme compared to control (for example essential oil of Abies sibirica activates more than 8 times), indicating the presence of the antioxidant properties. Inhibition of the enzyme AChE leads to accumulation of acetylcholine in organs and tissues, increasing its effect of the transfer of momentum nerve fibers. Thus, the proposed molecular test systems *in vitro* can be effectively applied to detect biological activity of essential oils having antioxidant action. In addition, they can be used not only to identify pharmacological activity during primary screening, but also in the technology of essential oils.

ПРОТИВОЯЗВЕННОЕ ДЕЙСТВИЕ ПЕПТИДОВ АЛЬФА- ЛАКТАЛЬБУМИНА И ЛАКТОФЕРРИНА

Самохина Л.С.

ГОУ ВПО Московский государственный университет пищевых производств, 109316, г. Москва, ул. Талалихина 33

Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, г. Москва, Ленинский проспект, 33

Работа выполнена при поддержке ГРАНТА РФФИ 10-04-01005

Современные условия жизни, не сбалансированное и зачастую недостаточно качественное питание формируют предпосылки для широкого распространения алиментарно — зависимых заболеваний. В аспекте решения данной проблемы, в настоящее время актуальным является использование пептидов биологически активных белков молока, обладающих полифункциональными и защитными свойствами.

В нашей работе исследовано профилактическое влияние пептидов альфа- лактальбумина и лактоферрина на образование индуцированной этанолом язвы желудка 3-х недельных крыс — самцов линии Вистар. Пептиды альфа- лактальбумина и лактоферрина были получены путем ограниченного протеолиза ферментами пепсином и трипсином (Sigma). Показано, что пептиды альфа- лактальбумина и лактоферрина при пероральном введении их крысам обладают профилактическим действием в отношении образования этанолом- индуцированной язвы. Действие пептидов альфа-лактальбумина и лактоферрина дозазависимо, причем пептиды альфа- лактальбумина более эффективны чем пептиды лактоферрина. Минимальная доза, вызывающая эффект для пептидов альфа- лактальбумина 200 мг/ кг, у пептидов лактоферрина 5 мг/ кг соответственно.

Полученные данные позволяют заключить о перспективе использования пептидов альфа- лактальбумина и лактоферрина в качестве активной основы препаратов, обладающих противоязвенным действием.

ANTIULCEROGENIC ACTION OF PEPTIDES OF ALPHA-LACTALBUMINE AND LACTOFERRIN

L.S. Samokhina
State educational institution of higher education Moscow State University of Applied Biotechnology, 109316, Moscow, st. Talalikhina33
Bach Institute of Biochemistry, Russian Academy of Sciences, Leninsky pr. 33

This work was supported by the Grant RFBR 10-04-01005

Modern conditions of life, unbalanced and often – inadequate nutrition have created the background for a high incidence of alimentary-dependent diseases. Currently, in addressing this problem, it is topical to use peptides of bioactive milk proteins that have multifunctional and protective features.

In our study we have researched preventive effect of alpha-lactalbumin peptides and lactoferrin over the creation of ethanol-induced stomach ulcer in 3-weeks old rat males of the Wistar line. Peptides of alpha-lactalbumin and lactoferrin were obtained by way of limited proteolysis of the enzymes pepsin and trypsin (Sigma). The study showed that peptides of alpha-lactalbumin and lactoferrin, when orally administered to rats, have prophylactic action with regard to formation of ethanol-induced ulcer. The action of peptides of alpha-lactalbumin and lactoferrin depends on the dose, and also peptides of alpha-lactalbumin and lactoferrin are more effective than peptides of lactoferrin. Minimal dose causing the effect with peptides of alpha-lactalbumin is 200 mg/kg, and with lactoferrin peptides — 5 mg/kg, respectively.

The obtained data allow us to conclude on the possibility of using peptides of alpha-lactalbumin and lactoferrin as the active base of medications providing antiulcerogenic action.

ВЛИЯНИЕ ПРИЕМА МАЛЫХ ДОЗ ЭФИРНОГО МАСЛА ОРЕГАНО НА УСТОЙЧИВОСТЬ МЫШЕЙ К ОНКОЛОГИЧЕСКИМ ПРОЦЕССАМ

Воробьева А.К., Алинкина Е.С.,Фаткуллина Л.Д., Мишарина Т.А., Бурлакова Е.Б.
Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва;
119334, Москва, ул. Косыгина, 4. E-mail: ak.vorobyova@gmail.com

В условиях высокой степени загрязнения окружающей среды острой проблемой является поиск натуральных препаратов с профилактическими свойствами, способных снизить риск различных заболеваний, в том числе онкологических. В работе проведена оценка способности эфирного масла орегано влиять на степень прививаемости солидной опухоли карциномы Льюис у мышей (черный гибрид F1:DBAxC57Bl). Опытная группа мышей употребляла питьевую воду с 0,15 мкг/мл эфирного масла орегано в течение 3 месяцев. Степень прививаемости опухоли при концентрации клеток $5x10^5$составила 100% в контрольной и опытной группах, но размер опухоли в опытной группе был меньше на 10%. Степень прививаемости опухоли при концентрации клеток на порядок меньше ($5x10^4$) у опытных мышей была в 1,8 раза меньше, чем в контроле, при этом максимальный размер опухоли был также меньше в 1.7 раза. Животные всех групп имели незначительные различия степени гемолиза эритроцитов и структурного состояния (микровязкости) липидов мембран эритроцитов, но существенно различались по параметрам ПОЛ. Прием эфирного масла орегано снижал степень окисления полиненасыщенных жирных

кислот в печени и мозге здоровых мышей: содержание МДА было меньше в 1,2-1,6 раза. У опухолевых мышей количество МДА в эритроцитах было в 4 раза выше по сравнению со здоровыми животными, а прием эфирного масла в 1.4 раза снижал этот показатель. Таким образом, прием эфирного масла орегано в течение 3 месяцев повышал устойчивость животных к действию карциномы Льюис — снижал степень прививаемости и уменьшал размер опухоли. Результаты исследования позволяют рекомендовать регулярный прием малых доз эфирного масла орегано в качестве нового перспективного профилактического средства. Возможно, аналогичные эффекты могут быть получены при детальном исследовании других эфирных масел или экстрактов натурального растительного сырья.

THE EFFECT OF LOW DOSES ADMINISTRATION OF OREGANO ESSENTIAL OIL ON MICE RESISTANCE TOWARDS ONCOGENESIS

Vorobyova A.K., Alinkina E.S., Fatkullina L.D., Misharina T.A., Burlakova E.B.
Emanuel Institute of Biochemical Physics RAS; Moscow;
4. Kosygin Street, Moscow, 119334, Russia; E-mail: ak.vorobyova@gmail.com

The actual problem at high degree of environmental pollution is to seach natural products with preventional properties, which is able to reduce a risk of various diseases, including cancer. Estimation of essentional oils ability to affect solid tumor Lewis carcinoma growth in mice (black hybrid F1 DBAxC57Bl) was evaluated. Animals from the experimental group were given the drinking water supplemented with essentional oils of oregano at 0,15 mkg/ml for 3 month. Control animals drank plain water. The transplantability of reinoculated tumor cells at a concentration of 5 x 10^5cells in the inoculum was 100% in the control as well as in the experimental group, but the size of the tumor in experimental group was 10% less than in control. The transplantability of reinoculated tumor cells at one order less concentration (5 x 10^4) in the experimental mice was 1.8 times less than in the controls, and a maximum tumor size decreased by 1.7 times. Animals of control and experimental groups had a slight differences in the level of erythrocyte hemolysis and structural state (microviscosity) of erythrocyte membrane lipids, but differed significantly on the parameters of lipids peroxidation. Oregano essential oil decreased the oxidation index of polyunsaturated fatty acids in liver and brain of healthy mice without tumor: content MDA was lower by 1.2 -1.6 times. MDA content in erythrocytes of mice without tumor was 4 times higher in comparison to the healthy mice, but administration of oregano essential oil decreased by 1.4 times this parameter. Thus oregano essential oil demonstrated ability to increase resistance animal to action of Lewis carcinoma: declined the transplantability of tumor graft and the tumor size. Obtained results allow to recommend regular intake of oregano essential oil at low doses as a novel perspective preventive remedy. Perhaps the similar effects can be obtained by investigations of other essential oils or natural extracts of plant origin.

МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ АНТИСТРЕССОРНЫХ СВОЙСТВ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Жигачева И.В., Бурлакова Е.Б., Голощапов А.Н.
Учреждение Российской академии наук Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119334 Москва, ул. Косыгина,4, ИБХФ РАН

Образование активных форм кислорода (АФК) в мембранах митохондрий является тонко регулируемым процессом, однако, в условиях стресса продукция АФК в этих органеллах резко возрастает (Барабой В.А, 1991). Образующиеся АФК повреждают не только биомолекулы

митохондрий, но и различные внутриклеточные структуры. В связи с этим создание и исследование новых антиоксидантов является одной из основных задач фармакологии. Проблема подбора наиболее эффективных доз антиоксидантов особенно важна в связи с тем, что многие биологически активные вещества (БАВ) обладают дозовой зависимостью в проявлении своей активности (Бурлакова Е.Б.с соавторами, 2007). Целью нашей работы было исследование влияния различных концентраций антиоксиданта калиевой соли 2,6-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил-пропионовой кислоты (фенозана калия) на перекисное окисление липидов (ПОЛ) в мембранах митохондрий. Для активации ПОЛ использовали модель «старения» (25 мин. инкубация в солевой среде). «Старение» приводило к 3-4- кратному увеличению содержания продуктов ПОЛ в мембранах митохондрий печени. Введение препарата фенозана калия в среду инкубации вызывало снижение флуоресценции продуктов ПОЛ и носило дозовую зависимость. Препарат в концентрации 10^{-5}; 10^{-6} и 10^{-7}М оказывал слабое воздействие на интенсивность перекисного окисления липидов. В концентрациях 10^{-8}- 10^{-16} и 10^{-18}- 10^{-22} М фенозан калия снижал интенсивность флуоресценции продуктов ПОЛ до контрольного уровня. Полученные данные позволяют предположить, что наиболее эффективное использование препарата возможно в концентрационном интервале 10^{-9}-10^{-14}М, когда препарат взаимодействует с рецепторами биологических мембран. Действительно в этой дозе препарат в 3,5-4,5 раз увеличивал продолжительность жизни и на 20-30% повышал выживаемость животных в условиях гипоксии и низкотемпературного стресса.

MODEL FOR SEARCH THE ANTISTRESS PROPERTIES OF BIOLOGICALL ACTIVE DRUGS

Zhigacheva I.V., Burlakova E.B., Goloschapov A.N.
Institution of the Russian Academy of Sciences: Emanuel Institute of Biochemical Physics, ul. Kosigina, 4,Moscow, 119334, Russia

The formation of reactive oxygen species (ROS) in the membranes of mitochondria is a finely regulated process, however, under stress produce ROS in these organelles increases sharply (Baraboy, 1991). Generated in mitochondria reactive oxygen species (ROS) can damage not only the mitochondrial biomolecules, but and various intracellular structures. So, creation and research of new antioxidants are related to basic pharmacology problems. The problem of selecting the most effective concentration of antioxidants are especially important in view of the fact that many biological active substances (DFS) have a dose-depend in the manifestation of its activity (Burlakova E.B.et all, 2007). The aim of our work was to study the effect of various antioxidant potassium salt of 2,6-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl-propionic acid (potassium fenozan) concentrations on lipid peroxidation (LP) in the membrans of mitochondria. . To activation LP has developed a model of “aging” (25 min incubation mitochondria in saline medium). “Aging” leads to enhancement the content of lipid peroxidation products increased by 3-4 times in membranes of liver mitochondria. The introduction of the drug potassium fenozan to the incubation medium resulted in decreasing the LPO products fluorescence, and in a dose dependence. The drug at a concentration of 10^{-5}; 10^{-6} и 10^{-7}M the preparation produced an insignificant effect on the intensity of LPO processes. The addition 10^{-8}- 10^{-16} and 10^{-18}- 10^{-22} M of the potassium fenozan resulted in decreasing the LP products fluorescence to a control level. These data suggest that the most effective use of the drug may be in the concentration range 10^{-9}- 10^{-14}M, when the drug interacts with receptors of biological membrane. Really, at this dose the drug in 3..5-4..5 times increased life expectancy and by 20-30% increased survival of animals under conditions of hypoxia and low temperature stress.

ИССЛЕДОВАНИЕ ТОКСИЧНОСТИ ОКТАЭДРИЧЕСКИХ КЛАСТЕРНЫХ КОМПЛЕКСОВ РЕНИЯ НА КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА DKL – 29

Зубарева К.Э.[1], **Хрипко О.П.**[1], **Шестопалов М.А.**[2,3]

[1]*ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», р.п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия*

[2]*Институт неорганической химии им. А.В. Николаева, Новосибирская обл., Россия*

[3]*ООО Инновационный центр ВЕКТОР, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Новосибирск, Россия*

Оценка фармпрепаратов *in vitro* может быть полезна для предсказания определенных аспектов их действия *in vivo*. В системе *in vitro* могут быть исследованы цитотоксичность веществ, их влияние на пролиферативную активность клеток, распределение внутри клеток. Кластерные соединения рения перспективны в качестве фотосенсибилизаторов для фотодинамической терапии рака, а также в качестве флуоресцентных и рентгеноконтрастных визуализаторов новообразований.

Нами исследован токсический эффект октаэдрических кластерных комплексов рения $[Re_6Q_8(1H\text{- BTA})_6]^{4-}$ (Q = S, Se) с помощью МТТ (диметилтиазол-2-ил-2,5-дифенилтераразола) теста на культуре диплоидных клеток человека DKL — 29 в широком диапазоне концентраций (0,78 – 400 μM). Выяснено, что исследуемые соединения рения в дозе до 200 μM не влияют на пролиферативную активность клеток. Используя экспериментально подобранную концентрацию кластеров рения, исследовано поглощение кластерных комплексов рения клетками DKL – 29 с помощью конфокальной микроскопии. Показано, что флуоресценция серосодержащего кластера сосредоточена диффузно в отдельных участках цитоплазмы, селеносодержащий фотосенсибилизатор обнаруживал флюоресценцию и на поверхности ядра клетки. Спектральные изображения одной и той же клетки, созданные при облучении в области 400 – 500 нм, показали, что интенсивность флуоресцентного сигнала селеносодержащего фотосенсибилизатора выше, серосодержащего. Таким образом, показано отсутствие токсического эффекта кластерных комплексов рения на культуре клеток в дозе 0,78 – 200 μM, исследовано поглощение и распределение кластеров в клетке.

TOXICITY RESEARCH OF OCTAHEDRAL RHENIUM CLUSTER COMPLEXES ON HUMAN CELL CULTURE DKL – 29

Zubareva K.E.[1], **Khripko O.P.**[1], **Chestopalov M.A.**[2,3]

[1]*Federal State Research Institution State Research Centre of Virology and Biotechnology «Vector», Koltsovo, Novosibirsk Region, Russia*

[2]*Nikolaev Institute of Inorganic Chemistry Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk Region, Russia*

[3]*Innovation center «Vector», Novosibirsk Region, Russia*

Research of pharmaceutical preparations *in vitro* can be useful to a forecast their influence *in vivo*. Cytotoxicity of substances, influence on cell proliferation, and distribution into cells can be investigated in system *in vitro*. This candidates are the octahedral rhenium cluster complexes, they potential photosensitizer for photodynamic therapy cancer also fluorescent and radiopaque visualizer as diagnostic agents for medical treatment.

Toxicity of octahedral rhenium cluster complexes $[Re_6Q_8(1H\text{- BTA})_6]^{4-}$ (Q = S, Se) was determined by using the MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)- 2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay on human cell culture DKL – 29 in a wide range of concentrations (0,78 – 400 μM). It was found that the investigated rhenium cluster complexes at a dose of 200 μM had no effect on cell proliferation culture

DKL – 29. Using a matched experimental concentration of octahedral rhenium cluster we evaluated cellular uptake on human cell culture DKL – 29 by confocal microscopy. It was found that the fluorescence rhenium cluster with sulfur was concentrated diffusely in some areas of the cytoplasm, rhenium cluster with selenium fluoresce on surface of nucleus cells. It was shown the spectral images of same cells obtained by irradiation of 400 – 500 nm is more intense fluorescent signal of rhenium cluster with sulfur than fluorescent signal rhenium cluster with selenium. As a result, we see no toxic effect of octahedral concentration of rhenium cluster complexes on human cell culture DKL – 29 below up to 200 μM on human cell culture DKL – 29, was evaluated cellular uptake and distribution into cells of rhenium cluster complexes.

ПУБЛИКАЦИЯ
PUBLICATIONS

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ МНОГОКОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА НУКЛЕОТИДОВ НА АНТИВИРУСНУЮ АКТИВНОСТЬ

Агеевец В.А.[1], **Квитко К.В.**[1], **Шабанова М.Е.**[2], **Баурина М.М.**[2]
[1]*СПбГУ, Санкт-Петербург, Университетская наб. д.7-9; e-mail: ageevets@list.ru*
[2]*РХТУ им. Д.И.Менделеева, Москва, Миусская пл., д.9; e-mail: baurinamm@mail.ru*

Введение. Клинические и экспериментальные исследования, проведенные в течение ряда последних лет, выявили выраженные иммуномодулирующие свойства медицинского препарата нуклеотидов энкад. Применение этого препарата сопровождается нормализацией активности ферментов нуклеинового обмена — аденозиндезаминазы (АДА) и пуриннуклеозидфосфорилазы (ПНФ). Хорошо известно, что дефицит пуриннуклеозидфосфорилазы ассоциирован с выраженным дефектом клеточного иммунитета, а недостаточность аденозиндезаминазы сопровождается тяжелым комбинированным иммунодефицитом. Была сформулирована гипотеза о наличии у данного препарата противовирусной активности по отношению к группе крупных ДНК-содержащих ядерно-цитоплазматических вирусов, таких как представители семейства *Herpesviridae*.

Метод. Исследование проводилось на модельной системе ‘’альгофаг-водоросль’’. Система представляет собой клетки зоохлорелл *Chlorella variabilis* (штамм NC64A) и специфичные лизирующие вирусы *PBCV*-типа, относящиеся к той же группе, что и вирусы герпеса (ICTVdB Index of viruses) [Агеевец В.А.и др., 2010]. Эффекты, оказываемые на клетки хозяина вирусом и препаратом в различных сочетаниях, регистрировались по изменению замедленной флуоресценции (ЗФ), являющейся интегральным показателем метаболического состояния клеток.

Результаты и обсуждение. На основании анализа показателей замедленной флуоресценции (ЗФ) был сделан вывод о том, что препарат нуклеотидов энкад в этой системе способен вмешиваться в жизненный цикл данного вируса.

Энкад представляет собой комплексный нуклеотидный препарат, получаемый как гидролизат дрожжевой РНК [Патенты US№5064758, 1991; RU№2274658, 2006]. Анализ препарата методом высокоэффективной жидкостной хроматографии дает представление о его сложном многокомпонентном составе. Определение относительных уровней содержания отдельных компонентов пуринового и пиримидинового рядов показывает, что в пуриновых производных большая доля приходится на аденозин (56%) и аденозинмонофосфат (38%),

среди гуаниновых соединений практически 100% составляет гуанозинмонофосфат. В случае пиримидинов, не был идентифицирован урацил, а доля уридинмонофосфата достигает 26%. Проведенный анализ лекарственной формы препарата энкад выявил в нем отдельные фракции нуклеозидмонофосфатов, нуклеозидов и азотистых оснований и др. в определенных соотношениях. При содержании до 25% низкомолекулярной фракции, определяемой методом тонкослойной хроматографии, препарат удовлетворяет необходимым показателям качества.

Принимая во внимание сложный состав энкада, допустимо предположить, что препарат содержит определенную фракцию, обладающую выраженным противовирусным действием. Была найдена концентрация препарата, при которой существенно ингибировался процесс разрушения клеток вирусом (противовирусная активность препарата). Увеличение или уменьшение этой концентрации, напротив, приводило к стимулированию процесса репликации вируса. Можно предположить, что при отклонении от оптимальной концентрации противовирусные эффекты утрачиваются под влиянием других активных компонентов препарата. Этим объясняется, по-видимому, выявленное разнонаправленное действие комплекса нуклеотидов в эксперименте. Так, при "низких" и "высоких" концентрациях действие энкада не связано с подавлением онтогенеза вируса, но при "средних" значениях клетки сохраняют метаболическую активность.

Вывод. Установлены новые свойства лекарственного препарата нуклеотидов энкад, разрешенного для клинического применения при лечении ряда тяжелых заболеваний человека. В будущем предстоит оценить возможности применения энкада в качестве противовирусного средства в профилактических и лечебных целях при вирусных заболеваниях человека и животных.

MULTICOMPONENT COMPOSITION OF THE MEDICAL PRODUCT OF NUCLEOTIDES AND ITS ANTIVIRUS ACTIVITY

Ageevets V.A.[1], **Kvitko K.V.**[1], **Shabanova M.E.**[2], **Baurina M.M.**[2]
[1]*St.Petersburg State University, St.Petersburg; e-mail: ageevets@list.ru*
[2]*D.I. Mendeleyev University of Chemical Technology, Moscow; e-mail: baurinamm@mail.ru*

Introduction. Some frank immunomodulating properties of encad, a complex of nucleotides, have been revealed during recent clinical and experimental researches. The medical use of the drug involved is accompanied by normalization of activity of nucleic exchange enzymes: adenosine deaminase and purine nucleosidphosphorylase. Purine nucleosidphosphorylase deficiency is well-known to be associated with the explicit defect of cellular immunity, and adenosine deaminase insufficiency is accompanied by the serious combined immunodeficiency. The hypothesis of antiviral activity of the drug involved against a group of large DNA-containing of nucleocytoplasmic viruses, such as representatives of the family *Herpesviridae* has been made.

Method. The model system "algophage-alga" has been used. The system included cells of zoochlorella *Chlorella variabilis* (NC64A) and specific lytic *PBCV*-viruses closed to the group of *Herpesviridae* (ICTVdB Index of viruses) [Ageevets V.A.et al., 2010]. The effects produced by both the virus and the drug in various combinations on the host cells were registered as a change of the falls of delayed fluorescence (DF), an integrated indicator of a metabolic status of cells.

Results and discussion. Analyzing the dates of the delayed fluorescence (DF) we could make a conclusion that the complex of nucleotides encad is capable of interfering in the life cycle of the virus concerned in the system given.

Encad is a complex nucleotide medical product manufactured as a hydrolysate of yeast ribonucleic acid [Patents US№5064758, 1991; RU№ 2274658, 2006]. The analysis of this medical product with the method of a high-performance liquid chromatography gives an idea of its complex multicomponent

composition. The quantitative determination of separate components of purine and pyrimidine compounds shows that in the purine derivatives a big part is made up of adenosine (56%) and adenosine monophosphate (38%), and guanosine monophosphate reaches 100% among guanine nucleotides. In case of pyrimidines, uracil has not been identified, and a share of uridine monophosphate is 26%. The analysis of encad has revealed separate fractions of nucleotides, nucleosides and nitrogenous bases in certain ratios. At maintenance of the low-molecular fraction up to 25% defined with a method of a thin-layer chromatography the preparation suits necessary product quality ratings.

It is reasonable to assume that because of the difficulty of its composition, encad contains a certain fraction possessing a frank antiviral action. The concentration of the drug at which the process of the cell destruction by the virus is inhibited essentially (i.e. its antiviral activity) has been determined. On the contrary, the increase of this concentration or its reduction results in stimulation of the process of the virus replication. At deviation from the optimum concentration antiviral effects are lost under the influence of other active components of the drug. Apparently it can explain a revealed differently directed action of the complex of nucleotides in experiment. So, at "*low*" and "*high*" concentrations the action of encad isn't connected with suppression of a virus ontogenesis, but at "*average*" ones, cells keep metabolic activity.

Conclusion. New antiviral properties of the medical product of nucleotides encad permitted for clinical application at treatment for a number of serious illnesses are established. In the future it is necessary to estimate possibilities of the use of encad as antiviral means in the preventive and medical purposes for virus diseases of human and animals.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ ДЛИТЕЛЬНОГО ПРИЕМА МЫШАМИ ЭФИРНОГО МАСЛА ОРЕГАНО

Бурлакова Е.Б., Мишарина Т.А., Фаткуллина Л.Д., Воробьева А.К., Алинкина Е.С.
Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва;
119334, Москва, ул. Косыгина, 4; E-mail: tmish@rambler.ru

Изучены возрастные изменения основных физиологических и биохимических характеристик в органах здоровых мышей в течение их жизни, проведена оценка *in vivo* влияния длительного приема малых доз эфирного масла орегано, обладающего антиоксидантными свойствами, на эти характеристики в процессе старения мышей. Установлено, что прием мышами малых доз эфирного масла орегано (*Origanum vulgare* L.) с питьевой водой на протяжении жизни не вызывал токсических эффектов, не влиял на массу тела, размеры иммунокомпетентных органов и формулу крови. Эфирное масло влияло на параметры ПОЛ мышей как природный биоантиоксидант, снижало степень ПОЛ в печени, мозге и эритроцитах стареющих мышей, но не оказывало существенного влияния на структурные характеристики (микровязкость) мембран эритроцитов. Регулярный длительный прием эфирного масла орегано в малых дозах не выявил токсического действия на печень мышей, а также не влиял на синтез и метаболизм полиненасыщенных жирных кислот в печени. В результате приема эфирного масла орегано в мозге мышей в процессе старения сохранялся высоким уровень полиненасыщенных жирных кислот, в том числе докозагексаеновой кислоты, которая отвечает за сохранение и поддержание ряда жизненно важных функций мозга. Прием малых доз эфирного масла на протяжении всей жизни увеличивал среднюю продолжительность жизни мышей на 120 дней. Возможно, полученные эффекты по увеличению продолжительности жизни и влиянию на состав ЖК в мозге мышей обусловлены наличием у эфирного масла орегано антиоксидантной и антирадикальной активностей. Полученные данные свидетельствуют о перспективности эфирного масла орегано в качестве натурального геропротекторного средства. Результаты исследований являются

научной основой для ароматерапии, а также для использования эфирных масел в качестве физиологически активных веществ, обладающих профилактическим и терапевтическим действием.

ESTIMATION OF EFFICIENCY AND SAFETY OF LONG-TERM DIETARY SUPPLEMENTATION OF OREGANO ESSENTIAL OIL ON MICE

Burlakova E.B., Misharina T.A., Fatkullina L.D., Vorobyova A.K., Alinkina E.S.
Emanuel Institute of Biochemical Physics RAS, Moscow;
4, Kosygin Street, Moscow, 119334, Russia; E-mail: tmish@rambler.ru

Age-related alterations of the basic physiological and biochemical parameters of healthy mice organs throughout life were studied. The influence of long-term use of low doses of oregano essential oil possessed antioxidant properties on these parameters with age increasing was evaluated *in vivo*. It has been established that dietary supplementation of low doses of oregano essential oil (Origanum vulgare L.) with drinking water for mice life did not cause toxic effects, did not effect on body weight, size of immunocompetent organs and blood formula. The essential oil affected the parameters of lipid peroxidation as a natural bioantioxidant, reduced the degree of lipid peroxidation in liver, brain and erythrocytes of aging mice, but had no significant effect on the structural state (microviscosity) of erythrocyte membranes. Regular prolonged use of oregano essential oil at low doses, showed no toxic effects on mice liver, and did not affect the synthesis and metabolism of polyunsaturated fatty acids in liver. As a result of oregano essential oil regular intake the high level of polyunsaturated fatty acids including docosahexaenoic acid, which is responsible for the preservation and maintenance of a number of vital brain functions remain unchanged with age increasing. Low doses intake of essential oils throughout life increased average life span of mice for 120 days. Perhaps increase of mice longevity and influence of oregano essential oil on the fatty acids composition of mice brain is due to its antioxidant and antiradical properties. These data give evidence of the prospects of oregano essential oil as a natural agent with geroprotective properties. Results of the study are a scientific basis for aromatherapy as well as essential oils dietary supplementation as physiologically active substances with preventive and therapeutic action.

ВЛИЯНИЕ ОКТАНОЛА НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ БУТИРИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ К ДИИЗОПРОПИЛФТОРФОСФАТУ

Быковская Е.Ю., Жуковский Ю.Г., Кузнецова Л.П., Никитина Е.Р., Сочилина Е.Е.
Учреждение Российской академии наук Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: lpkuz@iephb.ru

Известно, что низшие алифатические спирты (метиловый, этиловый и др.) в концентрациях более 5% снижают реакционную способность бутирилхолинэстеразы сыворотки крови лошади (БуХЭ). Вероятно, это происходит из-за нарушения гидрофобных взаимодействий, стабилизирующих пространственную структуру ферментного белка. Влияние на БуХЭ спиртов с более длиной цепочкой атомов углерода (n=7–10), имеющих очень малую растворимость в воде, практически не изучалось. Тем не менее, при производстве холинэстераз допускается применение октилового спирта (n=8; растворимость в воде 0,02%) в качестве пеногасителя.

Нами исследовано влияние октилового спирта (октанола) на скорость взаимодействия БуХЭ с необратимым фосфорорганическим ингибитором диизопропилфторфосфатом (ДФФ). С этой целью к раствору фермента добавляли октанол в концентрации 1% по объёму. После

перемешивания и отстаивания отделяли избыток октанола от ферментного раствора. В последнем определяли чувствительность БуХЭ к ДФФ, используя флюорогенный субстрат α-нафтилацетат для измерения исходной и остаточной каталитической активности фермента. Оказалось, что насыщающая концентрация октанола уменьшает скорость ингибирования БуХЭ ДФФ более, чем в 10 раз, т.е. октанол, сорбируясь на ферменте, защищает его от ингибирующего действия ДФФ. Для устранения влияния октанола были испытаны различные способы его удаления из ферментного раствора. Отделить фермент от октанола не удалось ни переосаждением ферментного белка сульфатом аммония, ни фильтрацией фермент-октанолового раствора через слой сефадекса G-25. Полностью освободить фермент от октанола и, тем самым, восстановить его чувствительность к ДФФ удалось только избирательной сорбцией фермента на ионообменной смоле (ДЕАЕ-целлюлоза) с последующей элюцией солевым раствором.

Из полученных данных следует, что октанол, если он был использован в процессе производства, надо полностью удалять из препарата холинэстеразы. Это необходимо для обеспечения стабильного уровня чувствительности выпускаемого препарата фермента к фосфорорганическим ингибиторам (ДФФ и др.).

THE INFLUENCE OF OCTANOL ON SENSITIVITY OF BUTYRYLCHOLINESTERASE TO DIISOPROPYL FLUOROPHOSPHATE

E.Yu. Bykovskaja, Yu.G. Zhukovskij, L.P. Kuznetsova, E.R. Nikitina, E.E. Sochilina
Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistryof the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg; e-mail: lpkuz@iephb.ru

It is known that the lowest aliphatic alcohols (methyl, ethyl, etc.) in concentration more than 5% reduce reactive capacity of horse blood serum butyrylcholinesterase (BuChE). Possibly, the infringement of waterproof interactions, which stabilize the spatial structure of enzyme protein, take place. The influence on BuChE of alcohol, having more length a chain of carbon atoms (n=7–10) and very small solubility in water, practically was not studied. Nevertheless, the application of octanol (n=8; solubility in water of 0,02%) as the defoamer in cholinesterases manufacture is admit.

We investigate the influence of octanol on the rate of BuChE interaction with irreversible phosphororganic inhibitor diisopropyl fluorophosphate (DFP). For it octanol in concentration of 1% on volume was added to an enzyme solution. After mixing and settling the surplus of octanol was separated from enzyme solution. After that the BuChE sensitivity to DFP was determined using a fluorescent substrate α–naphthyl acetate for measurement of initial and residual enzyme activities. It has appeared, that the saturate concentration of octanol reduces the rate of inhibition of BuChE by DFP more, than in 10 times. I.e., the octanol sorption on enzyme protects it from the DFP inhibiting effect. Various ways have been tested for removal of octanol from a enzyme solution. Thus it was not possible to separate the enzyme from octanol neither a resedimentation of the enzyme protein by ammonium sulphate, nor a filtration of enzyme-oktanol solution through a Sefadex G-25. Completely to separate the enzyme from octanol and thereby to restore its sensitivity to DFP was possible only by selective sorption of enzyme on DEAE-cellulose with subsequent elution by a salt solution.

From the received data follows, that octanol it is necessary to delete completely from a preparation of cholinesterase if it has been used in the course of manufacture. It is necessary for maintenance of stable level of sensitivity of a let out preparation of enzyme to organophosphorus inhibitors (DFP, etc.).

ВЛИЯНИЕ НЕЙРОМЕДИАТОРНЫХ СИСТЕМ МОЗГА НА ПОВЕДЕНИЕ И ВОКАЛИЗАЦИЮ КРЫС В УЛЬТРАЗВУКОВОМ ДИАПАЗОНЕ

Каркищенко Н.Н., Фокин Ю.В., Каркищенко В.Н., Касинская Н.В., Алимкина О.В.
ФГБУ «Научный центр биомедицинских технологий» РАМН
143442, Московская обл., Красногорский р-н, пос. Светлые горы, вл. 1

Исследовано влияние на поведенческие и коммуникативные особенности крыс изменения нейромедиаторного пейзажа, обусловленного накоплением ацетилхолина, норадреналина, серотонина, дофамина и гамма-аминомасляной кислоты путём введения современных фармакологических препаратов. Поскольку данные характеристики (главным образом – ультразвуковая вокализация (УЗВ), служащая и мерой оценки текущего состояния) имеют свои линейные отличия, для подтверждения генетической однородности животных было проведено генотипирование с помощью ПЦР-метода. Показано, что нейромедиаторы влияют на характер проявления УЗВ за счет преобразования частотных характеристик и фактора спектральной плотности мощности УЗВ, что также коррелирует с изменением различных поведенческих реакций животных в соответствующие временные промежутки после введения препаратов и изменения нейромедиаторного пейзажа. Среди поведенческих форм наблюдалась, в основном, неподвижность, снижение горизонтальной и вертикальной активности и длительности умывания. При накоплении того или иного медиатора информативные параметры УЗВ имеют характерные для него признаки и отличаются многофазностью на протяжении 24 часов. Эффекты накопления ацетилхолина, серотонина и ГАМК сохранялись в УЗВ и поведении и на следующие сутки, причём в значительной степени соответствовали эффектам первых двух часов после введения препаратов. Данное исследование указывает на преимущественную роль серотонина в формировании характерных и достоверных информативных проявлений УЗВ, что хорошо коррелирует с нормализацией и стабилизацией адекватных поведенческих реакций.

IMPACT OF NEUROMEDIATOR BRAIN SYSTEMS ON BEHAVIOR AND VOCALIZATION OF RATS IN ULTRASONIC RANGE

Karkischenko N.N., Fokin Yu.V., Karkischenko V.N., Kasinskaya N.V., Alimkina O.V.
Federal state budgetary establishment «Scientific center of biomedical technologies» of RAMS
143442, Moscow region, Krasnogorsk district, Svetlye gory, property 1

Impact of change neuromediator landscape on behavioural and communicative features of rats caused by accumulation of acetylcholine, noradrenaline, serotonin, dopamine and gamma aminobutyric acid by introduction of modern pharmacological preparations was investigated. As given characteristics (mainly – ultrasonic vocalization (USV), that serves as measure of estimation of current condition) have linear differences, for acknowledgement of genetic uniformity of animals genotyping by PCR-method has been spent. It is shown that neuromediators affect the character of USV implication at the expense of transformation of frequency characteristics and the factor of spectral density of power USV that also correlates with change of various behavioural forms of animals in corresponding time intervals after introduction of medicines and changes neuromediator landscape. Among behavioural forms, basically, an immobilization, reduction of locomotion and rearing and duration of grooming were observed. Informative parameters of USV have characteristic signs and differ with multiphase during 24 hours with accumulation of this or that mediator. Effects of accumulation of acetylcholine, serotonin and GABA remained in USV and behaviour after 24 hours, and substantially corresponded to effects of first two hours after introduction of medicines. The given research indicates primary role of serotonin in formation of characteristic and reliable informative implications of USV that well correlates with normalization and stabilization of adequate behavioural forms.

ИЗУЧЕНИЕ ИНГИБИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ МЕТАБОЛИТОВ И ЭКСТРАКТОВ ГРИБОВ РОДА TRICHODERMA НА ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ

Громовых Т.И.[1], Садыкова В.С.[2], Свирщевская Е.В.[3], Зубарева Е.С.[1].
[1]*ФГБОУ ВПО Московский государственный университет пищевых производств, 125080, Москва, Волоколамское ш., 11*
[2]*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, 119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, МГУ, д. 1, стр. 12*
[3]*Институт биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, 117997, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10*

Различные виды грибов рода *Trichoderma* известны как агенты биологического контроля, паразитирующие на фитопатогенных грибах. Эти свойства обусловлены способностью биосинтеза широкого спектра различных вторичных метаболитов. Помимо известного противогрибкового действия грибы рода *Trichoderma* проявляют противоопухолевую и антимикробную активность (Garo et al., *2003*; Liu et al., *2005). Однако потенциал грибов рода Trichoderma* как продуцентов метаболитов с сильным ингибирующим действием против раковых клеток изучен недостаточно.

Наши исследования были посвящены оценке токсического действия метаболитов и водных экстрактов спор и мицелия различных видов рода *Trichoderma* на опухолевые клетки. Первичный скрининг по показателю токсической активности был проведен для 50 штаммов *Trichoderma* в опытах *in vitro* на клетках асцитной карциномы Эрлиха. Были отобраны шесть штаммов, среди которых 3 принадлежали к виду *T. asperellum* (TH-5, MG-6, 30), а три к видам *T. harzianum* (M–99/51), *T. citrinoviride* (Tv4-1) и *T. viride* (Lg–1). Все штаммы, оказывающие цитотоксический эффект, исследованы в опытах *in vivo* на мышах. Установлено, что четыре штамма M–99/51, Lg–1, 310 и Tv4-1 оказывали цитотоксическое действие на опухолевые клетки в опытах *in vivo*. Дальнейшие исследования проведены с экстрактами из спор и мицелия и метаболитами активных штаммов на линиях опухолевых клеток: K562, HaCaT and HEK 293T. Установлено, что метаболиты активных штаммов TV4-1, M99/51 and 310 ингибируют рост раковых клеток и индуцируют опоптоз поздней стадии (20 ч).

STUDY OF THE EFFECT OF TRICHODERMA METABOLITES AND EXTRACTS FOF THE INHIBITION OF CANCER CELLS

Gromovykh T.I.[1], Sadykova V.S.[2], Svirshevskaya E.V.[3], Zubareva E.S[1].
[1]*Moscow State University of Food Production, 125080. Moscow, Volokolamsk highway, 11*
[2]*MV Lomonosov Moscow State, 119991, Moscow, Leninskie Gory 1, Building 12*
[3]*Institute of Bioorganic ChemistryShemyakin and Ovchinnikov Academy of Sciences, 117997, Moscow, st. Maclay, 16/10*

Different species of *Trichoderma* are well known for their ability to parasitize other fungi and valuable sources as a biological control agent. This dominance is achieved biosynthesizing a wide array of secondary metabolites with different activity. Beside well-known antifungal activity some *Trichoderma* species exhibited anticancer and antimicrobial activity (Garo et al., *2003*; Liu et al., *2005*). However potential of *Trichoderma* fungi as producers of metabolites with strong inhibitory activity against cancer cell are little investigated.

Our research has focused on the evaluation the activity of toxic effect of metabolites end extracts from spores and mycelium different *Trichoderma* species on cancer cells. Initial selection of potential toxic activity was investigated *in vitro* on Ehrlich's carcinomas on 50 strains of different *Trichoderma*

species. As a result of a primary cytostatic activity of metabolites against Ehrlich's carcinomas *in vitro* it has been selected 6 active strains, forth of which belong to *T. asperellum* (TH-5, MG-6, 310), two *T. harzianum* M–99/51 and (Tv4-1), *T. citrinoviride*; *T. viride* Lg–1. All the strains that have a cytostatic effect then estimated *in vivo* on mice. The toxic effect of metabolites has been noted in 4 strains: M-99/51, Lg-1, 30 and Tv-4-1. The active strains were then tested in further studies carried out with extracts of spores and mycelia and metabolites of active strains on three cell lines cancer cells: K562, HaCaT and HEK 293T on the effect of growth inhibition and the induction of apoptosis.

High cytotoxic activity has been observed at three strains: TV4-1, M99/51 and 310 against all cell lines. It is established, that metabolites of active strains inhibited the growth of cancer cells and induced of apoptosis a late stage (20 h).

ИЗУЧЕНИЕ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ КАТИОННЫХ АЛКИЛЬНЫХ ГЛИЦЕРОЛИПИДОВ С РАЗЛИЧНЫМИ СПЕЙСЕРНЫМИ ГРУППАМИ

Маркова А.А.[1], **Плявник Н.В.**[1], **Шмендель Е.В.**[1], **Морозова Н.Г.**[1], **Маслов М.А.**[1], **Чупин В.В.**[1], **Штиль А.А.**[2]

[1]*Московский государственный университет тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, 119571 Москва, проспект Вернадского, 86*

[2]*Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина*

С целью поиска новых антинеопластических агентов в ряду положительно заряженных липидов с простой эфирной связью (ELs) нами получена серия липидов, отличающихся наличием и природой спейсера. Постоянными структурными элементами являлись диглицеридная компонента, включающая длинноцепной ($C_{18}H_{37}$) и короткоцепной (C_2H_5) алкильные остатки при С-1 и С-2 положениях, соответственно, и пиридиниевая катионная «головка». Отличие синтезированных ELs состояло в различной удаленности гидрофобной и гидрофильной составляющих. В 1-м случае сборка молекулы проводилась без спейсера (1), в двух других спейсерами служили остатки β-D-глюкозы (2) и валериановой кислоты (3). Цитотоксичность (МТТ-тест) ELs изучалась на двух типах раковых клеток: лейкоза К562 («подвижные») и рака толстой кишки НСТ116 («закрепленные»). Для линии клеток К562 наибольшую активность (сравнимую с Эдельфозином) показал EL1 без спейсера (IC_{50}=2,0±0,5 мкМ), промежуточную EL2 с β-D-глюкозильным спейсером (IC_{50}=9,4±0,8 мкМ) и наименьшую EL3 (IC_{50}=17 мкМ). Иная картина наблюдалась на линии клеток НСТ116. Хорошую активность проявил EL1 (IC_{50}=3,5±0,6 мкМ), чуть похуже — EL3 (IC_{50}=12,8±0,2 мкМ). Гликозилированный же EL2 оказался практически неактивным, что свидетельствует о его избирательном действии.

Таким образом, изучение цитотоксичности синтезированных липидов позволило среди рассмотренных представителей ELs выявить перспективные образцы для дальнейшего более углубленного исследования их антинеопластических свойств.

Работа поддержана грантом РФФИ (10-03-00995-а) и ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009-2013г» (Госконтракт №П1340).

THE CITOTOXICITY STUDIES OF THE CATIONIC ALKYLGLYCEROLIPIDS WITH DIFFERENT SPACER GROUPS

Markova A.A.[1], **Plyavnik N.V.**[1], **Shmendel E.V.**[1], **Morozova N.G.**[1], **Maslov M.A.**[1], **Chupin V.V.**[1], **Shtil A.A.**[2]

[1]*M.V. Lomonosov Moscow State University of Fine Chemical Technologies, 119571 Moscow, pr. Vernadskogo, 86*

[2]*N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center*

For searching of new antineoplastic agents among ether lipids (ELs) we have synthesized the series of positively charged lipids differing the presence or absence of spacer groups and its nature. ELs synthesized contain two functional domains – hydrophilic cationic piridinium "head" group, and hydrophobic diglyceridic residues differing with substituents at C-1 and C-2 positions of glycerol backbone (octadecylic and ethyl groups).

In the structure of lipids the nature and the length of spacer groups between cationic and hydrophobic domains were varied. In cationic lipid EL1 hydrophobic domain was attached to hydrophobic domain directly, in the other case the D-glucose (EL2) and valeric acid (EL3) were used as spacer groups. ELs cytotoxicity was estimated by MTT-test on K562 cells (human myelogenous leukemia line) and HCT116 cells (human colon cancer line). For K562 cells EL1 without spacer group displayed the highest cytotoxicity (IC_{50} = 2.0±0.5 μM) compared with commercially available ether lipids Edelfosine. EL2 with glucosyl spacer displayed IC_{50} = 9.4±0.8 μM, EL3 had the lower cytoxicity with IC_{50} = 17 μM. In the case of HCT116 cell EL1 also possessed the highest cytotoxicity with the IC_{50} = 3.5±0.6 μM. But the cytotoxicity of EL3 was IC_{50} = 12.8±0.2 μM and EL2 was practically non-active, that indicated on the selectivity of EL2 action.

Thus, cytotoxicity studies of new positively charged ether lipids have elucidated perspective ELs for further investigations of their antineoplastic properties.

This work was supported by grant RFBR (10-03-00995-a) and the Federal Program "Scientific and scientific-pedagogical personnel of innovative Russia in 2009-2013" (state contract number P1340).

ОН-ЛАЙН ПРОГНОЗ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ СКРИНИНГ В РЯДУ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРИМИДИНДИОНОВ И ПИРРОЛИДИНГИДРАЗИДОВ 1,4-НАФТОХИНОНА

Стасевич М.В.[1], **Комаровская-Порохнявец Е.З.**[1], **Воскене А.**[2], **Вайцкялёнене Р.**[2], **Мицкявичюс В.**[2], **Поройков В.В.**[3], **Филимонов Д.А.**[3], **Дружиловский Д.А.**[3], **Новиков В.П.**[1],

[1]*Национальный университет «Львовская политехника», кафедра технологии биологически активных соединений, фармации и биотехнологии, Львов-13, ул. С. Бандеры, 12, Украина, 79013*

[2]*Каунасский Технологический Университет, кафедра органической химии, Радвилену пл. 19, 50254 Каунас, Литва*

[3]*ФГБУ «ИБМХ» РАМН, отдел биоинформатики, 119121, Москва, ул. Погодинская, 10*

Для анализа взаимосвязей «структура — биологическая активность» органических соединений широко применяются компьютерные методы, с помощью которых проводят поиск и конструирование веществ с заданными свойствами, а также оптимизацию фармакологических свойств базовых структур. Сейчас существует множество коммерчески доступных веб-ресурсов, которые могут быть использованы для данной цели. С начала 2000 г. функционирует свободно-доступный интернет-ресурс PASS Online (http://pharmaexpert.ru/passonline), который активно используется сотрудниками кафедры технологии биологически активных соединений,

фармации и биотехнологии НУ «Львовская политехника» в научно-исследовательской работе для предсказания спектров биологической активности синтезируемых веществ и корреляции полученных результатов с данными экспериментального биологического скрининга. С помощью данного веб-сервиса был проведен компьютерный скрининг производных пиримидиндионов и пирролидингидразидов 1,4-нафтохинона, синтезированных в рамках совместного украинско-литовского проекта и украинско-российского договора о сотрудничестве. Анализ данных компьютерного прогноза для этих веществ показал, что наиболее характерными активностями являются антибактериальная, противогрибковая и противотуберкулезная. Проведенный экспериментальный скрининг антимикробной активности подтвердил, что большинство синтезированных веществ проявляют высокую антибактериальную активность относительно тестовых культур *Staphylococcus aureus, Mycobacterium luteum* и противогрибковое действие относительно грибов *Candida tenuis, Aspergillus niger*, в результате чего были определены базовые структуры для дальнейших исследований.

ON-LINE PREDICTION OF BIOLOGICAL ACTIVITY AND EXPERIMENTAL SCREENING IN ORDER OF DERIVATIVES OF PYRIMIDINEDIONES AND PYRROLIDINEHYDRAZIDES OF 1,4-NAPHTHOQUINONE

Stasevych M.V.[1], **Komarovska-Porohnyavets O.Z.**[1], **Voskene A.**[2], **Vaytskyalenene P.**[2], **Mickevičius V.**[2], **Poroikov V.V.**[3], **Filimonov D.A.**[3], **Druzhilovsky D.A.**[3], **Novikov V.P.**[1]

[1]*NU "Lviv Polytechnic", Department of Technology of Biologically Active Substances, Pharmacy and Biotechnology, 79013, Lviv-13, S. Bandera Str., 12, Ukraine;*

[2]*Kaunas University of Technology, Department of Organic Chemistry Radvilėnų pl. 19, LT-50 254, Kaunas, Lithuania*

[3]*IBMC RAMS, Department of Bioinformatics, 119121, Moscow, Pogodinskaya Str., 10, Russia*

For analysis of «structure — biological activity» relationship of organic compounds computational methods are widely used, which help to carry out search and design of substances with the desired properties, as well as optimization of pharmacological properties of the underlying structures. Now there are many different commercially available web-resources that can be used for this purpose. Since 2000 freely-available Internet resource PASS Online (http://pharmaexpert.ru/passonline) operates, which is actively used by the researchers of the Department of Technology of Biologically Active Substances, Pharmacy and Biotechnology of NU "Lviv Polytechnic" in scientific research for prediction of the biological activity spectra of the synthesized compounds and correlating the results with the experimental data of biological screening. Computer screening of pyrimidinediones and pyrrolidinehydrazides of 1,4-naphthoquinone was carried out by online program PASS within the framework of joint Ukrainian-Lithuanian project and the Ukrainian-Russian agreement. Analysis of the obtained data of computer prediction for these substances showed that the most characteristic activities are antibacterial, antifungal and antituberculosic. The experimental testing of antimicrobial activity confirmed that the majority of the synthesized compounds have a high antibacterial activity against test-cultures *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium luteum* and antifungal activity against fungi *Candida tenuis, Aspergillus niger*, resulting the basic structures have been determined for further studies.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ХОЛИНЭСТЕРАЫ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ОЖОГОВОГО ШОКА

Жуковский Ю.Г., Кузнецова Л.П., Никитина Е.Р., Сочилина Е.Е.
Учреждение Российской академии наук Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: esoch@iephb.ru

Шок характеризуют как тяжелый патологический процесс, возникающий вследствие травмы и приводящий организм на грань жизни и смерти. При ожогах, сопровождающихся шоком, в крови наблюдается резкое падение активности холинэстераз. Снижение активности фермента происходит в ближайшие часы после травмы и может устойчиво сохраняться в течение длительных сроков – до нескольких месяцев. Известно, что для восстановления уровня холинэстеразы в крови обожжённых и ускорения их выздоровления предложено проводить им внутривенные переливания плазмы с высоким содержанием сывороточной холинэстеразы.

Нами изучена возможность применения препарата экзогенной холинэстеразы из нервной ткани при лечении ожогового шока. Исследование было проведено в экспериментах на собаках и кроликах. Препарат холинэстеразы в дозе 20 Е/(кг массы тела животного) растворяли в подготовленном для инфузии количестве кровезаменителя полидеза (20 мл/кг) и вводили животным в течение часа через один час после ожога. Контролем служили опыты с инфузией одного полидеза в объёме 20 мл/(кг массы тела). Опыты показали, что использование препарата фермента при инфузионной терапии ожогового шока усиливает лечебный эффект кровезаменителя полидеза, способствуя нормализации гемодинамики, водно-электролитного баланса и кислотно-щелочного равновесия, а также приводит к существенному снижению гиперосмоляльности плазмы крови. По нашему мнению, указанное снижение гиперосмоляльности плазмы происходит не только за счёт увеличения выведения с мочой солей натрия, но и вследствие усиления процессов избирательной реверсии (возврата) воды-растворителя из почечных канальцев в кровь. Свойство препарата холинэстеразы снижать гиперосмоляльность плазмы крови представляет особый практический интерес. Препараты с такими свойствами необходимы для обеспечения длительного пребывания организмов в замкнутых космических и глубоководных аппаратах ограниченного (малого) объёма.

RESEARCH OF POSSIBILITY OF APPLICATION CHOLINESTERASE FOR TREATMENT OF THE BURN SHOCK

Yu. G. Zhukovskij, L.P. Kuznetsova, E.R. Nikitina, E.E. Sochilina
Sechenov Institute of Evolutionary Phisiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences, St.-Petersburg, Russia. E-mail: esoch@iephb.ru

The shock is characterised as the heavy pathological process arising owing to a trauma and resulting an organism on a side of a life and death. At the burns, accompanied by a shock, the sharp falling of cholinesterase's activity in blood is observed. Decrease in enzyme activity occurs in the next hours after a trauma and can steadily remain during long terms — about several months. It is known, that for restoration of the cholinesterase level in blood of the burnt and accelerations of their recover it was offered to spend it intravenous transfusions of plasma with the high maintenance of serum cholinesterase.

We study possibility of application at treatment of a burn shock of a exogenous cholinesterase preparation from a nervous tissue. Research has been spent in experiments on dogs and rabbits. Cholinesterase preparation in a dose 20 E / (kg of weight of a body of an animal) was dissolved in the quantity prepared for infusion a Polydesum (20 ml/kg) and was entered an animal in one hour after a

burn within an hour. Experiments with infusion one Polydesum in volume of 20 ml / (kg of weight of a body) served as the control. Experiments have shown, that use of a enzyme preparation at infusional therapies of a burn shock strengthens medical effect of blood substitute a Polydesum, promoting haemodynamics normalisation, hydro-electrolytic balance and acid-base balance, and also leads to essential decrease hyperosmolality of blood plasmas. In our opinion, the decrease hyperosmolality of plasmas occurs not only for the account of increase in deducing with urine of sodium salts , but also owing to strengthening of processes selective return of water-solvent from renal tubule into blood. Property of the cholinesterase's preparation to reduce hyperosmolality of blood plasmas represents special practical interest. Preparations with such properties are necessary for maintenance of long stay of organisms in closed space and deep-operating vehicles of the limited (small) volume.

СЕКЦИЯ 5 «ПРИМЕНЕНИЕ НАНОБИОТЕХНОЛОГИИ В МЕДИЦИНЕ»
SECTION 5 "APPLICATIONS OF NANOBIOTECHNOLOGIES IN MEDICINE"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

ПРИМЕНЕНИЕ ПОЛИМЕРНЫХ СИСТЕМ ДОСТАВКИ ДЛЯ ТРАНСПОРТА ПЕПТИДОВ С НЕЙРОТРОФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ ЧЕРЕЗ ГЕМАТО-ЭНЦЕФАЛИЧЕСКИЙ БАРЬЕР

Балабаньян В.Ю., Елизарова О.С., Солев И.Н., Литвинова С.А., Гарибова Т.Л., Воронина Т.А.
ФГБУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» РАМН, г. Москва

Введение. Весьма перспективным направлением в плане фармакологической коррекции нейродегенеративных заболеваний является применение пептидных нейротрофических факторов, в частности, фактора роста нервов (ФРН) и рекомбинантного эритропоэтина человека (РЭЧ). Существенное препятствие к их клиническому применению – малая способность проникать через гемато-энцефалический барьер (ГЭБ). Одним из наиболее перспективных способов преодоления ГЭБ является использование полимерных наночастиц (НЧ) с модифицированной поверхностью.

Цель исследования. Изучить нейропротекторное действие ФРН и РЭЧ, включенных в полимерный матрикс НЧ на экспериментальных моделях нейродегенерации (болезни Паркинсона (БП) и геморрагическом инсульте (ГИ)).

Материалы и методы. БП моделировали введением нейротоксина 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина (МФТП, 30 мг/кг, в/б) мышам линии C57B1/6. ГИ моделировали у крыс путем создания интрацеребральной посттравматической гематомы (ИПГ) в области внутренней капсулы с введением в место повреждения крови, взятой из-под языка животного.

Результаты. Введение ФРН, включенного в полимерные НЧ, показало ослабление основной симптоматики БП, что выражалось в достоверном уменьшении показателей ригидности (с 5,5±0,25 см до 6,8±0,06 см), повышении локомоторной активности мышей в 1,9 раза по сравнению с животными, получавшими только МФТП. На модели ГИ показана способность РЭЧ, включенного в НЧ, предотвращать гибель животных — выжило на 45% больше, чем в контрольной группе крыс с ИПГ.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о том, что ФРН и РЭЧ, включенные в полимерные носители, при в/в введении проникают через ГЭБ, что позволяет достичь терапевтически значимых концентраций этих пептидов в мозге.

THE DELIVERY OF NEUROTROPHIC PEPTIDES TO CENTRAL NERVOUS SYSTEM USING POLIMERIC SYSTEMS

Balabanyan V.Y., Yelizarova O.S., Solev I.N., Litvinova S.A., Garibova T.L., Voronina T.A.
Zakusov Institute of Pharmacology RAMS, Moscow

Introduction. The use of peptide neurotrophic factors is a very promising direction in the terms of neurodegenerative diseases medication, in particular, nerve growth factor (NGF) and recombinant human erythropoietin (rhEPO). The most important obstacle to their clinical usage is limited penetration

through the blood-brain barrier (BBB). One of the most promising ways of crossing BBB is the use of polymeric nanoparticles (NPs) with modified surface.

Research objective. The study of NGF and rhEPO neuroprotective effect, which are encapsulated in polimeric NPs on experimental models of neurodegeneration (Parkinson's disease (PD) and hemorrhagic stroke (HS)).

Materials and Methods. We used 1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) mouse model of Parkinson's disease (30 mg/kg intraperitoneally, male C57BL/6 mice). Intracerebral posttraumatic hematoma (hemorrhagic stroke model) was induced in rats by injection of allogeneic blood into the capsula interna.

Results. Injection of NGF encapsulated in polymeric NPs showed significant decrease of PD symptoms, such as rigidity (from 5,5 ± 0,25 cm to 6,8 ± 0,06 cm), locomotor activity increased at 1.9 fold compared with animals treated only with MPTP. On the HS model it is shown the ability of rhEPO encapsulated in polimeric NPs to prevent animals' death. In rhEPO (encapsulated in polimeric NPs) group survived more rats (45%) then in HS control group.

Conclusion. These data suggest that NGF and rhEPO encapsulated in polymeric carriers at intraperitoneally injection penetrate through BBB, which allows to achieve therapeutically relevant concentrations of these peptides in the brain tissue.

БЕЛОК VirE2 СТИМУЛИРУЕТ ТРАНСПОРТ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ В КЛЕТКИ HeLa

Чумаков М.И.[1,2], **Гусев Ю.С., Мазилов С.И.**[2], **Волохина И.В.**[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,*

Почвенные бактерии *A. tumefaciens* являются фитопатогеном для широкого круга двудольных и однодольных растений и способны доставлять в природе фрагмент Ti-плазмиды (Т-ДНК) в ядро растительных и *in vitro* в животные клетки. Механизм переноса Т-ДНК через мембраны клетки-хозяина не известен. Считается, что белок вирулентности *A.tumefaciens* VirE2 может способствовать переносу Т-ДНК через мембраны, поскольку он увеличивает электропроводность искусственных мембран и способствует переносу коротких олигонуклеотидов через мембрану.

В данной работе впервые установлено, что белок VirE2 способствует переносу олигонуклеотидов в клетки HeLa. При добавлении к клеткам HeLa рекомбинантного белка VirE2 олигонуклеотиды (23 н.о.), меченые FAM, накапливаются на 56% интенсивней, по сравнению с вариантом, где клетки HeLa инкубировались только с олигонуклеотидами без добавления белка VirE2 ($p \leq 0,05$). Прединкубация клеток HeLa с блокираторами дыхания (NaN_3, CCCP) приводит к снижению флуоресценции на 36-43% ($p \leq 0,05$), по сравнению с клетками без обработки. С помощью компьютерного анализа найдены и измерены каналы у комплексов из 2-х и 4-х белков VirE2, достаточные для прохождения оцДНК. Данные компьютерного моделирования комплексов белка VirE2 подтверждены экспериментально [1]. Дальнейшее исследование механизма этого явления может дать основу для опосредованной белком VirE2 технологии доставки ДНК в животную клетку для целей генотерапии.

1. Волохина И.В., Гусев Ю.С., Мазилов С.И., Чумаков М.И.Надмолекулярные комплексы белка вирулентности VirE2 *Agrobacterium tumefaciens* // Биохимия. – 2011. – Т. 76. – С.1576-1582.

VirE2 PROTEIN IMPROVES OLIGONUCLEOTIDE TRANSPORT TO HeLa CELLS

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

[1]*Bioengineering Laboratory, Inst. Biochem & Physiol. Plants & Microorg., Russ. Acad. Sci., Entuziastov pr. 13, Saratov,*
410049, Russia; tel.: (8452)970403, fax: (8452) 970383;
[2]*Saratov State University,*
Moskovskaya st. 155, Saratov, 410012, Russia

The soil-borne bacteria *A. tumefaciens* are a natural vector for delivering a fragment of the Ti plasmids (T-DNA) into the plant cell nucleus (in nature) and into animal cells (*in vitro*). The mechanism of T-DNA transfer across the host cell membrane is unknown. It is believed that VirE2 protein facilitates T-DNA transfer across the host membranes, since it increases the conductivity of artificial membranes and facilitates the transfer of short oligonucleotides across them.

In this study, we have found for the first time that VirE2 contributes to the transfer of oligonucleotides into HeLa cells. When the recombinant protein VirE2 was added to HeLa cells, FAM-labeled oligonucleotides (23 bp) accumulated 56% more intensively than they did when the HeLa cells were incubated only with the oligonucleotides ($p \leq 0,05$). Preincubation of HeLa cells with respiration blockers (NaN_3 and CCCP) decreased fluorescence by 36-43% ($p \leq 0.05$), compared with the untreated cells. With the help of computer simulation, the channels from complexes of two and four VirE2 proteins, sufficient for the passage of ssDNA, were measured. The data of the computer simulation of the VirE2 protein complexes were confirmed experimentally [1]. Further study of the mechanism of this phenomenon may provide the basis for a VirE2-mediated technology of DNA delivery into animal cells for the purpose of targeted gene therapy.

1. Volokhina I.V., Gusev Yu. S., Mazilov S.I., and M.I. Chumakov Supramolecular complexes of the *Agrobacterium tumefaciens* virulence protein VirE2 //Biochemistry (Moscow), 2011, Vol. 76, issue 11, p. 1576 – 1582.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ФОСФОЛИПИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДЛЯ ТРАНСПОРТА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Дружиловская О.С., Прозоровский В.Н., Медведева Н.В., Ипатова О.М.

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н.Ореховича»
Российской академии медицинских наук (ФГБУ «ИБМХ» РАМН),
119121, Москва, Погодинская, д.10.

Развитие науки и технологий в настоящее время наряду с поиском и синтезом новых лекарственных соединений позволяет совершенствовать используемые лекарства и производить новые оригинальные препараты, отличающиеся повышенной эффективностью, биодоступностью, отсутствием или снижением побочного действия. Одним из таких подходов является конструирование систем пассивного и/или направленного транспорта лекарств к пораженным органам и клеткам-мишеням. В качестве транспортных систем применяют наночастицы разной природы: полимерные, на основе природных материалов, металлов и т.д. Большой интерес представляют системы транспорта/доставки на основе фосфолипидов, т.к. они биодеградируемы, не вызывают аллергических реакций, поверхность наночастиц на их основе легко модифицировать для придания тех или иных свойств.

Нами разработана технология получения фосфолипидных наночастиц предельно малого размера (до 30 нм) и проведена серия экспериментов по изучению их физико-химических

свойств (определение размера методами лазерно-корреляционного анализа, электронной и атомно-силовой микроскопии; измерение дзета потенциала; стабильность при хранении; влияние ионной силы на осмотическую устойчивость наночастиц).

С использованием разработанной технологии получения фосфолипидных наночастиц получены лекарственные композиции на основе преднизолона, индометацина, арбидола и др., показано увеличение их биодоступности, специфической активности при включении в фосфолипидные наночастицы.

Таким образом, экспериментально доказана перспективность использования фосфолипидных наночастиц для неселективного транспорта лекарств в организме.

PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF PHOSPHOLIPID NANOPARTICLES AND THEIR USE FOR THE TRANSPORT OF DRUGS

Druzhilovskaya OS, Prozorovskii VN, Medvedev NV, OM Ipatova

Federal State budgetary institution, "Research Institute of Biomedical Chemistry, Orekhovich" of the Russian Academy of Medical Sciences (FGBU "IBMH" RAMS),
119121, Moscow, Pogodinskaya, 10.

The development of science and technology at the present time, along with search and synthesis of new drug compounds can improve the drugs used to produce new and original drugs, characterized by high efficiency, bioavailability, absence or reduction of side effects. One such approach is the design of passive and/or directed transport of drugs to the affected organs and target cells. As delivery systems used nanoparticles of different nature: polymer based on natural materials, metals, etc. The systems of transportation/delivery based on phospholipids are great interest, as they are biodegradable, do not cause allergic reactions, the surface of nanoparticles based on them can easily be modified to give certain properties.

We have developed a technology of production phospholipid nanoparticles extremely small size (30 nm) and we have done series of experiments to study their physicochemical properties (size detection by method of laser correlation analysis, electron and atomic force microscopy, zeta potential measurement, storage stability, the impact of ionic strength on the osmotic stability of the nanoparticles).

With the developed technology of phospholipid nanoparticles derived medicinal formulations based on prednisolone, indomethacin, arbidol and others. It was shown an increase bioavailability, the specific activity for incorporated drugs in phospholipid nanoparticles.

Thus,It was experimentally proved availability of use phospholipid nanoparticles for non-selective transport of drugs in the body.

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НАНОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДСТВ ДЛЯ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ

Дыгай А.М., Жданов В.В., Зюзьков Г.Н.

Федеральное бюджетное государственное учреждение «Научно-исследовательский институт фармакологии» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук,
634028, г. Томск, пр. Ленина, 3

Цель: Разработка средств для регенеративной медицины нового поколения — иммобилизированных (им) с помощью нанотехнологии электронно-лучевого синтеза аналогов эндогенных регуляторов функций стволовых клеток (СК). **Материалы и методы:**

Экспериментальными моделями служили: инфаркт миокарда, хронический гепатит, сахарный диабет, гипоксическая энцефалопатия, кожная рана и миелосупрессивные состояния. Для оценки эффективности терапии использовали гистологические, биохимические, электрофизиологические и др. методы. Состояние различных пулов СК и механизмы их регуляции изучали с помощью широкого спектра культуральных методов. **Результаты:** Обнаружено, что развитие патологических процессов приводит к активации мультипотентных СК костного мозга, не сопровождающейся их мобилизацией в кровь. Установлена принципиальная возможность терапии патологических состояний с помощью модификаторов функций СК. Изучена регенеративная активность имГ-КСФ и им гиалуронидазы (ГД). Введение имГ-КСФ на фоне моделирования патологических состояний приводит к стимуляции выхода СК в периферическую кровь и их хомингу в пораженных органах с дальнейшей реализацией ростового потенциала. Терапевтическое действие имГД связанно с активацией регионарных СК и миграцией СК из тканей-депо в органы-мишени. При этом в основе развития выявленных феноменов лежит модификация свойств межклеточного матрикса, кликокаликса клеток и их рецепторов к биологически активным веществам, сопровождающаяся изменением секреторной и связывающей способностей клеточных элементов микроокружения тканей, а также повышением адгезивных свойств клеток-предшественников и повышением их восприимчивости к регуляторным стимулам.

PHARMACOLOGICAL PROPERTIES OF NANOTECHNOLOGICAL REMEDIES FOR REGENERATIVE MEDICINE

Dygai A.M., Zhdanov V.V., Zyuz`kov G.N.
Federal state budgetary institution "Research institute of pharmacology" of the Siberian branch of Russian academy of medical sciences,
3 Lenin avenue, Tomsk, 634028, Russia

The purpose: Working out of remedies for regenerative medicine of new generation – immobilized (im) by means of nanotechnology of electron beam synthesis of endogenous regulators analogs of stem cells (SC) functions. **Materials and methods:** Myocardial infraction, chronic hepatitis, diabetes, hypoxic encephalopathy, skin wound and myelosuppressive states served as experimental models. Histological, biochemical, electrophysiological and others methods were used to estimate the efficiency of therapy. The state of SC various pools and mechanisms of their regulation were studied with the help of wide spectrum of cultural methods. **Results:** It was revealed that development of pathological processes resulted in an activation of bone marrow multipotent SC which not accompanied by their mobilization in blood. Principle possibility of pathological conditions therapy by means of modifiers of SC functions was established. Regenerative activity of imG-CSF and im hyaluronidase (HD) was studied. Administration of imG-CSF against modeling of pathological conditions resulted in stimulation of SC exit in peripheral blood and their homing in affected organs with following realization of growth potential. Therapeutic action of imHD was connected with activation of regional SC and migration of SC from depot-tissues in target-organs. Modification of intercellular matrix properties, cells glycocalix and their receptors to biologically active substances, accompanied by change of secretory and connecting abilities of cellular elements of tissue microenvironment, and also increasing adhesive properties of cell-precursors and rise of their susceptibility to regulatory stimulus underlay development of revealed phenomena.

НАНОЧАСТИЦЫ КАК КОМПОНЕНТЫ ИММУНОДИАГНОСТИЧЕСКИХ ТЕСТ-СИСТЕМ

Дзантиев Б.Б.
Институт биохимии А.Н. Баха РАН
119071, Москва, Ленинский проспект, 33

В иммунохимических тест-системах наночастицы с различными свойствами (окрашенные, флуоресцирующие, магнитные, электропроводящие и др.) широко применяются для целей маркирования иммунокомпонентов или их разделения и концентрирования. В докладе представлен сравнительный анализ возможностей использования наночастиц разных классов. На примере коллоидного золота (КЗ) рассмотрена взаимосвязь между иммобилизацией антител на поверхности наночастиц разного размера, эффективным значением константы связывания антиген-антитело и аналитическими характеристиками тест-системы. Установлено, что с возрастанием диаметра наночастиц КЗ от 6 до 33 нм чувствительность иммунохроматографического определения вирусов возрастает в 27 раз. На примере определения микотоксинов сопоставлены характеристики иммунохроматографического и иммуносенсорного анализа при мечении коллоидным золотом специфических и антивидовых антител. Показано, что использование конъюгата КЗ с антивидовыми антителами обеспечивает 10-кратное снижение предела обнаружения. На примерах определения антибиотика хлорамфеникола и аллерген-специфических антител показана эффективность применения конъюгатов антител и водорастворимых полупроводниковых квантовых точек (КТ) на основе CdSe/ZnS. Проведено сравнение фотометрической детекции КЗ и флуориметрической детекции КТ как маркеров для целей анализа. Продемонстрирована возможность снижения предела обнаружения в иммуноферментном анализе при использовании магнитных ультрадисперсных иммуносорбентов на основе смешанного оксида железа. Приведены результаты разработки иммунохроматографических тест-систем с использованием наночастиц для экспрессного определения антибиотиков, психоактивных соединений, вирусных и бактериальных антигенов, специфических антител против инфекционных агентов.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ (государственный контракт от 28 июня 2010 г. № 02.740.11.0868) и Программы фундаментальных исследований Президиума РАН № 8.

NANOPARTICLES AS COMPOUNDS OF IMMUNODIAGNOSTIC TEST-SYSTEMS

Dzantiev B.B.
A.N. Bach Institute of Biochemistry Russian Acad. Sci.
119071 Moscow, Leninsky prospect 33

Nanoparticles with different properties (colored, fluorescent, magnetic, conductive etc.) are applied widely in immunochemical test-systems for labeling, separation or concentration of immune compounds. The report presents a comparative analysis of nanoparticles from different classes in terms of their opportunities. On the example of colloidal gold (CG) the relationship between antibodies immobilization on surface of nanoparticles with different size, effective value of antigen-antibody binding constant and analytical characteristics of the test-systems is considered. It is found that increase of CG diameter from 6 to 33 nm causes 27-fold growth of sensitivity for immunochromatographic detection of viruses. On the example of mycotoxins detection parameters of immunochromatographic and immunosensoric assays are compared for the cases of specific and anti-species antibodies labeling

by CG. It is demonstrated that the use of CG conjugate with anti-species antibodies provides 10-fold decrease of the limit of detection. On the examples of antibiotic chloramphenicol and allergen-specific antibodies the efficiency of the application of antibody conjugates with water-soluble semiconductor quantum dots (QD) on the basis of CdSe/ZnS. Photometric detection of CG and fluorometric detection of QD are compared as solutions for the registration of assay results. Possibility to decrease the limit of detection of immunoenzyme assay by the use of magnetic ultradisperse immunocarriers on the basis of mixed oxide of iron. The results of the development of immunochromatographic test-systems with the use of nanoparticles for express detection of antibiotics, drugs of abuse, viral and bacterial antigens, specific antibodies against infectious agents are given.

This work was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (state contract # 02.740.11.0868, June 28, 2010) and the Program of Basic Research of the Presidium of Russian Acad. Sci. # 8.

ВОЗМОЖНОСТИ СОЗДАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ С НАНОЧАСТИЦАМИ МЕТАЛЛОВ

Егорова Е.М.
НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН,
125315 Москва, Балтийская ул., д.8;

В исследованиях биологических эффектов наночастиц металлов, полученных методом биохимического синтеза с использованием синтетического стабилизатора, было установлено, что наночастицы серебра, меди и цинка обладают антимикробной активностью. Было показано также, что наночастицы серебра оказывают угнетающее действие на функции биологических объектов разных уровней организации – от клеток до животных организмов [1]. В настоящем сообщении выделены три группы результатов, свидетельствующие о возможности создания лекарственных средств с применением наночастиц металлов: (1) существенное снижение митохондриальной функции клеток опухолей человека (линии HeLa и U937) при инкубации с водными растворами наночастиц серебра; такие данные можно рассматривать как основу для использования наночастиц серебра в качестве лекарственного средства в терапии онкологических заболеваний; (2) значительную антимикробную активность пленок из биодеградируемого полимера с наночастицами серебра в отношении музейных штаммов Staphillococcus aureus и Salmonella typhimurium при больших концентрациях бактериальных клеток (10^4 и 10^6 КОЕ/мл) во взвеси, контактирующей с пленкой [2]; такой полимерный материал может найти применение в медицине (например, при лечении повреждений кожи); (3) высокую бактерицидную активность наночастиц серебра, меди и цинка при добавлении их в питательную среду против 10-ти антибиотикорезистентных штаммов стафилококков, выделенных от больных. Полная гибель бактерий ($3x10^4$ КОЕ) наблюдалась при концентрациях наночастиц, не превышающих $4 * 10^{-4}$0%; на основе полученных данных предполагается создание препарата для лечения гнойно-воспалительных процессов. Для уменьшения токсичности водных растворов наночастиц при создании лекарственных препаратов разработана методика получения наночастиц в оболочке из природного стабилизатора.

Литература.

1. Egorova E.M.In: “Silver nanoparticles: properties, characterization and applications”. (Ed. by Audrey E. Welles). Nova Science Publishers, New York, 2010, p.221-258.

2. Широкова Л.Н., Александрова В.А., Егорова Е.М., Вихорева Г.А.// Прикладная биохимия и микробиология. 2009. Т.45. №3. С.422-426.

THE POSSIBILITIES FOR THE CREATION OF MEDICINES WITH METAL NANOPARTICLES

Egorova E.M.
Institute of general pathology and pathophysiology, RAMS,
Baltijskaya st., 8, 125315

As found in studies of the biological effects of metal nanoparticles obtained by means of the biochemical synthesis with synthetic stabilizer, silver, copper and zinc nanoparticles manifest a high antimicrobial activity. It was shown also that silver nanoparticles suppress the functions of biological objects staying at various organization levels – from cells to animal organisms [1]. In the present paper we have chosen three groups of results testifying to the possibilities of the creation of medicines with metal nanoparticles: (1) a considerable decrease of mitochondrial function in human tumor cultured cells (HeLa and U937) after incubation with water solutions of silver nanoparticles; such data may be regarded as a ground for the use of the nanoparticles in therapy of oncological deceases; (2) significant antimicrobial activity of biodegradable polymer films containing silver nanoparticles towards Staphillococcus aureus и Salmonella typhimurium (museum stamms) at their high concentrations in suspension (10^4 and 10^6 CFU/ml) in contact with the film; we believe that such polymer material may prove to be useful in medicine, for example, in the treatment of skin deceases; (3) high antimicrobial activity of silver, copper and zinc nanoparticles added to the culture medium towards ten antibiotics-resistant Staphillococcus stamms obtained from the patients; total death of bacteria was observed at nanoparticles concentration not exceeding 4 *10^{-4}%; basing on the data obtained it is suggested that new preparation may be created for the treatment of suppurative inflammatory processes. To decrease the toxicity of the nanoparticles' solutions in medical applications, the methodology is developed for the nanoparticles' synthesis in the shell formed by natural stabilizer.

Literature

1. Egorova E.M.In: "Silver nanoparticles: properties, characterization and applications". (Ed. by Audrey E. Welles). Nova Science Publishers, New York, 2010, p.221-258.

2. Shirokova L.N., Alexandrova V.A., Egorova E.M.Vihoreva G.A.// Applied biochemistry and microbiology (Russian). 2009. V.45. P.422-426.

ПРИМЕНЕНИЕ НАНОЧАСТИЦ И НАНОМАТЕРИАЛОВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ

Гмошинский И.В., Распопов Р.В.
ФГБУ НИИ питания РАМН,
109240, г. Москва, Устьинский проезд д.2/14

Нанотехнологии являются быстро развивающимся направлением современной науки и техники. Область применения искусственно сконструированных наночастиц (НЧ) постоянно расширяется и включает, в том числе, пищевую промышленность. Значительный интерес в качестве источников эссенциальных микроэлементов в пищевой продукции, представляют НЧ оксидов цинка и железа, а также элементарного селена. В нашем исследовании была охарактеризована усвояемость и биодоступность указанных НЧ в экспериментах на крысах, получавших полусинтетические рационы, обеднённые, соответственно, цинком, железом и селеном. Показано, что введение НЧ оксида цинка в течение 14 дней приводит к практически полному восстановлению показателей обеспеченности этим микроэлементом (содержание цинка в бедренной кости — 292±7 мг/кг, активность щелочной фосфатазы – 5,81±0,36 мккат/дм^3) и не вызывает неблагоприятных изменений в гематологических и иммунологических показателях. В эксперименте с использованием НЧ оксида цинка, меченных [^{65}Zn] показано, что они эффективно

всасываются в тонкой кишке. Величина истинной абсорбции цинка при этом составляет 80%, а коэффициент эффективной ретенции – не менее 99%. НЧ оксида железа (III) были биодоступны при введении в желудочно-кишечный тракт крыс. По степени восстановления статуса железа эти НЧ были сопоставимы с двухвалентной формой железа, но при этом отсутствовало избыточное накопление железа в печени (НЧ Fe (III) – 59,2±7 мг/кг, сульфат Fe (II) – 176,2±46,6 мг/кг). НЧ селена в дозе, близкой к физиологической потребности, восстанавливают нарушенный статус селена, судя по показателям концентрации селена в сыворотке крови и его содержанию в печени. Признаков токсического действия НЧ нульвалентного селена на организм животных не выявлено даже в дозе, 10-кратно превышающей уровень физиологической потребности в данном микроэлементе. В совокупности полученные результаты позволяют предположить, что изученные НЧ минеральных веществ можно рассматривать как возможные пищевые источники эссенциальных микроэлементов.

UTILIZATION OF NANOPARTICLES AND NANOMATERIALS IN FOOD

Gmoshinski I.V., Raspopov R.V.
FSBI Institute of nutrition RAMS,
109240, Moscow, Ust'inski proezd 2/14

Nanotechnology is a rapidly growing line of modern innovational technical development. The field of engineered nanoparticles (NP) utilization makes up many industrial branches including food industry. The subject of high interest in food production are NP of zinc (Zn) and iron (Fe) oxides and zero-valent selenium (Se) that are considered as possible sources of appropriate trace elements in nutrition. We characterized uptake and bioavailability of said NP in experiments on rats suffering from dietary deficiency of Zn, Fe and Se correspondently. There was demonstrated that Zn NP feeding during 14 days led to practically complete restoration of Zn satiety indexes including Zn content in tibia (297±7 mg/g) and alkaline phosphatase activity (5.81±0.36 mcat/dm^3) and didn't demonstrate any signs of undesirable changes in blood cells and immunity. In experiment with [^{65}Zn]-ZnO NP there was shown that this NP were completely absorbed in the gut with true absorption equal to 80% and effective retention close to 99%. NP of ferric oxide were bioavailable when being fed to rats. This NP restored Fe stores in the body in degree compatible to soluble ferrous salt but didn't led to excessive accumulation of Fe in liver (ferric oxide NP – 59.2±7.0 mg/g, ferrous sulphate 176.2±46.6 mg/g). Se NP in amount equal to daily allowance of this trace element restored Se levels in blood and liver of animals. There were noticed no signs of these NP toxicity even in dose ten folds higher than daily allowance. In general these results allow considering studied NP of mineral substances to be a valuable sources of trace elements in nutrition.

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ *IN VIVO* НАНОЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ PLGA, КОНЪЮГИРОВАННЫХ С РЕКОМБИНАНТНЫМ С-КОНЦЕВЫМ ДОМЕНОМ АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИНА

Годованный А.В., Горшкова Л.Б., Дубовик Е.Г., Никольская Е.Д., Посыпанова Г.А., Северин С.Е.

Национальный исследовательский центр "Курчатовский институт", НБИК-центр, 123182, Москва, пл. Академика Курчатова, д. 1.

Ранее нами было обнаружено повышение цитотоксической активности *in vitro* PLGA-наночастиц с включением доцетаксела в результате их конъюгирования с С-концевым доменом альфа-фетопротеина в качестве векторного белка (Доц-НЧ-рСдАФП), в отношении опухолевых клеток. Целью настоящей работы явилось исследование противоопухолевой активности Доц-НЧ-рСдАФП *in vivo*.

Исследование противоопухолевой активности Доц-НЧ-рСдАФП производили на двух различных модельных опухолях: асцитной модели лейкоза мыши Р388, и солидной опухоли аденокарциномы молочной железы мыши Са755, привитой подкожно. В качестве препаратов сравнения использовали доцетаксел в составе наночастиц без векторного белка и свободный доцетаксел.

В случае модели лейкоза мыши препараты вводили в дозах 5, 10 и 20 мг/кг в течение 5 или 3 дней. Трехкратное введение Доц-НЧ-рСдАФП в дозе 20 мг/кг приводило к увеличению медианы продолжительности жизни животных на 25%, в то время как препараты сравнения не оказали никакого положительного эффекта.

Исследование влияния препаратов на скорость роста солидной опухоли показало, что Доц-НЧ-рСдАФП обладает наиболее выраженным противоопухолевым эффектом. Внутриопухолевое введение Доц-НЧ-рСдАФП в дозе 20 мг/кг привело к подавлению роста опухоли на 91% на 21-е сутки эксперимента. При этом введение препаратов сравнения не приводило к достоверному торможению роста опухоли.

Представленные результаты свидетельствуют о выраженном противоопухолевом действии Доц-НЧ-рСдАФП *in vivo*. Проявление данного эффекта, несомненно, обусловлено связыванием наночастиц с рекомбинантным С-концевым доменом альфа-фетопротеина в качестве векторного белка.

INVESTIGATION OF ANTITUMOR ACTIVITY *IN VIVO* OF DOCETAXEL-CONTAINING PLGA NANOPARTICLES CONJUGATED WITH RECOMBINANT C-TERMINAL DOMAIN OF ALPHA-FETOPROTEIN

Godovannyi A.V., Gorshkova L.B., Dubovik E.G., Nikol'skaya E.D., Posypanova G.A., Severin S.E.

National Research Centre "Kurchatov Institute", NBIC-center, Akademika Kurchatova pl. 1, Moscow, 123182 Russia.

An increase of cytotoxic activity in vitro of docetaxel-containing PLGA-nanoparticles after conjugation with C-terminal domain of alpha-fetoprotein for tumor cells was discovered earlier. The purpose of this research is investigation of antitumor activity of docetaxel-containing nanoparticles conjugated with C-terminal domain of alpha-fetoprotein (Doc-NP-rCtAFP) in vivo.

An investigation of antitumor activity of Doc-NP-rCtAFP was carried out for two different model tumors: ascitic mice leukemia P388 tumor and solid mice mammary adenocarcinoma Ca755 tumor, inoculated s.c. Docetaxel and docetaxel-containing nanoparticles were used as comparator drugs.

To treat leukemia drugs were administered i.p. for 3 or 5 days daily at a dose of 5, 10 or 20 mg/kg. Triple injection of Doc-NP-rCtAFP at a dose of 20 mg/kg resulted in 25% extension of median lifespan of animals. An administration of comparator drugs did not give any positive result.

Investigation of drugs' influence on growth rate of solid tumor showed Doc-NP-rCtAFP to be the most effective. Intralesional injection of Doc-NP-rCtAFP at a dose of 20 mg/kg resulted in 91% inhibition of tumor growth on day 21. Injections of comparator drugs did not lead to reliable inhibition of tumor growth.

Results of described experiments prove a significant antitumor activity of Doc-NP-rCtAFP *in vivo*.

ВЫСОКОСКОРОСТНОЙ СКАНИРУЮЩИЙ ЗОНДОВЫЙ МИКРОСКОП ДЛЯ МЕДИЦИНЫ

Горелкин П.В.[1], **Яминский И.В.**[2]
[1]*ООО «Медицинские нанотехнологии»,*
119311, г. Москва, ул. Строителей, 4-5-47
[2]*Закрытое акционерное общество «Центр перспективных технологий»,*
119311, г. Москва, ул. Строителей, 4-5-47

Для решения наиболее важных и сложных задач, стоящих перед современной медициной и биологией, таких как создание высокоэффективных лекарственных препаратов для лечения ряда тяжелых заболеваний или изучения влияния экспрессии генов на живые клетки, исследователям необходимо оборудование, которое позволит проводить изучение любых живых биологических объектов с нанометровым разрешением в режиме реального времени и в условиях максимально приближенных к естественным (рис. 1). Такие уникальные возможности на сегодняшний день существуют только у высокоскоростного сканирующего зондового микроскопа [1], который позволяет исследовать на нанометровом уровне биологические объекты в условиях близких к естественным в режиме реального времени [2].

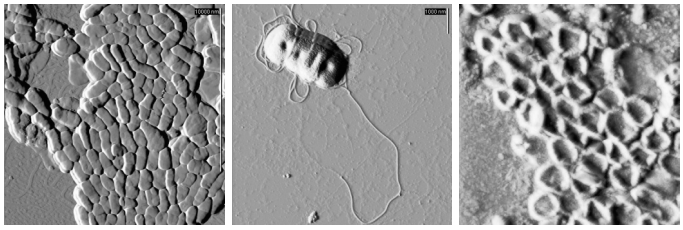


Рис. 1. Изображения бактериальных клеток, полученные с помощью СЗМ

В России развитее высокоскоростной сканирующей зондовой микроскопии проводится под руководством профессора, д.ф.-м.н. И.В. Яминского [3]. Проект по созданию высокоскоростного сканирующего зондового микроскопа получил поддержку фонда «Сколково».

1. T. Ando, "High-speed atomic force microscopy coming of age", Nanotechnology 23: 062001 (27 pp) (2012).

2. M. Shibata, T. Uchihashi, H. Yamashita, H. Kandori, and T. Ando, "Structural changes in bacteriorhodopsin in response to alternate illumination observed by high-speed atomic force microscopy", Angewande Chemie International edition 50: 4410 –4413 (2011).

3. www.nanoscopy.ru

HIGH-SPEED ATOMIC FORCE MICROSCOPY FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS

P.V. Gorelkin, I.V. Yaminskii[2]
[1]*Medical Nanotechnologies,*
119311, Russia,Moscow, Stroitelei 4-5-47
[2]*Advanced Technologies Center,*
119311, Russia,Moscow, Stroitelei 4-5-47

Solution of the most critical and complicated medicine and biology issues, i.e. developing of high-effective medications for curing some serious diseases, studying impacts of gene expression on living cells, demands for the equipment that would allow for real-time analyzing of living biological samples with nanometer resolution and in the near-natural environment . Today only high-speed atomic force microscope (HSAFM) has such unique properties which applied for biomedical researches [1]. HSAFM allows real-time analyzing of biological samples with nanometer resolution and preset parameters and in the near-natural environment [2].

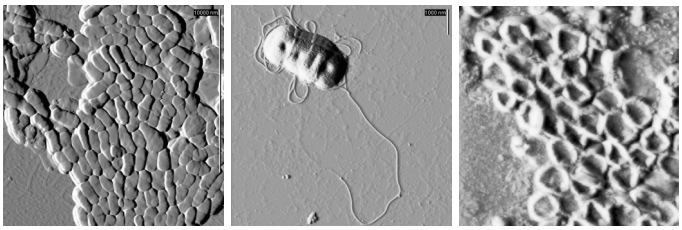


Figure 1 – Images of bacterial cells obtained with SPM

Development of HSAFM in Russia is provided by the group of scientists headed by Prof. I.V. Yaminsky. Project focused on HSAFM development was supported by Skolkovo.

1. T. Ando, “High-speed atomic force microscopy coming of age”, Nanotechnology 23: 062001 (27 pp) (2012).
2. M. Shibata, T. Uchihashi, H. Yamashita, H. Kandori, and T. Ando, “Structural changes in bacteriorhodopsin in response to alternate illumination observed by high-speed atomic force microscopy”, Angewande Chemie International edition 50: 4410 –4413 (2011).
3. www.nanoscopy.ru

ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ

Громов А.В., Бартов М.С., Соболева Л.А., Субботина М.С., Грунина Т.М., Карпова Т.А., Мишина Д.М., Никитин К.Е., Семихин А.С., Галушкина З.М., Сергиенко О.В., Карягина А.С., Лунин В.Г.
ФГБУ «НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи»
Минздравсоцразвития России,
г. Москва, РФ,123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д.18.

Костные морфогенетические белки (bone morphogenetic proteins, BMPs) являются важнейшими локальными факторами роста и регенерации костной ткани. Согласно результатам расширенной клинической апробации, остеоиндуктивность композиционных материалов, содержащих рекомбинантные rhBMP, соответствует остеоиндуктивности аутологичного костного материала или превосходит ее. Нами была разработана технология получения остеопластических материалов нового поколения «Гамалант» на основе деминерализованного костного матрикса (ДКМ) с добавлением рекомбинатных rhBMP -2 и rhBMP -7.

Биологическая активность полученных препаратов rhBMP-2 и rhBMP-7 показана в экспериментах in vitro по индукции синтеза щелочной фосфатазы в культурах эукариотических клеток C2C12 и C3H10T1/2. Оригинальная технология получения ДКМ включает биохимический контроль эффективности процессов по ряду параметров: содержание жира, кальция, фосфора, нативных BMP-2 и BMP-7, влажность, pH, стерильность. Создана широкая линейка продуктов «Гамалант»: костная крошка различных размеров, композитные материалы, мембраны и др.

Остеоиндуктивность продуктов «Гамалант» оценивали в экспериментах на крысах на модели эктопического остеогенеза и при внутрикостной имплантации. Биохимический и гистологический анализ имплантируемых биокомпозитов демонстрировал высокую биосовместимость и остеоиндуктивность .

Клинические испытания разработанных материалов «Гамалант», проведенные в ведущих клиниках РФ, свидетельствуют о высоких потребительских качествах препаратов: у пациентов отсутствовали осложнения, регенерация проходила более эффективно, чем в среднем при аналогичных операциях. На разработанные изделия медицинского назначения получены регистрационные удостоверения и сертификаты соответствия.

NEW GENERATION OSTEOPLASTIC MATERIALS

Gromov A.V., Bartov M.S., Soboleva L.A., Subbotina M.S., Grunina T.M., Karpova T.A., Mishina D.M., Nikitin K.E., Semikhin A.S., Galushkina Z.M., Sergienko O.V., Karyagina A.S., Lunin V.G.

Gamaleya Research Institute for Epidemiology and Microbiology,
Gamalei Str., 18, 123098 Moscow, Russian Federation

Bone morphogenic proteins (BMPs) are local factors essential for bone growth and regeneration. According to the results of expanded clinical testing, osteoinductivity of composite materials containing recombinant rhBMPs corresponds to that of an autologous bone graft and even exceeds it. Technology of production of the new generation osteoplastic material “Gamalant” based on demineralized bone matrix (DBM) with immobilized recombinant rhBMP-2 and rhBMP-7 was developed.

Biological activity of rhBMP-2 and rhBMP-7 was demonstrated by alkaline phosphatase assay in C2C12 and C3H10T1/2 cells. The original technology of DBM production involves biochemical control of the process efficiency by a number of parameters, that are lipid, calcium, phosphorus, native BMP-2 and BMP-7 content, humidity, pH, and sterility. A wide range of “Gamalant” products was created, including bone chips of various grain size, composite materials, and membranes.

Osteoinductivity of “Gamalant” products was evaluated in experiments on rats in a model of ectopic osteogenesis and under conditions of intrabone grafting. Biochemical and histological analysis of the implanted biocomposites demonstrated their high biocompatibility and osteoinductivity.

Clinical trials of the developed Gamalant materials performed in leading clinical centers of the Russian Federation evidenced their great performance in patients: they lacked implications and regeneration proceeded faster than it is typical of the same procedures. The developed medical products were registered and certificates of suitability were received.

НЕОБРАТИМЫЙ ХИМИЧЕСКИЙ АСМ-ФИШИНГ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ НИЗКОКОПИЙНЫХ БЕЛКОВ

Иванов Ю.Д.[1], Шумов И.Д.[1], Плешакова Т.О.[1], Крохин Н.В.[1], Широнин А.В.[1], Даничев В.В.[2], Загуменный М.Н.[2], Устинов В.С.[2], Смирнов Л.П.[2], Зиборов В.С.[3] и Арчаков А.И.[1]

[1]*Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича» Российской академии медицинских наук, Москва, 119121, ул. Погодинская, 10;*

[2]*НИЦ «Курчатовский институт», Москва, 123182, пл. Академика Курчатова, 1;*

[3]*Объединенный институт высоких температур РАН, Москва,125412, ул. Ижорская, 13 стр. 2*

Разработан метод необратимого химического АСМ-фишинга (АСМ-НФ$_{Хим}$) для детекции белков в сверхнизких концентрациях в растворе. С помощью этого метода экспериментально достигнут предел концентрационной чувствительности $DL = 10^{-17}$М при детекции белка HRP. Время, необходимое для регистрации белка в такой концентрации, составило 3 ч. Предложена теоретическая модель, описывающая процесс АСМ-НФ$_{Хим}$. Показано хорошее совпадение расчетных данных с данными экспериментов. Обсуждены пути дальнейшего повышения чувствительности метода АСМ-НФ$_{Хим}$.

IRREVERSIBLE CHEMICAL AFM-FISHING FOR THE DETECTION OF LOW-COPIED PROTEINS

Ivanov Yu.D.[1], Shumov I.D.[1], Pleshakova T.O.[1], Krokhin N.V.[1], Shironin A.V.[1], Danichev V.V.[2], Zagumenniy M.N.[2], Ustinov V.S.[2], Smirnov L.P.[2], Ziborov V.S.[3] and Archakov A.I.[1].

[1]*Orekhovich institute of biomedical chemistry of the Russian academy of medical sciences, Moscow, 119121, Pogodinskaya st., 10, Russia;*

[2]*NRC "Kurchatov institute", Moscow, 123182, Acad. Kurchatov sq., 1, Russia;*

[3]*Joint Institute for High Temperatures of Russian Academy of Sciences, Moscow,125412, Izhorskaya st., 13, bd.2., Russia*

A method of irreversible chemical AFM-fishing (AFM-IF$_{Ch}$) for the detection of proteins at ultra-low concentrations in solution is developed. At the detection of HRP protein, the concentration detection limit $DL=10^{-17}$M was experimentally achieved using this method. The time necessary for the registration of protein at this concentration was 3 h. A theoretical model describing AFM-IF$_{Ch}$ process is proposed. A good fit of theoretically proposed data to the experimental ones is shown. The prospects of further increase of the sensitivity of AFM-IF$_{Ch}$ are estimated.

ФАРМАКОКИНЕТИКА И ЭФФЕКТИВНОСТЬ L-ДОФА (ЛЕВОДОПА) В СОСТАВЕ НАНОЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ ПЛГА

Кондрашева И.Г., Найденова А.А., Заварзина В.В., Василенко Е.А., Дубовик Е.Г., Гамбарян П.Г., Черников В.А., Рябцева М.С., Воронцов Е.А., Барсегян Г.Г.
Всероссийский научный центр молекулярной диагностики и лечения
Москва, 117149, Симферопольский б-р, д.8

L-3,4-дигидроксифенилаланин (L-ДОФА, Леводопа**)** является предшественником дофамина, отвечающего за центральный механизм контроля и координации движений. Применение L-ДОФА при лечении болезни Паркинсона имеет ряд недостатков. Оптимизация метаболизма, повышение биодоступности и эффективности препарата возможны при включении его в состав наночастиц на основе сополимера поли(лактид-ко-гликолид) (ПЛГА), биодеградируемого и нетоксичного полимера. Препарат нано-L-ДОФА с 8-10% включением L-ДОФА синтезирован методом двойных эмульсий. Максимально эффективная доза при хроническом внутрижелудочном введении нано-L-ДОФА — 10 мг/кг (по L-ДОФА), обеспечивала увеличение времени плавания животных на 30% (21-й день) с сохранением эффекта после отмены препарата в течение 5 дней и не вызывала нарушений локомоторной активности и ориентации животных в пространстве. Через 1 час после введения нано-L-ДОФА (10 мг/кг) мышам, концентрация L-ДОФА в крови увеличилась до 0,84 мкг/мл, в мышце до 2,1 мкг/г и в мозге до 9,4 мкг/г, что в 3, 5,5 и 3 раза выше, чем при введении препарата сравнения L-ДОФА. Накопление L-ДОФА в сердце, почках и селезенке при этом снижалось. Суммарная концентрация L-ДОФА в плазме крови в течение 4 часов (площадь под кривой, AUC4) после введения нанопрепарата составила 17,8 мкг/мл, что в 1,5 раза выше, чем после введения L-ДОФА. По сравнению со свободным L-ДОФА показатель AUC4 возрастал в мозге на 160%, печени – на 360%, мышцах – на 39%. При этом накопление L-ДОФА в легких, почках и селезенке было ниже на 99, 90 и 86%, чем при введении свободного L-ДОФА. Таким образом, включение L-ДОФА в наночастицы позволяет изменить фармакокинетику препарата, увеличить биодоступность и накопление L-ДОФА в мозге и мышцах, что при хроническом введении способствует повышению эффективности L-ДОФА.

PHARMACOKINETICS AND EFFICIENCY OF L-DOPA (LEVODOPA) INCLUDED IN PLGA NANOPARTICLES

Kondrasheva I.G., Naydenova A.A., Zavarzina V.V., Vasilenko E.A., Dubovik E.G., Gambaryan P.G., Chernikov V.A., Ryabtseva M.S., Vorontsov E.A., Barseghyan G.G.
Research Center of Molecular Diagnostics & Therapy
117149 Moscow, Simpheropolsky blvd. 8, Russia

3,4-dihydroxy-L-phenylalanin (L-DOPA, levodopa) is a precursor of dopamine. It is responsible for the central control mechanism of coordination. The use of L-DOPA in the treatment of Parkinson's disease has several disadvantages. Optimization of metabolism, increasing bioavailability and efficacy of the drug are possible after its inclusion in nanoparticles based on poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) biodegradable and non-toxic polymer. The nano-L-DOPA in PLGA (50/50) was synthesized by the method of double emulsions. The maximum effective dose for chronic administration per os of nano-L-DOPA was 10 mg/kg. It provided the increase in swimming time of animals by 30% (day 21). The effect was maintained for 5 days. Nano-L-DOPA did not cause disturbances of locomotor activity and orientation of animals in space. In an hour after nanoparticles introduction concentration of L-DOPA in the blood increased to 0.84 μg/ml, in the muscle to 2.1 μg/g and in brain to 9.4 μg/g. This is 3, 5.5 and 3 times higher than after the free L-DOPA introduction. At the same time the accumulation of

L-DOPA in the heart, kidneys and spleen was reduced. The total concentration of L-DOPA in plasma within 4 hours (area under the curve, AUC4) after nano-L-DOPA administration was 17.8 μg/ml, what is 1.5 times higher than after administration of free L-DOPA. An AUC4 increase in brain was 160%, in liver — 360%, in muscle — 39%. At the same time the accumulation of L-DOPA in the lungs, kidneys and spleen was 99, 90 and 86% lower at, than after the introduction of free L-DOPA. Thus, the inclusion of L-DOPA in the nanoparticles can change the pharmacokinetics, bioavailability and increasing of the L-DOPA accumulation in the brain and muscle, what enhances the effectiveness of L-DOPA.

ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИНЦИПЫ ПОЛУЧЕНИЯ ЛИПОСОМНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В КЛИНИКЕ

Краснопольский Ю.М.[1], **Степанов А.Е.**[2], **Швец В.И.**[2]
[1]*НТУ «Харьковский политехнический институт»,*
[2]*Московский государственный университет тонкой химической технологии имени М.В. Ломоносова*

Создание искусственных мембран липосом (Лс) является одним из перспективных направлений современной нанобиотехнологии. Липосомальные препараты (ЛсП) обладают рядом несомненных преимуществ: защищают клетки организма от токсического действия лекарственных средств (ЛС); пролонгируют действие введенного в организм ЛС; защищают лекарственные вещества от деградации; способствуют проявлению нацеленной специфичности за счет селективного проникновения из крови в ткани, что приводит к избирательной их концентрации в зоне очага поражения; изменяют фармакокинетику ЛС, повышая их фармакологическую эффективность; позволяют создать водорастворимую форму ряда гидрофобных ЛС, увеличивая тем самым их биодоступность. В работе обсуждаются данные, полученные нами в ходе работ по созданию ЛсП и их промышленному производству. На основании обобщения результатов многолетних исследований и последующих технологических разработок предложена и реализована в производственных условиях технология получения ЛсП. В соответствии с данной схемой технология производства Лс включает следующие основные критические стадии: получение субстанции ФЛ; получение раствора лекарственной субстанции в водном или органическом растворителе; получение ФЛ пленки; непосредственное получение Лс гомогенизацией и включение лекарственного средства; отделение, при необходимости, не включенного лекарственного средства; осветляющая и стерилизующая фильтрация; розлив препарата, замораживание и лиофилизация препарата; герметизация препарата в атмосфере инертного газа; контроль готового препарата; изучение стабильности и режима хранения ЛсП. В докладе обсуждаются методы контроля и условия регидратации ЛсП. Обсуждается фармакологическая эффективность ЛсП, разработанных с использованием предлагаемой технологии. Сегодня в клинике используются ЛсП: Липин–Лс форма фосфатидилхолина (пульмонология, кардиология, нефрология и акушерство и др.), Липодокс–Лс форма доксорубицина, Лиолив–Лс форма гепатопротектора антраля, Липофлавон-Лс форма кверцетина (кардиология, онкология и офтальмологии (глазные капли). В докладе приводятся данные об эффективности лекарственных ЛсП в клинике.

TECHNOLOGICAL PRINCIPLES FOR THE DEVELOPMENT OF LIPOSOMAL DRUGS AND ITS CLINICAL USING

Krasnopolsky Yu. M.[1], **Stepanov A.E.**[2], **Shvets V.I.**[2]
[1]*National Technical University "Kharkov Polytechnic Institute",*
[2]*M.V.Lomonosov's Moscow State University of Fine Chemical Technologies*

Creation of artificial liposome membranes (Ls) is one of the promising directions of modern nanobiotechnology. Liposomal preparations (LsP) have a range of indubitable advantages: protect organism's cells from toxic effect of medicaments (M); prolong the action of M injected into the organism; protect drugs from degradation; facilitate the targeted specificity by means of selective penetration from blood to tissues that leads to their selective concentration in zone of diseased area; change pharmacokinetics of M increasing their pharmacological efficiency; make it possible to create water-soluble form of a range of hydrophobic M thereby increasing their bioavailability.

The data received in the process of creation of liposomal preparations and their industrial production are discussed in the work. On the grounds of generalization of results of long-term research and further engineering development, technology of LsP production is offered and implemented in manufacturing environments. According to this scheme technology of Ls production includes the following main critical stages: production of phospholipid substance; production of solution of medicinal substance in water or organic solvent; production of phospholipid film; direct production of Ls by homogenizing and M inclusion; separation of not included M when necessary; decolorizing and sterilization filtration; pouring of preparation; freezing and lyophilization of preparation; hermetization of preparation in blanket of inert gas; check of ready preparation; study of stability and storage mode of LsP. Control methods and rehydration conditions of Liposomal preparations are discussed in the report. Pharmacological efficiency of Liposomal preparations worked out with the use of offered technology is discussed.

Today the following LsP are used in therapy: Lipin – Ls form of phosphatidylcholine (pulmonology, cardiology, nephrology, obstetrics etc.), Lipodox – Ls form of doxorubicin, Lioliv – Ls form of hepatoprotector antral, Lipoflavon – Ls form of quercetin (cardiology, oncology, ophthalmology (eye drops). The data about the efficiency of medicinal LsP in therapy are cited in the report.

МОДИФИЦИРОВАННЫЕ КОМПОЗИЦИОННЫЕ МАТЕРИАЛЫ НА ОСНОВЕ НАНОДИСПЕРСНОГО УГЛЕРОДА ДЛЯ ИЗБИРАТЕЛЬНОЙ СОРБЦИИ ПАТОГЕННЫХ ЧАСТИЦ БЕЛКОВОЙ ПРИРОДЫ

Пьянова Л.Г.[1], **Лихолобов В.А.**[1], **Бакланова О.Н.**[1], **Седанова А.В.**[1], **Годовикова Т.С.**[2], **Кнорре Д.Г.**[2]
[1]*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки*
Институт проблем переработки углеводородов Сибирского отделения
Российской академии наук,
644040 г. Омск, ул. Нефтезаводская, 54, E-mail: medugli@rambler.ru
[2]*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки*
Институт химической биологии и фундаментальной медицины
Сибирского отделения Российской академии наук,
630090, Новосибирск, просп. Лаврентьева, 8

В настоящее время известно, что при развитии ряда заболеваний (онкологические, иммунные, инфекционные, аллергические и т.д.) в организме человека накапливаются токсические вещества различной природы, в том числе и специфические белки, провоцирующие воспаление

(патогенные белки). Полное удаление или снижение концентрации чужеродных соединений в крови больного, как правило, дает положительный клинический эффект. В связи с этим актуально создание сорбционных материалов, способных избирательно удалять из плазмы крови патогенные белки.

В Институте проблем переработки углеводородов СО РАН ранее был разработан углеродный гемосорбент ВНИИТУ-1, доклинические и клинические испытания которого продемонстрировали высокую эффективность сорбции на нем токсинов низкой и средней молекулярной массы. В рамках данного исследования на его основе был разработан биоспецифический углеродный гемосорбент, избирательно связывающий вирусные частицы гепатита В.

Известно, что в составе вируса гепатита В присутствует поверхностный антиген – HbsAg, который имеет в своей структуре рецептор, способный связывать полиальбумин. Для получения аффинного гемосорбента углеродный сорбент модифицировали путем иммобилизации на его поверхности полиальбумина. Присоединение к поверхности гемосорбента биоспецифического лиганда – полиальбумина, позволило с высокой избирательностью и эффективностью извлекать вирусные частицы из плазмы крови через взаимодействие лиганда с поверхностным антигеном вируса гепатита В.

Результаты стендовых медицинских испытаний, проведенные в Центральной научно-исследовательской лаборатории Омской государственной медицинской академии (ЦНИЛ ОмГМА, г. Омск), показали, что полученный биоспецифический углеродный сорбент снижает уровень поверхностного антигена гепатита В, уменьшает содержание вирусной ДНК в плазме крови больных гепатита В. Химическая чистота, высокая прочность и шлифованная поверхность гранул, инертность по отношению к форменным элементам крови, положительная динамика сорбции вирусных частиц обеспечивают возможность применения полученного гемосорбента для эфферентной терапии.

ПРИМЕНЕНИЕ НАНОРАЗМЕРНЫХ ВИРУСНЫХ ВЕКТОРОВ ДЛЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ МОДИФИКАЦИИ МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК ПУПОВИННОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

Соловьева В.В., Исламов Р.Р., Киясов Р.Р., Грибова И.Ю., Тутыхина И.Л., Шмаров М.М., Ризванов А.А.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия
Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия
ФГБУ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи
Минздравсоцразвития России, Москва, Россия

Современные терапевтические стратегии для лечения дегенеративных заболеваний различной природы предполагают трансплантацию клеток и доставку терапевтических генов, продукты которых сдерживают развитие патологических проявлений и стимулируют регенерацию. Эти подходы, по отдельности и в комбинации, лежат в основе генно-клеточной терапии, с которой связывают большие надежды не только для стимулирования регенерации при дегенеративных заболеваниях, но и в медицине в целом. Наиболее перспективным источником клеточного материала являются мононуклеарные клетки пуповинной крови человека (Human Umbilical Cord Blood Mononuclear cells, hUCB-MC). Основанием для применения этих клеток является их пригодность как для алло-, так и для аутотрансплантации у человека, их низкая иммуногенность, доступность, простота получения и хранения. Немаловажным фактором является и отсутствие законодательных, этических и религиозных запретов, связанных с трансплантацией эмбриональных стволовых клеток. Кроме того, в пуповинной крови присутствуют стволовые клетки, являющиеся источником многочисленных ростовых и трофических факторов и способные

давать начало специализированным клеткам разных тканей и стимулировать ангиогенез.

Одной из основных проблем применения hUCB-MC является их недостаточно высокая терапевтическая эффективность для лечения тяжелых дегенеративных заболеваний. Генетическая модификация hUCB-MC позволяет усилить экспрессию и секрецию биологически активных терапевтических факторов, а также модулировать дифференцировку клеток в различных направлениях. В настоящее время перспективным в клиническом применении считаются наноразмерные вирусные векторы. К таким векторам относятся репликационно-дефектные аденовирусы, представляющие собой безоболочечные вирионы с двуцепочечной ДНК размером около 70-90 нм. Эти вирусы не способны интегрировать в геном клетки-хозяина и вызывать её онкологическую трансформацию. В то же время аденовирусы способны обеспечивать эффективную экспрессию трансгенов в течение как минимум 4-5 недель. В докладе приводится опыт генетической модификации hUCB-MC с помощью рекомбинантных аденовирусов, кодирующих ген репортерного зелёного флуоресцентного белка *egfp* или сосудистого эндотелиального фактора роста человека *vegf121,* для трансплантации трансгенным мышам с фенотипом бокового амиотрофического склероза.

ЧИСТОЕ ЖЕЛЕЗО КАК БИОМАТЕРИАЛ ДЛЯ ДЕГРАДИРУЕМЫХ СТЕНТОВ: ИЗУЧЕНИЕ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ КЛЕТОК

[1]Тавакалян Н.Б., [2]Оганесян А.Н., [3]Овсепян М.Р., [3]Оганесян М.Г., [3]Бояджян А.С., [4]Pompella A.
[1]*Ереванский НИИ «Пластполимер»,*
Аршакуняц 127, Ереван 0007, Армения
[2]*Центр радиационной медицины и ожогов,*
Давидашен п/я 25, Ереван 0054, Армения
[3]*Институт Молекулярной Биологии НАН РА,*
ул. Асратяна 7, 0014, Ереван, Армения
[4]*Department of Experimental Pathology & BMIE,*
University of Pisa Medical School, Via Roma 55, 56126 Pisa, Italy

Чистое железо представляет большой интерес для биодеградируемых сердечно-сосудистых стентов из-за биосовместимости и важности данного элемента в организме человека. In vitro исследования показали, что высокая скорость коррозии чистого железа, выделяющего в среду избыток ионов Fe^{2+}, увеличивает цитотоксичность. С другой стороны, уменьшение темпа роста клеток под влиянием продуктов деградации железного стента должно иметь благоприятное воздействие на контроль пролиферации неоинтимы после стентирования. Поэтому для создания биодеградируемого сердечно-сосудистото стента, в настоящее время ведется поиск железа с умеренной и однородной деградацией.

В данной работе показано, что нанесение биосовместимого полимерного покрытия на поверхность чистого железа, дает возможность регулировать скорость деградации и влияет на число выживаемых клеток.

Методы: Цитотоксичность образцов из чистого железа и нержавеющей стали было изучено визуально, а также МТТ-тестом. Тестирование было проведено на клеточных линиях Hep2, HELA и RD. Образцы были помещены в непрямой контакт с клеточным монослоем и инкубированы 24ч и 48ч при 37°C. После инкубации клетки были изучены под микроскопом, и был проведен МТТ-тест.

Результаты: Железные образцы с полимерными покрытиями 17К и 18К, и образцы из нержавеющей стали не обладали цитотоксичностью.

Работа выполнена в рамках проекта МНТЦ А-1841

PURE IRON AS A BIOMATERIAL FOR DEGRADABLE STENTS: CELL VIABILITY STUDIES

Tavakalyan N.B.[1], **Hovhannesyan A.N.**[2], **Hovsepyan M.R.**[3], **Hovhannisyan M.G.**[3], **Boyajyan A.S.**[3], **Pompella A.**[4]

[1]*Yerevan "Plastpolymer" Institute,*
127 Arshakunyats Av., Yerevan, 0007, Armenia
[2]*Scientific Center for Radiation Medicine and Burns,*
P.O. Box 25, 0054 Yerevan, Armenia
[3]*Institute of Molecular Biology NAS RA,*
7 Asaturyan, 0014 Yerevan, Armenia
[4]*Department of Experimental Pathology & BMIE,*
University of Pisa Medical School, Via Roma 55, 56126 Pisa, Italy

Pure iron is a very promising material of interest for degradable cardiovascular stents, due to its biocorrodible properties and biological role as an essential element for human body. In vitro tests show that rapid corrosion of pure iron, which releases an excess of Fe^{2+} ions into the culture medium increases cytotoxicity. On the other hand, decreased rate of cell growth under the effect of iron stent degradation products could have a beneficial effect in the control of neointimal proliferation after stent implantation. Therefore, currently the search for iron of moderate and homogenous degradation is actual for development of biodegradable iron cardiovascular stents.

The present research demonstrated that application of biocompatible polymer covering to the surface of pure iron allows regulation of degradation rate and produces effects to the number of survived cells.

Methods: Cytotoxicity of pure iron and stainless steel (SS) specimen was evaluated both visually and by MTT cytotoxicity test. Hep2, HELA and RD cell lines were used for the tests. Indirect contact of specimens with cells was assured. Specimens were incubated with cells at 37°C, for 24 and 48hours. After incubation cells were screened under microscope and MTT assay was performed.

Results: The pure iron samples with polymer coverings 17K and 18K and SS samples were not cytotoxic to cells.

This work was supported by ISTC A-1841 Project

ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ, СОЗДАВАЕМЫЕ НА ПРИНЦИПАХ САМОСБОРКИ

Ткачук А.П., Аксёнова Е.А., Шарапова Н.Е., Лящук А.М., Семихин А.С., Галушкина З.М., Сергиенко О.В., Карягина А.С., Лунин В.Г.

ФГБУ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи Минздравсоцразвития России, 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, дом 18

Разработка вакцин нового поколения против особо опасных и социально-значимых инфекций является важнейшей целью практической медицины.

Для создания подобных препаратов одной из наиболее важных задач является эффективная презентация всех компонентов вакцины иммунокомпетентным клеткам, подобно тому, как это происходит при инфекции. В основе решения этой задачи лежит инновационный подход, разработанный в НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, который базируется на принципе самосборки – одном из основных принципов нанотехнологии. В качестве матриц для самосборки субъединичных генно-инженерных (СГИ) вакцин было предложено использовать полисахаридные наночастицы.

В рамках работы по созданию универсальной платформы для конструирования СГИ нановакцин была получена вакцина для профилактики туберкулеза. Получены рекомбинантные микобактериальные антигены, соединенные с аффинными доменами, иммобилизованные на полисахаридных матрицах. Исследованы их иммуногенные и биохимические свойства, показана эффективность их использования в качестве антигенного компонента кандидатной противотуберкулезной вакцины. Отобран полисахарид с оптимальными свойствами – декстран-500.

В настоящее время исследуется возможность использования молекулярных адъювантов различной природы для усиления иммунного ответа и его поляризации – CpG ODN, MPL A, LAM. Использование таких молекулярных адъювантов позволит добиться не только направленной индукции развития тех иммунных реакций, которые необходимы для формирования максимально эффективной защиты организма против того или иного патогена, но и максимально снизить возможные побочные эффекты, которые могут привносить традиционные адъюванты.

Разработанная схема получения СГИ вакцины для профилактики туберкулеза универсальна и может использоваться в качестве технологической платформы для создания разнообразных вакцин. Иммунизация такими кандидатными вакцинами обеспечит индукцию синтеза соответствующих цитокинов, формирование эффективного иммунного ответа нужного типа, а простота очистки антигенов и формулирования готового препарата делают процесс получения вакцин экономически целесообразным.

DEVELOPMENT OF SELF-ASSEMBLY IMMUNOBIOLOGICAL PREPARATIONS

Tkachuk A.P., Aksenova E.A., Sharapova N.E., Lyashchuk A.M., Semikhin A.S., Galushkina Z.M., Sergienko O.V., Karyagina A.S., Lunin V.G.

Gamaleya Research Institute of Epidemiology and Microbiology,
123098 Moscow Gamaleya st., 18

Development of the new generation vaccines against high-risk and socially significant diseases is a very important to practical medicine. One of the most important tasks is the effective presentation of all components of the vaccine to the immunocompetent cells, the way it occurs during infection. This problem is effectively addressed by an innovative approach developed at the «NIIEM N.F.Gamaleya», which is based on the principle of self-assembly — one of the basic principles of nanotechnology. Polysaccharide nanoparticles have been proposed as a template for the self-assembly of genetically engineered subunit (GES) vaccines.

As a result of the development of a universal platform for the construction of GES nanovaccines a new vaccine for the prevention of tuberculosis was developed. Recombinant mycobacterial antigens fused with the affine domains immobilized on polysaccharide matrices were obtained. It's immunogenic and biochemical properties were investigated. The efficiency of it use as an antigenic component of candidate TB vaccine was demonstrated. Dextran-500 appeared to be the polysaccharide with optimal properties.

At present, we are investigating the possibility of the use of molecular adjuvants of different nature to enhance the immune response and its polarization — CpG ODN, MPL A, LAM. Using of such molecular adjuvants will result not only in the directed induction of those immune responses that are necessary to form the most effective defense against a particular pathogen, but also to minimize possible side effects that can be introduced by traditional adjuvants.

The scheme of obtaining GES vaccine to prevent tuberculosis is universal and can be used as a technological platform for the development of a variety of subunit vaccines. Immunization with these candidate vaccines will induce the synthesis of cytokines and the formation of an effective immune

response. Easiness of purification of antigens and the formulation of the vaccine makes the obtaining of immunobiological preparation cost-effective.

ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ НАНОТЕХНОЛОГИЙ И ПРОДУКЦИИ НАНОИНДУСТРИИ

Тутельян В.А., Хотимченко С.А., Гмошинский И.В.
ФГБУ НИИ питания РАМН,
109240, г. Москва, Устьинский проезд д.2/14

Наночастицы (НЧ) и наноматериалы (НМ) рассматриваются в настоящее время как принципиально новый фактор, воздействующий на здоровье человека. В соответствии с «Концепцией токсикологических исследований, методологии оценки риска, методов идентификации и количественного определения наноматериалов», утверждённой постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 31 октября 2007 г. № 79, НМ должны быть отнесены к таким видам материалов и продукции, оценка безопасности которых для здоровья человека и состояния окружающей среды является обязательной. В числе НЧ/НМ, способных оказать неблагоприятное воздействие на здоровье человека и природные экосистемы, рассматриваются производимые в промышленных масштабах НЧ серебра, диоксида титана, кварца, оксида алюминия, углеродные нанотрубки, фуллерены, «квантовые точки» и некоторые другие. На протяжении 2008-2011 гг. в рамках Федеральной целевой программы «Развитие инфраструктуры наноиндустрии в Российской Федерации на 2008-2011 годы» группой учреждений РАН, РАМН, Минобрнауки, Минздравсоцразвития, Роспотребнадзора, МГУ им. М.В.Ломоносова, НИЦ «Курчатовский институт» и другими была разработана система нормативно — методических документов в области контроля безопасности нанотехнологий и НМ. Рассматриваемая нормативно-методическая база включает документы, определяющие методы выявления, идентификации и количественного выявления НЧ/НМ в объектах окружающей среды (воздух, вода, почвы, донные отложения, растительный покров, организмы водных и сухопутных животных) и продукции (парфюмерия и косметика, дезинфицирующие средства, сельскохозяйственное сырьё, упаковочные материалы, БАД к пище, пищевые продукты, пищевые добавки и т.д.), токсиколого-гигиеническую и медико-биологическую оценку безопасности НМ, контроль НМ/НЧ в объектах окружающей среды и продукции, отбор проб, содержащих НЧ/НМ, оценку рисков. Разработанная система методов позволяет в настоящее время перейти к решению задачи по оценке безопасности, контроля и надзора за создаваемыми НЧ и НМ искусственного происхождения.

ESTIMATION OF NANOTECHNOLOGIES AND NANOPARTICLES SAFETY

Tutelyan V.A., Khotimchenko S.A., Gmoshinski I.V.
FSBI Institute of nutrition RAMS,
109240, Moscow, Ust'inski proezd 2/14

Nanoparticles (NP) and nanomaterials (NM) are considered now as a fundamentally new factor affecting human health. According to "Conception of toxicological study, risk evaluation, identification and quantitative determination of nanomaterials" approved by Chief sanitary inspector of Russian Federation at October 31, 2007 NM must be refered to such kind of materials and production that must be examined in accordance with their safety to human health and environment without fail. Among NP/NM capable to exert unfavorable effect on human body and ecological systems there are NP of silver, titanium dioxide, quartz, aluminum oxide, carbon nanotubes, fullerens, quantum dots and some

other NM being manufactured on industrial scale. During 2008-2011 there was developed a system of normative methodic documents in the context of Federal target program "Development of nanoindustry infrastructure in Russian Federation for 2008-2010" by group of institutions of RAS, RAMS, Ministry of Education and Science, Ministry of Health and Social Development, Federal Service for Surveillance of Consumer Rights Protection and Human Well-Being of the Russian Federation, Moscow State university, National research centre "Kurchatov institute" assigned to control of NM and NP. The system described includes documents that establish methods of detection and identification of NM/NP in environmental objects (air, water, soil, bottom sediments, growth, plants, water and land animals) and production (perfume and cosmetics, disinfectants, agricultural raw materials, package materials, foods, food supplements and additives), toxicological-sanitary and medical-biological evaluation of NM safety, NM/NP control in environmental objects and production, NM sampling, risk estimation. The system that had been developed enabled today to solve the problems of safety ensuring, control and supervision of engineered NP and NM.

PURE INSULIN MICROBEADS FOR PULMONARY DELIVERY

Dmitry Volodkin[1], **Stephan Schmidt**[1], **Katja Uhlig**[1], **Helmuth Mohwald**[2], **Regine von Klitzing**[3], **Claus Duschl**[1]

[1]*Fraunhofer Institute of Biomedical Technique (IBMT), Am Mühlenberg 13, 14476 Golm, Germany*

[2]*Max-Planck-Institut of Colloids and Interfaces (MPI KG), Am Mühlenberg 1, 14476 Golm, Germany*

[3]*Technical University Berlin (TUB), Strasse des 17. Juni 124, 10623 Berlin, Germany*

Abstract

Formulation of therapeutic proteins into particulate forms is a main strategy for site-specific and prolonged protein delivery as well as for protection against degradation. Precise control over protein particle size, dispersity, and shape is extremely challenging to achieve this strategy. Mild preparation conditions, purity, and minimal processing steps are also highly desirable. It is, however, hard to fit all these criteria with conventional techniques to produce microparticulate protein formulations. Here we report new approach — hard-templating synthesis at soft conditions to fabricate monodisperse pure protein microbeads with adjusted diameter. A number of different proteins such as insulin, catalase, etc have been tested. The method is based on pH-mediated removal of porous $CaCO_3$ microparticles filled with isoelectrically precipitated protein. pH is a single trigger with a double function: formulation of protein insoluble matrix and template decomposition. The main requirement is an overlap of the solid template stability and protein insolubility as well as solubility for a certain parameter (here pH or EDTA) and a remaining protein insolubility upon template decomposition. Additional protein crosslinking upon protein infiltration into the carbonate templates is considered to improve particle stability in terms of mechanical properties and release characteristics. The mechanism of the microbeads formation, internal structure, mechanical properties, protein release as well as some aspects of pulmonary delivery and *in vivo* study are addressed. The approach provides a simple way to assemble protein microparticles with tuned size, release profile, and mechanical properties.

Volodkin, D.V. et al. Angew. Chem. Int. Ed. 2010, 122, 9444.

Volodkin, D.V. et al. Adv. Funct. Mater., 2012, DOI 10.1002/adfm.201103007.

ПОСТЕРЫ
POSTERS

МАГНИТНЫЕ БИОСОВМЕСТИМЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ ОКСИДА ЖЕЛЕЗА ДЛЯ МРТ-ДИАГНОСТИКИ

Абакумов М.А.[1], **Сандалова Т.О.**[1], **Нуколова Н.В.**[2], **Юсубалиева Г.М.**[2], **Гриненко Н.Ф.**[2], **Баклаушев В.П.**[1.2], **Вишвасрао Х.**[3], **Сокольски-Папков М.**[3], **Кабанов А.В.**[3,4], **Чехонин В.П.**[1,2]

[1]*Российский государственный медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Кафедра и Отдел медицинских нанобиотехнологий, Москва, Россия*

[2]*ФГУ «Государственный научный центр социальной и судебной психиатрии им. В.П. Сербского» Росздрава Отдел фундаментальной и прикладной нейробиологии, Москва, Россия*

[3]*Центр Доставки Лекарств и Наномедицины, Медицинский Центр Университета Небраски, Омаха США*

[4]*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Химический факультет, кафедра химической энзимологии, Москва, Россия*

Суперпарамагнитные наночастицы оксида железа (МНЧ) применяются для решения разнообразных задач молекулярной и клеточной биологии, связанных с детекцией и разделением биологических объектов в магнитном поле. Целью данной работы являлось получение коллоидных водных растворов наночастиц оксида железа, стабилизированных различными покрытиями на основе биосовместимых полимеров, а также их физико-химическая характеристика. Синтез наночастиц проводили разложением термически нестабильных металлорганических соединений железа в органических растворителях. Размер полученных нанокристаллов по данным просвечивающей электронной микроскопии составил 12±3 нм. В качестве биодеградируемых покрытий использовались блок-сополимеры полиаспарагиновой и полиглютаминовой кислоты с полиэтиленгликолем, а также белки, в частности бычий сывороточный альбумин. Размер и дзета-потенциал наночастиц в полученных водных суспензиях зависели от типа покрытия и варьировали от 30 до 60 нм и от 25 до 45 мВ соответственно. Токсическое действие полученных наночастиц по данным МТТ-теста не наблюдалось вплоть до концентрации 1 мг/мл. Измерения релаксивности показали высокие значения вплоть до 4500 мл/(мг/с$^{-1}$). Частицы, покрытые БСА, были конъюгированы с антителами к опухоль-специфичному белку конексину 43. Также было обнаружено специфическое взаимодействие векторных наночастиц с клетками глиомы С6 (Рисунок 1) Таким образом, были получены низко токсичные, биосовместимые наночастицы оксида железа, специфично взаимодействующие с опухолевыми клетками пригодные для использования в качестве МРТ контрастного агента.

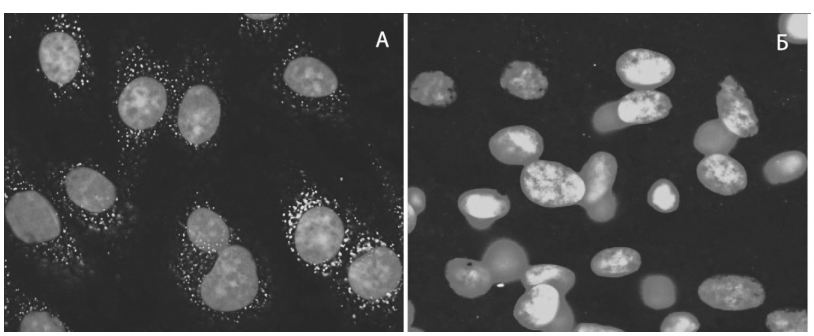


Рисунок 1. Иммунофлюоресцентный анализ наночастиц оксида железа, конъюгированных с моноклональными антителами к Cx43 (А) и с неспецифическими иммуноглобулинами мыши (Б) на фиксированной культуре клеток глиомы С6. Увеличение ×1000, масляная иммерсия.

MAGNETIC BIOCOMPATIBLE IRON OXIDE NANOPARTICLES FOR MRI-DIAGNOSTICS

Abakumov M.A.[1], **Sandalova T.O.**[1], **Nukolova N.V.**[2],**Yusubalieva G.M.**[2], **Grinenko N.F.**[2], **Baklaushev V.P.**[1,2], **Vishvasrao H.**[3], **Sokolsky-Papkov M.**[3], **Kabanov A.V.**[3,4], **Chekhonin V.P.**[1,2]

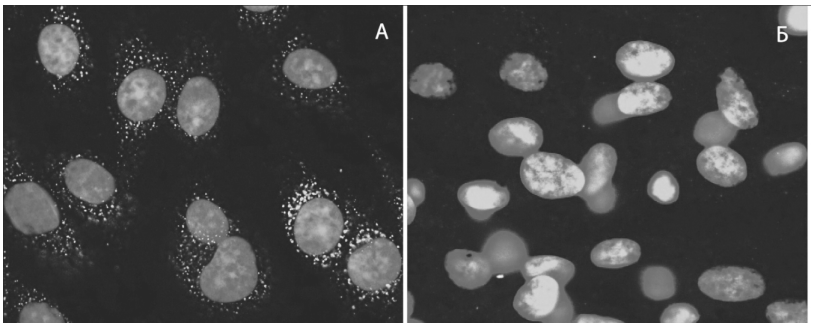
[1]*Russian State Medical University, Chair of medical nanobiotechnology, Moscow, Russia,*

[2]*Center for Social and Forensic Psichiatry, Department of fundamential and applied neirobiology, Moscow, Russia,*

[3]*Center for Drug Delivery and Nanomedicine, Medical Center of University of Nebraska, Nebraska, Omaha,*

[4]*Moscow State University, Department of Chemistry, Chair of Chemical Enzimology, Moscow, Russia*

Superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPION) have many applications in molecular and cell biology, such as detection and separation of biological objects. The aim of the study was to obtain stable water colloidal solution of iron oxide nanoparticles, coated with biocompatible polymers and investigate their physical and chemical properties. Synthesis of nanoparticles was made from thermally unstable metallorganic compounds of iron in organic solvents. The size of obtained nanocrystallswas determined by transmission electron microscopy and was 12±3 nm. As biodegradable coating agents block-copolymers of polyaspartic acid and polyglutamic acid with polyetheleneglycol and bovine serum albuminwere used. Size and ζ-potential of nanoparticles were varied from 30 to 60 nm and from 25 to 45 mV respectivly, depending on type of coating. MTT-assay showed no significant cytotoxicity on cell cultures at concentrations of iron up to 1 mg/ml. T2 relaxivity of obtained colloidal solutions was 4500 ml/(mg/s^{-1}). BSA coated nanoparticles were conjugated with an antibodies to brain tumor specific antigen connexin 43. Specific interactions of vectorized nanoparticles with glioma C6 cell line was shown (Picture 1.). Taken together these data confirm that biocompatible iron oxide nanoparticles, with low cytotoxicity, and high affinity to brain tumor cells suitable as an MRI contrast agent were obtained.



Picture 1. Immunoflourescent analysis of iron oxide nanoparticles conjugated with monoclonal anti-Cx43 antibodies (A) and with non-specific mouse immunoglobulin (B) on fixed glioma C6 cell line. Magnification ×1000, oil immersion.

ВЛИЯНИЕ ФОСФОЛИПИДОВ НА НИТРИТ ВОССТАНАВЛИВАЮЩУЮ АКТИВНОСТЬ КСАНТИНОКСИДАЗЫ В МОЛОКЕ

Алтайулы С., Аликулов З.
Евразийский национальный университет им. Л.Н.Гумилева,
010008 Астана, Казахстан
sagimbek@mail.ru

Резюме. Очищенная и тканевая ксантиноксидаза (КО) катализирует восстановление нитрата и нитрита до оксида азота (NO), который является физиологически полезным газом. Высокая концентрация КО содержится в жировых глобулах ткани вымя животных. Связывание КО с жировыми глобулами сильно снижает ее ферментативную активность. Установлено, что присутствие фосфолипидов почти в 100 раз повышает нитритредуктазную активность КО коровьего молока. Восстановление нитрита и образование NO, катализируемые КО в присутствии фосфолипидов могут играть важную роль в детоксификации нитратов и нитритов молока животных, включая человеческого.

Ключевые слова: ксантиноксидаза, оксид азота, нитрат и нитрит, восстановление нитрита, фосфолипиды, жировые глобулы.

Фосфолипиды играют важную роль в переваривании жиров. Процесс эмульсификации жировых глобул детергентными свойствами фосфолипидов в кишечнике приводит к разрушению глобул до смешанных мицелл. Гидрофобная часть (жирные кислоты) фосфолипидов проникает внутрь гидрофобных глобул жиров, а гидрофильные полярные головные группы взаимодействуют с окружающей водой. Образование маленьких мицелл из больших жировых глобул сильно повышает поверхностную площадь, на которых действуют гидролитические липазы в кишечнике.

В настоящее время в метаболизме лекарств и чужеродных веществ внимание обращается на молибденсодержащие ферменты (молибдоферменты), такие как ксантиноксидаза (КО) и альдегидоксидаза (АО). Мембранно связанные микросомальные монооксигеназы и цитозольные молибдоферменты играют важную роль в окислении ароматических соединений. Однако присутствие одного или более атомов азота в ароматическом кольце делает гетероциклические соединения более доступными для окисления молибдоферментами. Более того, было установлено, что очищенная и тканевая ксантиноксидаза (КО) катализирует восстановление нитрата и нитрита до оксида азота (газообразный NO). Этот газ участвуют во многих физиологических процессах, включающих вазолидацию, ингибирования агрегацию тромб, нейротрансмиссию и цитотоксичекие защитные механизмы клеток. Синтезы NO являются результатом окисления L-аргинина семейством NO-синтетаз, однако образование NO этими ферментами сильно подавляется в условиях гипоксии. Образование NO ксантинокисдазой требует НАДН в качестве донора электронов и эта реакция не зависима от кислорода.

Установлено, что нитраты в живых организмах легко превращаются в нитриты. При связывании нитрита с гемоглобином, последний превращается в метгемоглобин, который теряет способность переносить кислород. Нитрит вступая в реакцию с первичными аминами, превращает их в нитрозмины, которые являются сильными канцерогенами. Таким образом, присутствие нитратов и нитритов очень важно для здоровья младенцев.

Уровни КО выше в печени млекопитающих. КО присутствует в молокообразующей ткани вымени и концентрирована в 1000 раз в жировых глобулах молока. Установлено, что активность КО, связанная с жировыми глобулами, сильно снижается в отношении ксантина. Поэтому, нами были изучены эффекты действия фосфолипидов в отношении нитритредуктазной активности КО молока. Контрольные и обработанные фосфолипидами образцы молока были инкубированы с нитритом в присутствии НАДН в условиях гипоксии и затем определен накопленный

газообразный NO. Мы установили, что добавление фосфолипидов приводит к 100-кратному повышению образования NO. Обработка фосфолипидами молока включает активность КО, использующую преимущественно нитрит в качестве субстрата. Таким образом, восстановление нитрита и образование NO в присутствии фосфолипидов играет важную роль в детоксификации нитратов и нитритов в молоке животных, включая человека.

Использованная литература

1. Bishop W.R., Bell R.M.1988. Assembly of phospholipids into cellular membranes: biosynthesis, transmembrane movement and intracellular translocation. Annu. Rev. Cell Biol. 4: 579-610.

2. Raetz C.R.H., Dowhan W. 1990. Biosynthesis and function of phospholipids in Esherichiacoli. J. Biol. Chem. 265: 1235-1238.

3. Dowhan W. 1997. Molecular basis for membrane phospholipids diversity: why are there so many lipids? Annu. Rev. Biochem. 66: 199-232.

4. Dobrosotskaya Y. 2002. Regulation of SREBP processing and membrane lipid production by phospholipids in Drosophila. Science 296 (5569): 879-883.

5. Zhang Z., Naughton D., Winjard P.G., Benjamin N., Blake D.R., Symons V. 1998. Generation of nitric oxide by nitrate reductase activity of xanthine oxidase: a potential pathway for nitric oxide formation in the absence of nitric oxide synthase activity. Bioch. Biophys. Res. Comm. 249: 767-772.

6. Millar T.M., Stevens C.R., Benjamin N., Eisenthal R., Harrison R., Blake D.R.1998. Xanthine oxidoreductase catalyzes the reduction of nitrates and nitrite to nitric oxide under hypoxic conditions. FEBS Letters. 427: 225-228.

EFFECT OF PHOSPHOLIPIDS RESTORES THE ACTIVITY OF XANTHINE OXIDASE NITRITE IN MILK

Altaiuly S., Alikulov Z.
The L.N.Gumilev Eurasian National University,
010008 Astana, Kazakhstan
sagimbek@mail.ru

Abstract. Both purified and tissue containing xanthine oxidase XO catalyze the reduction of nitrate and nitrite to nitric oxide (NO), a physiological beneficial gas. High concentration of XO is present in lactating mammary tissue in milk fat globules. XO binding to fat globules strongly reduces its enzyme activity. It was found that in presence of phospholipids the nitrite reductase activity of bovine milk XO increased approximately 100-fold. XO-catalyzed reduction of nitrite and generation of NO in the presence of phospholipids may be important in detoxification of nitrate and nitrite in animal milk including that of human.

Key words: Xanthine oxidase, nitric oxide, nitrate and nitrite, nitrite reduction, phospholipids, fat globules.

Phospholipids play an important role in digestion of fat. The process of emulsification of

hydrophobic fat globules by the detergent action of phospholipids in the gut breaks the globules down to mixed micelles. The hydrophobic moieties (fatty acid chain) of phospholipids are inserted into the hydrophobic fat globules and the hydrophilic polar head groups interact with and face the water. The formation of small micelles from large fat globules greatly increases the surface area available for the action of hydrolytic lipases in the gut.

At present most the attention to date in metabolism of drugs and foreign compounds has been focused on the molybdenum containing enzymes (molybdoenzymes) such as xanthine oxidase (XO) and aldehyde oxidase (AO). Membrane bound microsomal monooxygenases and cytosolic

molybdoenzymes play an important role in the oxidation of aromatic compounds. However, the presence of the one or more nitrogen atoms in the aromatic ring makes heterocyclic compounds more susceptible to oxidation via a molybdoenzymes. Furthermore, it was found that both purified and tissue containing XO catalyze the reduction of nitrate and nitrite to nitric oxide (gaseous NO). This gas is involved in many physiological and pathological processes, including vasolidation, inhibition of platelet aggregation, neurotransmission and cytotoxic host defense mechanisms. NO synthesis is now well-known to result from oxidation of L-arginine by a family of NO-synthases, however, NO production by NO-synthase diminished greatly under hypoxic conditions. NO production by XO requires NADH as an electron donor, and this reaction is oxygen independent.

It was well established that nitrate in living organisms may be readily converted to nitrite. Nitrite binding to hemoglobin converts it to methemoglobin which becomes unable to transport of oxygen. Nitrite reacting with primary amines forms nitrosamines which are recognized as strong carcinogens. Thus, the presence of nitrate and nitrite is very important for baby health.

Levels of XO are high in mammalian liver. XO is present in lactating mammary tissue and concentrated 1000-fold in bovine milk lipid globules. It was found that XO binding to fat globules strongly reduces its affinity toward xanthine. Therefore, we investigated the effects of phospholipid action in terms of the nitrite reductase activity of milk XO. Control and phospholipid-treated milk samples were incubated with nitrite in the presence of NADH under hypoxic conditions and accumulated gaseous NO was then determined. We found that the addition of phospholipids caused an approximately 100–fold elevation of NO production. Our results suggest that phospholipid treatment may mediate a "switch" in the activity of XO to a predominance of NO production using nitrite as substrate. Thus, the XO-catalyzed reduction of nitrite and generation of NO in the presence of phospholipids may be important in detoxification of nitrate and nitrite in milk including that of human.

REFERENCES

1. Bishop W.R., BellR. M. 1988. Assembly of phospholipids into cellular membranes: biosynthesis, transmembrane movement and intracellular translocation. Annu.Rev.Cell Biol. 4: 579-610.

2. Raetz C.R.H., Dowhan W. 1990. Biosynthesis and function of phospholipids in Esherichiacoli. J. Biol. Chem. 265: 1235-1238.

3. Dowhan W. 1997. Molecular basis for membrane phospholipids diversity: why are there so many lipids? Annu.Rev.Biochem. 66: 199-232.

4. Dobrosotskaya Y. 2002. Regulation of SREBP processing and membrane lipid production by phospholipids in Drosophila. Science 296 (5569): 879-883.

5. Zhang Z., Naughton D., Winjard P.G., Benjamin N., Blake D.R., Symons V. 1998. Generation of nitric oxide by nitrate reductase activity of xanthine oxidase: a potential pathway for nitric oxide formation in the absence of nitric oxide synthase activity. Bioch. Biophys. Res. Comm. 249: 767-772.

6. Millar T.M., Stevens C.R., Benjamin N., Eisenthal R., Harrison R., Blake D.R.1998. Xanthine oxidoreductase catalyzes the reduction of nitrates and nitrite to nitric oxide under hypoxic conditions. FEBS Letters. 427: 225-228

МОДИФИЦИРОВАННЫЕ МУЛЬТИВАЛЕНТНЫЕ НЕОГЛИКОКОНЪЮГАТЫ ШИРОКОГО СПЕКТРА ДЕЙСТВИЯ НА ОСНОВЕ D-ГАЛАКТОЗЫ И D-МАННОЗЫ

Большебородова А.К., Курочкина Н.А, Ильин А.А., Себякин Ю.Л.
Московская государственный университет тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова
119571, г. Москва, пр-т Вернадского, д.86

В процессах межклеточного узнавания и внутриклеточного переноса биологически активных веществ важную роль играют углеводсодержащие соединения. Эти структуры используются при конструировании транспортных систем направленного действия, благодаря избирательному распознаванию гликозильных фрагментов рецепторами на поверхности клеток.

Кроме того, некоторые углеводные производные могут выступать в качестве ингибиторов взаимодействия патогенных бактерий с гликопротеинами наружной мембраны клеток, блокируя участки связывания в структуре патогенов. Есть много возможностей использовать клинический потенциал антиадгезивных агентов для лечения и профилактики инфекционных заболеваний.

В рамках данной работы были синтезирован ряд мультивалентых углеводсодержащих производных на основе D-галактозы и D-маннозы. Благодаря различиям в структуре и свойствах данных соединений, обеспечивается широкий спектр их возможного применения. Они могут использоваться для изучения различных видов углевод-белковых взаимодействий, модификации липосом и придания им направленного действия, а также для создания новых антибактериальных средств.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 11-04-01618).

MODIFIED MULTIVALENT NEOGLYCOCONJUGATES FOR NUMEROUS SCIENTIFIC APPLICATIONS ON THE BASIS OF D-GALACTOSE AND D-MANNOSE

Bolsheborodova A.K., Kurochkina N.A., Ilin A.A., Sebyakin J.L.
Moscow State University of Fine Chemical Technologies Named after M.V. Lomonosov
119571, Moscow, Vernadsky pr., 86

Carbohydrate containing compounds are played an important role during intercellular recognition and endocellular transport of biologically active substances. These structures are used for creation transport delivery systems due to selective recognition of glycofragments by cell surface receptors.

In addition, some carbohydrate derivatives can represent itself as inhibitors of pathogenic bacterial interaction with glycoproteins of external cell membrane, by blocking linkage sites in pathogens structure.

In given work a number of carbohydrate containing derivatives on the basis of D-galactose and D-mannose was synthesized. Numerous areas of possible applications is provided by distinctions in architecture and properties of represented substances. They can be used to study different types of carbohydrate-protein interactions, modification and targeting of liposomes, as well as for the creation of new antibacterial agents.

This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research (Grant № 11-04-01618).

СОЗДАНИЕ БИОСОВМЕСТИМЫХ МАГНИТОУПРАВЛЯЕМЫХ НАНОСИСТЕМ ДЛЯ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Бычкова А.В., Розенфельд М.А., Леонова В.Б., Сорокина О.Н., Коварский А.Л.
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук,
119334, Москва, ул. Косыгина, д. 4

Перспективным направлением нанобиотехнологии является конструирование магнитоуправляемых наносистем для векторной доставки лекарственных препаратов к клеткам-мишеням [1]. Задача создания таких наносистем успешно решена с применением принципиально нового метода получения устойчивых однослойных белковых покрытий [2]. Метод основан на способности белков образовывать межцепочечные ковалентные связи под действием свободных радикалов, которые генерируются локально на поверхностях наночастиц. Совокупностью физико-химических и биохимических методов было доказано, что свободнорадикальное сшивание белков позволяет получать устойчивые однослойные белковые покрытия с толщиной в несколько нм на поверхности индивидуальных магнитных наночастиц, а свободнорадикальные процессы протекают исключительно в адсорбционном слое. Было продемонстрировано, что свободнорадикальное сшивание молекул белка на наночастицах практически полностью сохраняет его нативные свойства. Метод свободнорадикального сшивания раскрывает возможности конструирования однослойных мультибелковых полифункциональных покрытий на любых поверхностях, содержащих ионы металлов переменной валентности (например, железа, меди, хрома), для решения широкого спектра биомедицинских задач, связанных с векторной доставкой лекарственных и биологически активных веществ.

[1]. Бычкова А.В., Сорокина О.Н., Розенфельд М.А., Коварский А.Л.Многофункциональные биосовместимые покрытия на магнитных наночастицах. Успехи Химии. 2012 (в печати).

[2]. Розенфельд М.А., Бычкова А.В., Сорокина О.Н., Коварский А.Л., Леонова В.Б., Ломакин С.М., Макаров Г.Г. Способ получения белковых покрытий на поверхностях твердых тел, содержащих ионы металлов переменной валентности. Заявка на получение патента РФ № 2011136972, приоритет от 08.09.2011.

THE CREATION OF BIOCOMPATIBLE MAGNETICALLY TARGETED NANOSYSTEMS FOR A SMART DELIVERY OF THERAPEUTIC PRODUCTS

A.V. Bychkova, M.A. Rosenfeld, V.B. Leonova, O.N. Sorokina, A.L. Kovarski
Federal state budgetary institution of science
Emanuel Institute of Biochemical Physics of Russian Academy of Sciences,
119334, Russia, Moscow, Kosygina str., 4

The design of magnetically targeted nanosystems for a smart delivery of drugs to targeting cells is a promising direction of nanobiotechnology [1]. The problem of creation of such nanosystems has been solved with the application of a principally novel method of obtaining of stable single layer protein coatings [2]. The method is based on the ability of proteins to form interchain covalent bonds under the action of free radicals which are generated locally on nanoparticles surfaces. By the set of physically chemical and biochemical methods it has been proved that the free radical linking of proteins allows to obtain stable single layer protein coatings in thickness of several nm. The coatings are formed on the surface of individual magnetic nanoparticles with free radical processes taking place strictly in the adsorption layer. The free radical linking of proteins on the surface of nanoparticles has been shown to almost completely keep native properties of the protein molecules. The free radical

linking method reveals new possibilities of design of single layer multiprotein polyfunctional coatings on all the surfaces containing metals of variable valence (for example, Fe, Cu, Cr). The method may be used to reach various biomedical goals concerning a smart delivery of drugs and biologically active substances.

[1]. A.V. Bychkova, O.N. Sorokina, M.A. Rosenfeld, A.L. Kovarski. Multifunctional biocompatible coatings on magnetic nanoparticles. Uspekhi Khimii (Russian journal). 2012 (in press).

[2]. M.A. Rosenfeld, A.V. Bychkova, O.N. Sorokina, A.L. Kovarski, V.B. Leonova, S.M. Lomakin, G.G. Makarov. The method of obtaining of protein coatings on surfaces of solids containing ions of metals of variable valence. Russian patent request No. 2011136972, priority on 09/08/2011.

РАЗРАБОТКА ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО МЕТОДА ЭКСПРЕСС-ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИБИОТИКА ОФЛОКСАЦИНА

Бызова Н.А.[1], **Жердев А.В.**[1], **Еремин С.А.**[1], **Lei H.-T.**[2], **Sun Y.**[2], **Дзантиев Б.Б.**[1]

[1]*Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН,*
119071 г. Москва, Ленинский пр-т, д. 33
E-mail nbyzova@inbi.ras.ru;
[2]*South China Agricultural University,*
Guangzhou 510642, China

Среди веществ, которые могут контаминировать продовольственное сырье и пищевые продукты, важное место занимают антибиотики, интенсивно используемые в ветеринарии. Поступление антибиотиков с продуктами питания в организм человека может вызывать ряд патологических процессов. Важным для пищевой безопасности контаминантом является офлоксацин (ОФЛ) – антибиотик из группы фторхинолонов широкого спектра действия, характеризующийся высокой токсичностью и стабильностью в организмах сельскохозяйственных животных.

Проведены исследования, направленные на разработку системы экспрессной детекции ОФЛ, основанной на принципе иммунохроматографии. Охарактеризованы способы синтеза межмолекулярных конъюгатов. Проведено тестирование поликлональных антител против ОФЛ методом ИФА. Получены препараты маркеров – наночастиц коллоидного золота со средним диаметром 34 нм. Определены оптимальные режимы иммобилизации антител на коллоидном золоте. Полученные конъюгаты охарактеризованы с использованием методов электронной, атомно-силовой микроскопии и поверхностного плазмонного резонанса. Определены оптимальные условия проведения реакции антиген-антитело с использованием различных конъюгатов и мембранных носителей. Изучены факторы, влияющие на пороговый уровень различения положительных и отрицательных проб. Порог детекции ОФЛ с помощью разработанной тест-системы составляет 30 нг/мл, что соответствует контролируемому уровню при мониторинге продуктов питания. Длительность определения – 10 минут. Экспрессность и методическая простота позволяют рассматривать разработанную тест-систему как эффективную альтернативу существующим методам.

Работа выполнена при поддержке государственного контракта № 14.740.11.0615 от 5 октября 2010 г. и гранта РФФИ № 11-04-91189-ГФЕН_а.

DEVELOPMENT OF IMMUNOCHROMATOGRAPHIC TEST SYSTEM FOR EXPRESS DETECTION OF ANTIBIOTIC OFLOXACIN

Byzova N.A.[1], **Zherdev A.V.**[1], **Eremin S.A.**[1], **Lei H.-T.**[2], **Sun Y.**[2], **Dzantiev B.B.**[1]
[1]*A.N. Bach Institute of Biochemistry Russian Acad. Sciu.,*
Leninsky prospect 33, 119071 Moscow, Russia E-mail nbyzova@inbi.ras.ru
[2]*South China Agricultural University,*
Guangzhou 510642, China

Antibiotics as compounds extensively used in veterinary medicine occupy an important place among the substances that may contaminate raw food and food products. Intake of antibiotics in the human body via foodstuffs can cause a number of dangerous pathological processes. Ofloxacin (OFL), fluoroquinolone antibiotic with broad spectrum of biological activities and stability in the organisms of farm animals, is considered as important contaminant for food safety.

The presented studies were aimed at developing immunochromatographic test-system for rapid OFL detection. Methods of intermolecular conjugates' syntheses for the assay were comparatively characterized. Polyclonal antibodies against OFL were tested by ELISA. Preparations of analytical labels, namely nanoparticles of colloidal gold with an average diameter of 34 nm, were obtained. The optimal mode of antibodies immobilization on the colloidal gold surface has been selected. The resulting conjugates have been characterized using the methods of transmission electronic microscopy, atomic force microscopy and surface plasmon resonance. The optimal regimes for antigen-antibody interactions have been determined for the cases of different conjugates and membrane carriers. The factors affecting the threshold level between positive and negative samples have been studied. The limit of OFL detection by the developed test system is 30 ng/mL, that corresponds to the stated MRL for control of foodstuffs. Duration of the assay is 10 min. Rapidity and methodological simplicity of the developed test-system allow us to consider it as an effective alternative to existing analytical methods of OFL detection.

The work was supported by the Russian state contract # 14.740.11.0615 (October 5, 2010) and the grant of the Russian Foundation for Basic Research # 11-04-91189.

СТРУКТУРА И СТАБИЛЬНОСТЬ ЛИПОСОМ В КОМПЛЕКСЕ С СОПОЛИМЕРОМ ПЭГ-ХИТОЗАН

Дейген И.М., Кудряшова Е.В., Кабанов А.В.
Химический факультет МГУ им. М.В.Ломоносова;
119991, Москва, Ленинские горы.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Правительства РФ № 11G34.31.0004
Липосомы представляют большой интерес, как системы доставки лекарств, за счет их биосовместимости и низкой иммуногенности. Однако, не достаточная стабильность и склонность к агрегации ограничивают их применение в медицине. Поэтому актуальной является задача получения стабилизированных липосом с использованием полимерных материалов. В качестве стабилизирующей добавки перспективным является хитозан, биосовместимый природный полиэлектролит, содержащий аминогруппы, способные взаимодействивать с анионными группами липосом. Однако, хитозан плохо растворим в слабощелочных средах, что существенно затрудняет процесс получения комплексов.

В данной работе проведен синтез привитого полимера на основе хитозана (ММ 90-120кДа) модифицированного молекулами ПЭГ (mPEG-suc-NHS, ММ 2кДа) со степенями модификации 15% и 25%. Полученный полимер был полностью растворим в широком интервале значений pH и

сохранил свободные аминогруппы. Влияние комплексообразования на структуру и стабильность анионных липосом на основе дипальмитоилфосфатидилхолина (ДПФХ) и кардиолипина (КЛ) изучено в работе методом ИК спектроскопии.

Из анализа ИК спектров липосом было обнаружено, что в результате комплексообразования с ПЭГ-хитозаном наблюдается стабилизация гелеобразного состояния липосом. Анализ кривых плавления показал смещение температуры фазового перехода липосом в комплексе с ПЭГ-хитозаном в сторону более высоких температур. Наиболее ярко стабилизационный эффект ПЭГ-хитозана проявляется в отсутствие агрегации включенных в комплекс липосом при повышенных температурах, которая наблюдается как в случае свободных липосом, так и липосом в комплексе с немодифицированным хитозаном.

Полученные данные открывают перспективы применения полученного в работе со-полимера ПЭГ-хитозана в качестве стабилизирующей добавки для создания новых систем доставки лекарств на основе липосом.

STRUCTURE AND STABILITY OF LIPOSOMES IN COMPLEX WITH PEG-CHITOSAN CO-POLYMER

Deygen I.M., Koudriachova E.V., Kabanov A.V.
Department of Chemistr, Lomonosov Moscow State University,
Moscow, 119991, Leninskie Gory.
This work was supported by the grant of the Government of the Russian Federation № 11G34.31.0004

Liposomes are of great interest in biotechnology, as a drug delivery systems, due to their biocompatibility and low immunogenicity. However, low stability and tendency to aggregate still limits their application in medicine. Therefore, the actual problem is to obtain the effective stabilizing additives for the liposomes on the base of polymeric materials. Chitosan is a promising polymer in terms of using it as a stabilizing additive due to its biocompatibility and biodegradability. However, chitosan is poorly soluble in alkaline solution, which interferes with the complex formation.

In this paper, the synthesis of co-polymer of chitosan (MW 90-120kDa) modified with PEG molecules (mPEG-suc-NHS, MW 2kDa) was carried out. The degrees of modification was 15% and 25%. The co-polymer was completely soluble in a wide range of pH values and still contained the free amino groups capable to interact with anionic groups of liposomes. IR spectroscopy technique was applied to investigate the influence of the complex formation of PEG-chitosan on the structure and stability of mixed anionic liposomes of dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC) and cardiolipin.

It was found from the analysis of IR spectra that the complex formation with chitosan results in stabilization of the gel state of liposomes. Analysis of the melting curves of liposomes in the complex with PEG-chitosan showed higher temperatures of the phase transition compared to free liposomes. Most pronounced effect of PEG-chitosan is expressed as the absence of aggregation of complexed liposomes at elevated temperatures, while the extensive aggregation was observed for free liposomes as well as for liposomes in complex with unmodified chitosan.

The results obtained offer the prospect of the application of PEG-chitosan co-polymer as an effective stabilizing additive to create new drug delivery systems based on liposomes.

СИНТЕЗ И АНТИВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ ЛИПОФИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ НУКЛЕОЗИДНЫХ ИНГИБИТОРОВ ОБРАТНОЙ ТРАНКСРИПТАЗЫ ВИЧ

Дьякова Л.Н., Шастина Н.С.

Московский Государственный Университет Тонких Химических Технологий им. М.В. Ломоносова, 119571, Москва, просп. Вернадского, 86

3'-Азидо-3'-дезокситимидин (AZT) и 2',3'-дидегидро-3'-дезокситимидин (d4T) являются первыми препаратами, одобренными для лечения ВИЧ-инфекции, и в настоящее время применяются в клинике в сочетании с другими соединениями в антиретровирусной терапии СПИДа. Активизируясь *in vivo* до своих трифосфатных метаболитов, они ингибируют действие вирусной обратной транскриптазы, таким образом терминируя элонгацию провирусной ДНК. Однако длительное применение данных нуклеозидных препаратов ведет к возникновению резистентных вирусных штаммов, проявлению токсичности, также к недостаткам этих агентов относятся их деградация в кислой среде желудка, слабое всасывание в кишечнике, первичный метаболизм в печени и, следовательно, низкая пероральная биодоступность.

Подход биоимитации, основанный на создании липофильных пролекарственных веществ, способствует преодолению перечисленных недостатков. Конъюгаты нуклеозидных препаратов с производными 1,3-диацилглицеринов могут включаться в метаболизм природных липидов, что позволит повысить мембранотропность, лимфотропность данных терапевтических агентов, благодаря чему они смогут энтероцитопосредованным путем доставляться к клеткам-мишеням в обход первичного метаболизма в печени, что даст возможность повысить их биодоступность и снизить дозу применяемого препарата.

В рамках данного подхода были разработаны и осуществлены синтезы глицеролипидных производных d4T и AZT, в которых терапевтический агент связан с липофильной матрицей через сложноэфирную или функциональную фосфорную связи, изучена их чувствительность к химическому и ферментативному гидролизу в условиях *in vitro*, исследована антивирусная активность в отношении штамма ВИЧ-1_{899A}.

SYNTHESIS AND ANTIVIRAL ACTIVITY OF LIPOPHILIC DERIVATIVES OF NUCLEOSIDE HIV REVERSE TRANSCRIPTASE INHIBITORS

D'yakova L.N., Shastina N.S.

Lomonosov State University of Fine Chemical Technologies, Pr. Vernadskogo 86, Moscow, 119571 Russia

3'-Azido-3'-deoxythymidine (AZT) and 2',3'-didehydro-3'-deoxythymidine (d4T) are the first approved drugs for HIV treatment and nowadays used in combination with other antiviral agents in aids therapy. Once activated *in vivo* to its active triphosphate metabolites, they inhibit viral reverse transcriptase action, thus terminating *pro*viral DNA elongation. Nevertheless long-term application of this nucleoside drugs result to appearance of resistant viral strains, toxicity display, also the disadvantages of these agents are effects such as degradation in the acidic medium of the stomach, low intestinal permeability, first-pass hepatic metabolism and therefore poor oral bioavailability.

Biomimetic approach based on development of liphophilic prodrugs serve to overcome this disadvantages. Nucleoside drugs conjugates with 1,3-diacylglycerine derivatives may be included in natural lipid metabolism, inhancing membrane permeability, lymphotropic of these therapeutic agent, so they are able to be delivered by enterocyte mediated way to target cells bypassing first-pass hepatic metabolism, inhancing its bioavailability and reducing used drug dose.

Within the framework of present approach we developed and carried out the synthesis of d4T and AZT glycerolipidic derivatives, where therapeutic agents are associated with liphophilic matrix through an ester or functional phosphorous linkages, their sensitivity to the chemical and enzymatic hydrolysis *in vitro* was determined, antiviral activity in relation to HIV-1_{899A} strain was investigated.

ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТА LYSK С ПОЛИКАТИОНАМИ МЕТОДОМ ИК СПЕКТРОСКОПИИ

Филатова Л.Ю.,[1] **Донован Д.М.,**[2] **Беккер С.С.,**[2] **Кудряшова Е.В.,**[1] **Лебедев Д.Н.,**[1] **Новожилов И.А.,**[1] **Кабанов А.В.,**[1] **Клячко Н.Л.**[1]
[1]*Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, 119991, Воробьевы горы, 1-11;*
[2]*ARS-USDA Beltsville Agricultural Research Center, USA*

Золотистый стафилококк вызывает тяжелые заболевания организмов человека и животных. Подавляющее большинство штаммов *Staphylococcus aureus* резистентно к антибиотикам, поэтому встает вопрос о поиске альтернативных способов лечения стафилококковых инфекций. Адекватной заменой антибиотикам могут служить литические ферменты бактериофагов. LysK – лизин бактериофага К, лизирующий (разрушающий) клеточные стенки золотистого стафилококка, в том числе штаммы, устойчивые к антибиотикам. Одной из проблем, ограничивающих использование этого фермента в медицине, является его низкая стабильность при хранении (при температурах 4-25°С). Показано, что поликатионы, такие как полибрен, полилизины, блок-сополимеры полилизина и полиэтиленгликоля оказывают сильное активирующее и стабилизирующее действие на LysK, что увеличивает шансы его использования в медицине. Для понимания природы взаимодействий между ферментом и полиэлектролитами был использован метод ИК спектроскопии. Для комплексов LysK (образование комплексов было доказано методами динамического рассеяния света и седиментации) и полилизинов 2.5, 9.6 и 55.2 кДа было показано, что происходит структурирование молекулы фермента-уменьшается содержание неупорядоченных структур и увеличивается содержание α-спиралей и β-структур. Подобные изменения наблюдались и при взаимодействии фермента LysK с полиаргинином 5-15 кДа, обладающим, в отличие от полилизионов, слабым стабилизационным эффектом. При взаимодействии LysK полиаргинином >70 кДа, дестабилизирующим фермент, происходит увеличение содержания неупорядоченных структур. Таким образом, стабилизационный эффект поликатионов достигается за счет структурирования молекулы фермента LysK. Работа выполнена в рамках проекта МОН РФ 11.G34.31.0004.

INVESTIGATION OF THE INTERACTION OF THE ENZYME LYSK WITH POLYCATIONS BY IR SPECTROSCOPY

Filatova L.Yu.,[1] **Donovan D.M.,**[2] **Becker S.C.,**[2] **Koudriachova E.V.,**[1] **Lebedev D.N.,**[1] **Novozylov I.A.,**[1] **Kabanov A.V.,**[1] **Klyachko N.L.**[1]
[1]*Department of chemical enzymology, M.V. Lomonosov Moscow State University, Vorobievy gory, 1-11;*
[2]*ARS-USDA Beltsville Agricultural Research Center, USA*

Staphylococcus aureus causes many dangerous diseases in living organisms. The majority of *Staphylococcus aureus* strains resistant to antibiotics, so there is a question of finding alternative ways to treat staphylococcal infections. Lytic enzymes of bacteriophages (phage lysines, lysozymes)

may be adequate alternative to antibiotics. LysK is bacteriophage K lysine that can destroy (lyse) cell walls of *Staphylococcus aureus*, including strains resistant to antibiotics. One of the problems limiting the use of this enzyme in medical applications is its low storage stability (at temperatures of 4-25 °C). It was shown that polycations, such as polybrene, polylysines, polylysine and polyethylene glycol block copolymers has a strong activating and stabilizing effect on the LysK enzyme. To understand the nature of the interactions between the enzyme and polyelectrolytes the method of IR spectroscopy was used.

For complexes of the LysK (formation of complexes was proved by means of dynamic light scattering and sedimentation) with polylysines (2.5, 9.6 and 55.2 kDa) the structuring of the enzyme molecule was observed. Content of disordered structures was reduced and content of α-helices and β-structures was increased. Similar changes were observed in the interaction of polyarginine 5-15 kDa with the enzyme. This polymer possessed a weak stabilizing effect. The interaction of the LysK with polyarginine > 70 kDa caused destabilization of the enzyme (the content of disordered structures was increased). Thus, the stabilizing effect of polycations is achieved by structuring of the enzyme LysK molecule. Investigation was supported by MON RF 11.G34.31.0004 project.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ И ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ КЛЕТОК NEURO-2a НА ПЛЕНКАХ УНТ, ПОЛУЧЕННЫХ МЕТОДОМ ОСАЖДЕНИЯ ИЗ ГАЗОВОЙ ФАЗЫ

Гайдученко И.А.[1], **Федоров Г.Е.**[1], **Пресняков М.Ю.**[1], **Домантовский А.Г.**[1], **Суетина И.А.**[2], **Подчерняева Р.Я.**[2], **Бобринецкий И.И.**[3]

[1]*НИЦ «Курчатовский институт», 123182, Москва*

[2]*ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздравсоцразвития РФ, 123098, Москва*

[3]*Национальный исследовательский университет «МИЭТ», 124498, Москва*

Функциональное соединение биологических систем с электронными системами обработки и передачи информации в настоящее время привлекает пристальное внимание разработчиков в области создания гибридных наноэлектронных устройств, в частности биосенсоров. Одним из возможных компонентов интерфейса являются углеродные нанотрубки (УНТ), продемонстрировавшие высокую биосовместимость, химическую стабильность и уникальные электрические свойства. Работа посвящена разработке методики синтеза проводящих плёнок УНТ и исследованию влияния параметров синтеза УНТ на жизнеспособность и пролиферативную активность выращенных на них нервных клеток. Тонкие УНТ-пленки были изготовлены методом химического осаждения из газовой фазы на оксидированных кремниевых подложках. Этот метод позволяет получать УНТ-пленки, электрические характеристики которых превосходят характеристики пленок, полученных осаждением из суспензии.

На полученных сетках УНТ были выращены клетки нейробластом Neuro-2a. Жизнеспособность и пролиферативная активность этих клеток исследовалась методом МТТ и посредством визуализации полученных культур с помощью оптической, электронной микроскопии. Результаты показывают, что применение УНТ практически не понижает жизнеспособность и пролиферативную активность клеток, а также не изменяет их морфологию. Таким образом отсутствие токсичного эффекта углеродных нанотрубок на клетки Neuro-2a в сочетании с хорошей электропроводностью УНТ делает данные гибридные системы перспективным материалом для создания биосенсоров. Также исследуется вопрос о возможном токсическом действии применяемого катализатора на клетки.

INVESTIGATION OF THE VIABILITY AND PROLIFERATIVE ACTIVITY OF NEURO-2a CELLS ON THE CNT FILMS OBTAINED BY VAPOR DEPOSITION

I.A. Gayduchenko[1], **G.E. Fedorov**[1], **M.Yu. Presnyakov**[1], **A.G. Domantovskii**[1], **I.A.Suetina**[2], **R.Ya. Podchernyaeva**[2], **I.I. Bobrinetskii** [3]

[1]*NRC "Kurchatov Institute",*
123182, Moscow
[2]*The D.I.Ivanovsky Institute of Virology of the Ministry of Health and Social Development of The Russian Federation, 123098, Moscow*
[3]*National Research University of Electronic Technology,*
124498, Moscow

Functional conjugation of biological systems with electronic systems of information processing and transmission is now attracting attention of developers working on the creation of hybrid nanoelectronic devices, including biosensors. One of the possible interface components are carbon nanotubes (CNT), demonstrating a high biocompatibility, chemical stability and unique electrical properties. This work aims at developing methods for the synthesis of CNT films, and clarification of the influence of the synthesis parameters of CNTs on the viability and proliferative activity of the nerve cells grown.

Thin CNT films were fabricated by chemical vapor deposition (CVD) technique on silicon oxidized wafers. This method allows obtaining CNT-films with much better electrical performance characteristics than those of the CNT films obtained by deposition from suspension. Neuroblastoma Neuro-2a (NB-2a) cells were grown on the obtained CNT-films. Viability and proliferative activity of the cells grown, have been studied by MTT method and via visualizing the cultures by optical and electron microscopy. The results show that the use of CNTs hardly reduces the viability and proliferative activity of cells and don't affect the cell morphology. That means no toxic effect of carbon nanotubes on (NB-2a) cells, which, combined with good electrical conductivity of CNTs makes these hybrid systems a promising material for biosensors. Possible toxic effect of the used catalyst on the cells is also discussed.

ВЛИЯНИЕ ОБРАБОТКИ ПЛАЗМОЙ H_2O_2 НА СВОЙСТВА ПОВЕРХНОСТИ ПОЛИГИДРОКСИАЛКАНОАТОВ

Николаева Е.Д.[1], **Гончаров Д. Б.**[2]

[1]*Лаборатория ХАБ ИБФ СО РАН,*
г. Красноярск, Академгородок 50/50;
[2]*Сибирский Федеральный Университет*

В настоящее время активно развивается, сформировавшееся в последние годы, новое направление медицинского материаловедения – клеточная и тканевая инженерия, связанное с разработкой биоискусственных органов.

Успех функционирования тканеинженерных матриксов во многом определяется свойствами материала, используемого для их изготовления. Среди активно разрабатываемых биоматериалов, особое место занимают полигидроксиалканоаты (ПГА), они рассматриваются в качестве одного из наиболее перспективных материалов медицинского назначения, в связи с их уникальным набором свойств необходимым для тканевой инженерии (абсолютная биосовместимость, биодеградация, способность к переработке в различные изделия). Общеизвестно, что свойства поверхности матриксов играют большую роль для прикрепления и пролиферации клеток. С этой связи нельзя не отметить, что изделия из ПГА гидрофобны, поэтому для повышения адгезионных свойств поверхности матриксов из этих полимеров необходимы дополнительные усилия. Один

из современных подходов, применяемых для модификации поверхности клеточных матриксов, заключается в обработке газовой плазмой. Плазменная обработка клеточных матриксов представляет интерес не только как средство модификации свойств их поверхности, но также и как стерилизующий агент. Необходимо отметить, что отношение материалов и изделий из них к методам стерилизации является важным аспектом успеха их применения.

В работе представлены способы конструирования опорных клеточных матриксов разных типов из ПГА, изучена их структура, и исследовано влияние обработки плазмой H_2O_2 на свойства поверхности и пролиферативный потенциал адгезированных клеток. Результаты эксперимента показали, что стерилизация матриксов в плазме H_2O_2 дает дополнительную обработку поверхности, которая способствует лучшей прикрепляемости и дифференцировке клеток фибробластов мыши линии NIH 3T3 на поверхности матриксов.

EFFECT OF PLASMA H_2O_2 TREATMENT ON SURFACE PROPERTIES OF POLYHYDROXYALKANOATES

E.D. Nikolaeva [1], **D.B. Goncharov** [2]
[1]*Laboratory of HAB Institute of Biophysics SB RAS, Krasnoyarsk, Akademgorodok 50/50;*
[2]*Siberian Federal University*

Now actively developing a new direction of medical materials — cell and tissue engineering associated with the development of artificial organs.

The success of bioengineered scaffolds is largely determined by the properties of the material used to manufacture them. Polyhydroxyalkanoates (PHAs) have a special place among the actively developed biomaterials. They are regarded as one of the most promising materials for medical purposes, due to their unique set of properties necessary for tissue engineering (absolute biocompatibility, biodegradability, processability into various products). Surface properties of scaffolds play an important role for the attachment and proliferation. Products from PHA hydrophobic, and therefore to improve the adhesive properties of the surface of the scaffolds of these polymers, additional efforts are needed. One of the modern approaches used to modify the surface of the cellular matrix, is the handling of gas plasma. Plasma treatment of cell scaffolds of interest not only as a means of modifying the properties of their surfaces, but also as a sterilizing agent. The ratio of materials and products from them to the methods of sterilization is an important aspect of the success of their application.

This paper presents design methods of supporting different types of cell scaffolds of PHA, their structure, and the influence of plasma treatment on surface properties of H_2O_2 and the proliferative potential of adhered cells. The experimental results showed that the sterilization of scaffolds in plasma H_2O_2 provides additional surface treatment, which promotes better adhesion and differentiation mouse fibroblast line NIH 3T3 on the surface of scaffolds.

ХАРАКТЕРИСТИКА ПОЛИМЕРНЫХ МИКРОЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ РЕЗОРБИРУЕМЫХ ПОЛИЭФИРОВ ОКСИАЛКАНОВЫХ КИСЛОТ В КАЧЕСТВЕ ПЛАТФОРМЫ ДЛЯ ДЕПОНИРОВАНИЯ И ДОСТАВКИ ПРЕПАРАТОВ

Горева А.В.[1,2], **Шишацкая Е.И.**[1,2], **Кузьмина А.М.**[2]
[1]*Учреждения Российской академии наук Институт биофизики СО РАН,*
660036 Красноярск, Академгородок 50, строение50;
[2]*Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Сибирский федеральный университет"*
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии,
660041 Красноярск, Свободный, 79

Среди многообразия полимерных материалов безусловного внимания заслуживают полигидроксиалканоаты (ПГА) – полимеры микробиологического происхождения. Это биосовместимые, биорезорбируемые и термопластичные линейные полиэфиры, которые в отличие от широко изучаемых полилактидов и полигликолидов характеризуются медленной кинетикой биорезорбции, и их разрушение в биологических средах не сопровождается резким изменением активной реакции среды. Цель настоящей работы – сравнительное исследование полимерных микрочастиц, полученных из ПГА различными методами, и выявление факторов, определяющих основные характеристики.

В работе исследовано влияние техники изготовления (химический состав полимера, тип, способ перемешивания эмульсии, молекулярная масса лекарственного препарата) на выход, структуру и размер микрочастиц. Установлено, что наиболее значимыми факторами, влияющими на размеры микрочастиц из ПГА, являются концентрация раствора полимера и способ перемешивания эмульсии; структура поверхности частиц в большей степени зависит от химического состава полимера. Получено семейство микрочастиц диаметром от 0.1 до 70 мкм. В системах in vitro варьированием параметров процесса изготовления возможно выявление микрочастиц с различными характеристиками, пригодными для депонирования лекарственных препаратов. На примере микрочастиц, полученных из ПГА и различающихся по диаметру, найдено математическое описание кинетики выхода препарата из полимерной матрицы.

CHARACTERIZATION OF POLYMERIC MICROPARTICLES BASED ON RESORBABLE POLYESTERS OF OXYALKANOIC ACIDS AS A PLATFORM FOR DEPOSITION AND DELIVERY OF DRUGS

A.V. Goreva [1,2], **E.I. Shishatskaya** [1,2], **A.M. Kuzmina**[1]
[1]*Institute of Biophysics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences,*
Akademgorodok 50, Krasnoyarsk, 660036 Russia
[2]*Institute of Fundamental Biology and Biotechnology, Siberian Federal University,*
Svobodnyi 79, Krasnoyarsk, 660041 Russia

The key point in the design of prolonged drug systems is the search for a suitable material used as a carrier. Polyhydroxyalkanoates (PHAs)—polymers of microbiological origin—deserve special attention among the many polymeric materials. These are biocompatible, ioresorbable, and thermoplastic linear polyesters that, in contrast to well studied polylactides and polyglycolides, are characterized by a slow kinetics of biresorption; moreover, their destruction in biological media is not accompanied by a sharp change in the active response of a medium. The goal of this study is to perform the comparative examination of polymer microparticles obtained from PHAs with the use of various methods and to ascertain factors determining their basic characteristics.

The effect of the preparation technique (chemical composition of a polymer, type and method of emulsion mixing, and molecular mass of a drug) on the yield, structure, and size of microparticles obtained. It is found that the concentration of the polymer solution and the method of emulsion mixing are the most significant factors affecting the diameter of microparticles based on PHAs; the surface structure of particles depends to a higher extent on the chemical composition of the polymer. The family of microparticles from 0.1 to 70 μm in diameter is synthesized. For *in vitro* systems containing a phosphate buffer, variation in the preparation parameters makes it possible to obtain microparticles with various characteristics suitable for deposition of drugs. For microparticles obtained from PHAs and having different diameters, the mathematical description of the kinetics of drug release from the polymer matrix is provided.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ СОРБЦИИ И ДЕСОРБЦИИ АНТИБИОТИКОВ РАЗНЫХ ГРУПП НА МНОГОСЛОЙНЫХ УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБКАХ ТИПА «ТАУНИТ»

Ильина М.В.[1,5] **, Тимофеева А.В.**[3]**, Сапурина И.Ю.**[4]**, Иванова В.Т.**[5]**, Бурцева Е.И.**[5]**, Махмудова Н.Р.**[3]**, Катруха Г.С.**[2]

[1]*РХТУ им. Д.И. Менделеева,*
125047, г. Москва; ул. Миусская площадь, д. 9;
[2]*НИИНА 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]*ИВС РАН,*
199004 г. Санкт-Петербург, Большой пр. 31.
[5]*НИИ вирусологии им. Д.И.Ивановского Минздравсоцразвития России,*
123098, г. Москва, ул. Гамалеи, 16

Биотехнологические проблемы выделения антибиотиков из культуральной жидкости (КЖ) штамма-продуцента, с одной стороны, и очистка питьевой воды от примесей токсичных антибиотиков – с другой, требуют внедрения в практику новых эффективных адсорбентов. С этой целью мы исследовали возможность использования многослойных углеродных нанотрубок (МУНТ) типа «Таунит», произведенных в России, для сорбции из растворов ряда практически важных антибиотиков. Было установлено, что в разработанных нами условиях антибиотики различных химических групп – бацитрацин, блеомицетин, Fe^{2+}-блеомицетин, грамицидин S, гризеовиридин, левомицетин, линкомицин, пенициллин G, полимиксин B, тейкопланин A2, теломицин и этамицин способны полностью сорбироваться на 5 мг МУНТ «Таунит» за 10 - 18 час. Показано также, что степень десорбции антибиотиков, связанных с «Таунитом», существенно зависит от соотношения полярных и гидрофобных свойств молекулы антибиотика и варьирует от 65–95%. Гидрофобные антибиотики этамицин, гризеовиридин и пенициллин G не десорбируются с «Таунита», что важно для очистки растворов и направленной доставки препаратов в очаг заболевания. Количество антибиотиков в растворе до сорбции и после сорбции, а так же в элюатах определяли методом ОФ-ВЭЖХ на хроматографе «Милихром А-02».

Работы по использованию «Таунита» для выделения антибиотиков из КЖ, а также для очистки воды на таунитовых фильтрах и возможного перспективного применения комплексов «Таунит»-антибиотик в качестве медицинских препаратов будут продолжены в наших лабораториях.

INVESTIGATION OF SORPTION AND DESORPTION PROCESSES OF DIFFERENT ANTIBIOTICS ON MULTIWALLED CARBON NANOTUBES TYPE «TAUNIT»

Ilyna M.V.[1,5] **, Timofeeva A.V.**[3]**, Sapurina I.Yu.**[4]**, Ivanova V.T.**[5]**, Burtseva E.I.**[5]**, Mahmudova N.R.**[3]**, Katrukha G.S.**[2]

[1]*The Mendeleev Russian University of Chemical Technology, Moscow, 125047, 9 Miusskaya square, RF;*
[2]*Gause Institute of New Antibiotics RAMS, Moscow, 119021 B. Pirogov str., 11, RF.;*
[3]*Belozerskii Research Institute for Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow 119991, RF;*
[4]*Institute of Macromolecular Compounds, RAS, St. Petersburg 199004, Bolshoy pr. 31, RF;*
[5]*Ivanovsky Institute of Virology of Ministry of Health and Social Development of RF., Moscow, 123098 Gamaleya str., 16,*

The wide application of antibiotics for medicine and veterinaries need do decide such problems as their isolation from cultural medium used for strain-produsent and purification of drink water from the admixture of toxic antibiotics — it needs the developing and applying in practice the new effective adsorbents. The aim of this work was the investigation of multiwalled carbon nanotubes (MWNT) type «Taunit» produced in Russia as adsorbents in liquids for some antibiotics importuned for practice. It was established that at chosen conditions the decontamination took place completely during 10-18 h from antibiotics belonged to different chemical group Bacitracin, Bleomycetin, Fe^{2+}-Bleomycetin, Gramicidin S, Levomycetin, Lincomycin, Penicillin G, Polymyxin B, Griseoviridin, Teicoplanin A2, Telomycin, Ethamycin able to fully adsorbed on 5 mg MWNT «Taunit» for 10-18 hours. It is also shown that the degree of desorption of antibiotics to «Taunit» depends on the ratio of polar and hydrophobic properties of the molecule antibiotic and varies from 65-95%. Hydrophobic antibiotics Ethamycin, Griseoviridin and Penicillin G is not desorbed from the «Taunit», which is important for purification solutions and address get drugs to ill cell. The quantity of antibiotics in solution before and after sorption was measured with the help of reverse phase HPLC on micro-column liquid chromatograph «MiliChrom A-02».

The study for applying of multiwalled carbon nanotubes «Taunit» for isolation of antibiotic from culture fluid, as well as for purification of water with «Taunit» filters and perspective use of complexes «Taunit + antibiotics» as medical drugs will be continued at our laboratories.

ВЛИЯНИЕ ЛИПОСОМАЛЬНЫХ АНТИМИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНА MET3 В БИОПЛЕНКАХ ГРИБОВ CANDIDA SPP

Иванова Н.Н., Мавров Г.И.

ГУ «Институт дерматологии и венерологии АМН Украины»
61057 г. Харьков, ул. Чернышевская, 7/9, Украина

Целью данной работы явилось проведение исследований изменений экспрессии генов, связанных с образованием биопленок грибов. В частности, исследование экспрессии гена MET3 во время действия антигрибковых препаратов и их липосомальных форм на ранние стадии образования биопленок грибов Candida albicans.

После инкубирования биопленок с антимикробными препаратами и их липосомальными формами было проверено наличие РНК, которое транскрибируется из гена MET3, что указывает на экспрессию этого гена. Было найдено, что действие тербинафина и бензоилпероксида

отдельно и в комплексе, а также их липосомальных форм на биопленки грибов Candida приводит к угнетению экспрессии гена MET3.

Использование липосомальных форм тербинафина и бензоилпероксида приводило к уменьшению их минимально подавляющей концентрации и более эффективному ингибированию активности биопленок Candida albicans. Эффективность ингибирования активности биопленок зависила от состава липосом и их заряда.

Полученные данные показывают, что использование липосомальных антимикотиков и антимикробных препаратов является высокоэффективным относительно биопленок Candida albicans и свидетельствуют о возможности их использования в лечении кожных форм кандидоза.

INFLUENCE OF THE LIPOSOMAL ANTIMICROBIC PREPARATIONS ON THE GENE MET3 EXPRESSION IN BIOFILM OF CANDIDA SPP

Ivanova N.N., Mavrov G.I.

SE « Institute of dermatology and venereology of Academy of medical sciences of Ukraine», 61057, Kharkov, st. Chernyshevskaya, 7/9, Ukraine

The purpose of the given work was carrying out of researches of change the genes expression in biofilm connected with formation of biofilm. In particular was carrying out of researches gene MET3, during action of the antifungal preparations and them liposomal forms on early stages of the formation of biofilms Candida albicans.

After incubation of the biofilm with antimicrobic preparations and them liposomal forms had been checked up presence RNA which is transcribed from the gene MET3 that specifies about the expression this gene. We have found, that action of terbinafine and benzoyil peroxide separately and in the complex and them liposomal forms on the biofilm Candida albicans leads to oppression of gene MET3 expression.

The using of liposomal forms of terbinafine and benzoyil peroxide led to reduction of their minimum inhibitory concentration and to more effective inhibition of activity biofilm Candida albicans. The efficiency of inhibition of activity biofilm depend on structure of liposomes and their charge.

Obtained data show, that using of liposomal antimycotics and antimicrobic preparations is highly effective rather of the biofilm Candida albicans and testify to an opportunity of their using in treatment of skin forms of a candidiasis.

ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫЕ МИКРОСЕНСОРЫ – НОВОЕ СРЕДСТВО ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ МЕТАБОЛИТОВ

Казакова Л.И.[1], **Сухоруков Г.Б.**[1,2], **Шабарчина Л.И.**[1]

[1]*ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, 142290, Московская область, г. Пущино, ул. Институтская, 3.*

[2]*School of Engineering & Materials Science, Queen Mary University of London, Mile End Road, E1 4NS, London, UK.*

Работа посвящена созданию флуоресцентных сенсоров на основе полиэлектролитных микрокапсул для количественного определения биологически значимых ионов и метаболитов. Решена проблема совместной иммобилизации ферментов и флуоресцентных красителей в полиэлектролитные микрокапсулы. Ферменты уреаза, глюкозоксидаза или лактатоксидаза были включены в полость полиэлектролитных капсул, оболочка которых состояла из

чередующихся слоев противоположно заряженных полиэлектролитов полистиролсульфоната и полиаллиламина. Оболочка капсул выполняет роль полупроницаемой мембраны: она надежно удерживает ферменты в полости капсул, не препятствуя диффузии низкомолекулярных субстратов и продуктов ферментативной реакции. Флуоресцентные красители, чувствительные к продуктам ферментативного разложения мочевины, глюкозы и лактата (H^+, O_2, H_2O_2), были включены в состав полиэлектролитной оболочки капсул для перевода информации о течении ферментативной реакции во флуоресцентно регистрируемый сигнал. Функционирование полученных полиэлектролитных сенсоров продемонстрировано с помощью методов флуоресцентной спектроскопии и конфокальной флуоресцентной микроскопии.

Представленное исследование является шагом к созданию новых неинвазивных способов определения состава внутренней среды организма и приближает к воплощению в жизнь идею непрерывного мониторинга метаболитов, лекарственных препаратов и белков in vivo.

POLYELECTROLYTE MICROSENSORS AS A NEW TOOL FOR METABOLITES' DETECTION

Lyubov I. Kazakova[1], **Gleb B. Sukhorukov**[1,2], **Lyudmila I. Shabarchina.**[1]
[1]*Institute of Theoretical and Experimental Biophysics RAS,*
Institutskaya Street 3, 142290 Pushchino, Moscow region, Russia
[2]*School of Engineering & Materials Science, Queen Mary University of London,*
Mile End Road, E1 4NS, London, UK

The objective of this work is developing of fluorescent polyelectrolyte micron-size sensors for quantitative detection of ions and metabolites. We solve the problem of joint immobilization of enzymes and fluorescent dyes into polyelectrolyte microcapsules. The enzymes urease, glucose oxidase or lactate oxidase have been incorporated into the cavity of polyelectrolyte microcapsules, the shell of which was consisted of alternating layers of oppositely charged polyelectrolyte polystyrene sulfonate and polyallylamine. The shell of capsules acts as a semipermeable membrane. It secures the stay of enzymes in capsule cavity and ensures the diffusion of low-molecular substrates and products of enzymatic reactions at once.

Ion sensitive fluorescent dyes were incorporated into polyelectrolyte shell of capsules for detection of H^+, O_2, H_2O_2 that are produced or used up during the enzymatic decomposition of urea, glucose and lactate respectively. Thus the dyes translate the information related to the enzymatic reaction into a fluorescently registered signal. The working of sensors and their time behavior were investigated by the methods of fluorescence spectroscopy and confocal fluorescence microscopy.

The present study is a step towards creation of new non-invasive methods of monitoring internal environment and brings to realization of on-line metabolite sensing *in vivo*.

РАЗРАБОТКА ЛИПОСОМАЛЬНЫХ И ЭМУЛЬСИОННЫХ СИСТЕМ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ НА ОСНОВЕ КАТИОННЫХ ДИМЕРНЫХ АМФИФИЛОВ

Колоскова О.О., Кононова К.И., Буданова У.А., Себякин Ю.Л.
Московский государственный университет тонких химических технологий
им. М.В. Ломоносова,
119571, Москва, пр. Вернадского, 86, e-mail: c-221@yandex.ru

Многие лекарственные средства имеют ограниченную растворимость в воде, а также оказывают общее токсическое действие на организм. Решением данной проблемы является

включение таких веществ в наноагрегаты. Липосомы и эмульсии являются двумя наиболее подходящими классами коллоидных систем, используемых для доставки лекарственных веществ.

В качестве основы систем доставки биологически активных веществ перспективными соединениями являются катионные димерные амфифилы. Липосомы на их основе представляют собой эффективные транспортные системы вследствие облегченного взаимодействия получаемых частиц с эпителием, повышенной скорости транспорта конъюгатов в биологических жидкостях, высокой эффективости проникновения внутрь клетки. Кроме того, благодаря своей амфифильной структуре эти соединения являются хорошими эмульгаторами, причем могут стабилизировать эмульсию путем понижения межфазного поверхностного натяжения и придания частицам эмульсии электрических зарядов, одинаковых по знаку. Это способствует защите частиц от взаимного слияния при их столкновении за счет электростатического отталкивания.

В данной работе осуществлен синтез катионных димеров на основе липодипептидов, различающихся природой спейсера между полярными головками. Проведено системное изучение физико-химических свойств липосомальных дисперсий на их основе. Подобраны оптимальные соотношения компонентов эмульгирующей смеси, содержащей синтезированные соединения, с целью получения наиболее стабильной эмульсии.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 10-04-01382 и № 11-04-01618)

DEVELOPMENT OF LIPOSOMAL AND EMULSION DRUG DELIVERY SYSTEMS BASED ON CATIONICDIMERIC AMPHIPHILES

Koloskova O.O., Kononova K.I., Budanova U.A., Sebyakin Yu.L.
Moscow State University of Fine Chemical Technology named after M.V. Lomonosov
119571 Moscow, pr.Vernadskogo, 86, e-mail: c-221@yandex.ru

Many drugs have limited solubility in water, provide a general toxic effect on the body. The solution of this problem is the inclusion of such substances in nanoaggregate. Liposomes and emulsions are the most appropriate classes of colloidal systems used for drug delivery.

Dimeric cationic amphiphiles are the promising compounds as the basis for delivery systems of bioactive substances. Liposomes based on them are efficient transport system because of facilitating interaction of the particles with epithelium, increased rate of transport of conjugates in biological fluids, highly effective penetration into the cell. In addition, they are good emulsifiers due to amphiphilic structure of these compounds, they can stabilize the emulsion by lowering the interfacial surface tension and make the emulsion particle electric charges. This helps to protect the particles from fusion due to electrostatic repulsion.

In this work, cationic dimers based on lipodipeptides with differing nature of the spacer between the polar heads were synthesized. A systemic study of the physicochemical properties of liposomal dispersions based on them was performed. The optimal ratio of components of emulsifying mixture containing the synthesized compounds, in order to obtain the most stable emulsion, was choosen.

This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research (grant № 10-04-01382 and № 11-04-01618)

МНОЖЕСТВЕННЫЕ W1/O/W2 ЭМУЛЬСИИ КАК СРЕДСТВО ТРАНСДЕРМАЛЬНОЙ ДОСТАВКИ БАС: ВЛИЯНИЕ СОСТАВА W1 НА ВЯЗКОСТЬ ЭМУЛЬСИИ

Кононова Е.А., Сорокоумова Г.М., Оксинойд О.Э.
Московский государственный университет тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова,
г. Москва, пр-т Вернадского, д. 86

Множественные кремнийорганические эмульсии (МКОЭ) – система, состоящая из внутренней водной фазы (W_1) с водорастворимым биологически активным веществом (БАВ), масляной силиконовой фазы (О), содержащей циклометикон и липофильный эмульгатор, и сплошной внешней водной фазы (W_2), содержащей гидрофильный эмульгатор и консервант. Целью данной работы было установление зависимости между составом внутренней водной фазы и вязкостью МКОЭ – важной характеристикой для средства трансдермальной доставки БАВ.

По литературным данным, одним из факторов, влияющих на вязкость эмульсии, является концентрация электролита в W_1 [1]. К сожалению, в настоящее время не существует единой математической модели, описывающей вязкость МКОЭ. В данной работе использованы три модели, основанные на предположении о квази-гомогенности фазы W1/O. Учитывался и тот факт, что частицы W1/O при их добавлении в W2 не могут сразу занять весь свободный объём, т.е. фактическая объёмная доля W1/O больше теоретической [1, 2].

Для каждой из моделей были получены экспериментальные кривые зависимости вязкости МКОЭ от состава W_1, различавшегося: 1) только количеством хлорида натрия, 2) количеством NaCl и содержанием модельного вещества – арсеназо III и 3) количеством NaCl и содержанием нестероидного противовоспалительного препарата диклофенака натрия (ДФН). Показано, что каждый из компонентов W_1 (NaCl, арсеназо III, ДФН) вносит собственный вклад в вязкость МКОЭ.

На основе данных экспериментов установлена возможность регулирования вязкости МКОЭ, а также показано, что математическая модель, приведённая у R. Pal (модель №2), наиболее точно описывает соотношение между количеством электролита в W1 и вязкостью МКОЭ данного состава.

Список использованной литературы:

1. R. Pal // J. Rheol., 2001, 45(2), pp. 509-520
2. C.I. Mendoza, I. Santamar´ıa-Holek // J. of Coll. Int. Sci., 2009, 231(1)

MULTIPLE W1/O/W2 EMULSIONS AS TRANSDERMAL DRUG CARRIER SYSTEM: INFLUENCE OF W1 CONSTITUTION ON VISCOSITY OF EMULSION

Kononova E.A., Sorokoumova G.M., Oksinoid O.E.
Lomonosov Moscow State University of Fine Chemical Technologies,
Moscow, Vernadsky pr., 86

Multiple silicone emulsion (MSE) consists of inner water phase (W1) with water soluble biologically active compound (BAC), oil silicone phase (O) including cyclomethicone and lipophilic emulsifier, and continuous outer water phase including hydrophilic stabilizer and preserving agent. The aim of this study was to establish dependence of MSE viscosity as an important characteristic for transdermal drug delivery system on inner water phase composition.

From literature, it is known that one of the factors influencing viscosity of emulsion is concentration of electrolyte in inner water phase [1]. Alas, there is no experimentally proved mathematical model which can describe MSE viscosity in appropriate way. In this work, we used three theoretical models

based on assumption of quasi-homogenenicity of W1/O phase. There was also taken into account the fact that when added into continuous phase, disperse phase particles have no ability to occupy all available volume, i.e. real volume fraction of dispersed phase is more than that of theory due to particle interactions [1, 2].

We obtained experimental curves for each model to describe viscosity dependence on W_1 composition varying: 1) only NaCl quantity; 2) NaCl and model material arsenazo III quantity, and 3) NaCl and nonsteroid anti-inflammatory drug sodium diclofenac (SDF) quantity. It was shown that every compound in W_1 (NaCl, arsenazo III, SDF) made its own contribution in MSE viscosity.

Based on these experiments an opportunity to vary multiple silicone emulsion viscosity established. It was shown that R. Pal's model №2 possessed the most sufficient description of relation between electrolyte quantity in W1 and MSE viscosity of studied composition.

References:

1. R. Pal // J. Rheol., 2001, 45(2), pp. 509-520
2. C.I. Mendoza, I. Santamar´ıa-Holek // J. of Coll. Int. Sci., 2009, 231(1)

РЕЗОРБИРУЕМЫЕ ПОЛИМЕРНЫЕ МИКРОЧАСТИЦЫ В КАЧЕСТВЕ МАТРИКСОВ ДЛЯ КОНТРОЛИРУЕМОЙ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Кузьмина А.М[1]**., Горева А.В.**[2]

[1]*Сибирский федеральный университет,*
г. Красноярск, пр.Свободный 79,
[2]*Институт биофизики СО РАН,*
г. Красноярск, Академгородок50/50

Конструирование долговременных лекарственных систем относится к числу важнейших направлений современной биотехнологии и фармакологии. Такие системы особенно актуальны для лечения онкологических и длительно текущих инфекционных заболеваний. Ключевым моментом создания контролируемых систем доставки лекарств является наличие адекватного материала, используемого в качестве матрикса. Перспективным материалом для создания таких матриксов являются полигидроксиалканоаты (ПГА), абсолютно безвредные для организма и обладающие комплексом необходимых физико-механических и медико-биологических свойств.

Целью работы является разработка долговременной лекарственной формы доксорубицина на основе ПГА и исследование эффективности действия на рост солидного варианта карциномы Эрлиха (КЭ) *in vivo*.

Оценкой исследования эффективности действия лекарственной формы доксорубицина *in vivo* явилось состояние животных исследуемых групп, состав периферической крови, на основе гистологических данных развитие и купирование опухолевого процесса (изменение диаметра бедра, некроз ткани опухоли, лимфацитарная инфильтрация, полнокровие капилляров).

При анализе картины крови у животных эксперементальных групп не обнаружено систематических изменений, выходящих за границы физиологической нормы и значимых различий по сравнению с интактными животными. Результаты экспериментальной оценки противоопухолевой эффективности доксорубицина, депонированного в микрочастицы из полигидроксибутирата показали, что возможно введение цитостатического препарата, не только внутривенно, но и местно в область пальпации опухоли. Показано, что цитостатический препарат, вводимый лабораторным животным в свободной форме, сопоставимо с инкапсулированной формой тормозил развитие опухолевого процесса относительно группы животных, не получавших препарат. Важно отметить, что свободный препарат вводился еженедельно, в то время как препарат, депонированный в микрочастицы, вводился однократно.

RESORBABLE POLYMERIC MATRIX AS THE PROLONGED FORM FOR ENCAPSULATING THE CYTOSTATIC DRUG

Kuzmina A.M.[1], **Goreva A.V.**[2]
[1]*Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Svobodny 79*
[2]*Institute Biophysics SB RAS, Krasnoyarsk, Akademgorodok 50/50*

Designing of drug delivery system is very important concept up-to-date biotechnology and pharmacology. Such systems are especially actual for treatment oncological and long current infectious diseases. Perspective material for creation such system are polyhydroxyalkanoates (PHAs). These polymers are biocompatible and inert towards animal tissues; in biological environments they are degraded to end products (CO_2 and H_2O).

Doxorubicin (Dox) is one of the most effective anthracycline antibiotics effective against a wide range of cancers.

The purpose of this study is to evaluate the in vivo efficacy, unwanted toxicity of a doxorubicin-loaded polyhydroxyalkanoates particle (PHA-Dox) formulation in a murine solid tumor model after intratumoral injection. PHA-Dox was prepared by the solvent evaporation technique, using a double emulsion with a mean diameter of 0.34 ± 0.03 μm. Solid tumors were obtained by injection mouse Erlich solid carcinoma intramuscularly into off hind legs of BALB/c mice. PHA-Dox and a free Dox were injected intratumorally on 7 days after injection cancer cells. *In vivo* efficacy of treatment was measured by tumor growth delay, the condition of animal in experimental groups, structure of peripheral blood, change diameter of a hip in a place where was inoculation a tumor. Signs of unwanted drug toxicity, the histology and morphology of tumor and heart tissues were examined and monitored.

At the analysis of a picture of blood at animal experimental groups are not exhibit the regular changes which are overstep the bounds of physiological norm.

The present study demonstrates that introduction of cytostatic drug experimental animals the free Dox was comparable with PHA-Dox and hampered development of a tumor concerning control group. Results demonstrate that probably injection of cytostatic drug not only intravenously, but also intratumorally. It was significant to note that free Dox injected every week when PHA-Dox injected one time.

АДРЕСНЫЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ ЛИПОСОМЫ С ЛИПОФИЛЬНЫМИ ПРОЛЕКАРСТВАМИ И УГЛЕВОДНЫМ ЛИГАНДОМ СЕЛЕКТИНОВ

Кузнецова Н.Р.[1], **Степанова Е.В.**[2], **Бовин Н.В.**[1], **Водовозова Е.Л.**[1]
[1]*ИБХ РАН, ул. Миклухо-Маклая, 16/10, 117997, Москва;*
[2]*РОНЦ РАМН, Каширское шоссе, 24, 115478, Москва*

С целью улучшения фармакологических свойств химиотерапевтических препаратов нами предложено включать их в липидный бислой 100-нм-липосом в виде липофильных пролекарств – сложноэфирных конъюгатов с липидами. Были сконструированы конъюгаты мелфалана и метотрексата с диолеоилглицерином. Пролекарства эффективно встраиваются в мембрану липосом, сформированных на основе яичного фосфатидилхолина и фосфатидилинозита дрожжей. Для достижения адресной доставки в опухоли липосомы оснащены тетрасахаридным лигандом селектинов $SiaLe^X$ (селектины – белки клеточной адгезии, экспрессируются на

активированных лейкоцитах, тромбоцитах и клетках эндотелия). Дисперсии липосом стабильны не менее месяца. Ранее в испытаниях на модели рака молочных желез мышей (*Vodovozova et al, Eur J Cancer, 2000*) показано резкое улучшение терапевтического эффекта сарколизина при внутривенном введении в виде липофильного пролекарства в составе $SiaLe^X$-липосом. В данной работе исследовано влияние $SiaLe^X$-липосом на неоангиогенез на модели карциномы легкого Льюис.

Показано, что SiaLeX-липосомы, нагруженные пролекарством мелфалана, оказывают специфический антиваскулярный и/или антиангиогенный противоопухолевый эффект при системном введении. Более того, при введении флуоресцентномеченых SiaLeX-липосом наблюдалась их колокализация с маркером сосудистого эндотелия CD31, тогда как безадресные липосомы экстравазировали во внеклеточное пространство опухоли и накапливались в периваскулярной области. Таким образом, в отсутствие адресного лиганда лекарственные липосомы накапливаются в опухолевой ткани за счет пассивного транспорта, в то время как введение SiaLeX-конъюгата в состав липосом обеспечивает их активный транспорт к эндотелию опухолевых сосудов. Обсуждается возможное влияние SiaLeX-липосом на метастазирование.

SELECTIN-TARGETED ANTITUMOR LIPOSOMES LOADED WITH LIPOPHILIC PRODRUGS

Kuznetsova N.R.[1], **Stepanova E.V.**[2], **Bovin N.V.**[1], **and Vodovozova E.L.**[1]

[1]*Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, RAS, ul. Miklukho-Maklaya 16/10, 117997 Moscow, Russia;*

[2]*Blokhin Russian Cancer Research Center, RAMS, Kashirskoe sh. 24, 115478 Moscow, Russia*

In order to improve pharmacological characteristics of various chemotherapeutics, we suggest that they should be incorporated in the lipid bilayer of 100-nm liposomes in the form of lipophilic prodrugs. For this purpose, ester conjugates of melphalan and methotrexate with 1,2-dioleoylglycerol were designed. The prodrugs incorporate efficiently in the membranes of liposomes produced on the basis of egg phosphatidylcholine and yeast phosphatidylinositol. For targeted delivery to tumors, the liposomes are equipped with the $SiaLe^X$ tetrasaccharide, a selectin ligand. (Selectins are a group of cell adhesion proteins expressed on activated leukocytes, thrombocytes, and endothelial cells.) Liposome dispersions were found to be stable during at least one month storage. Earlier, in a mouse mammary adenocarcinoma model (*Vodovozova et al, Eur J Cancer, 2000*) therapeutic efficacy of intravenously administered sarcolysin was shown to increase sharply upon its incorporation into $SiaLe^X$-liposomes in the form of a lipophilic prodrug. The aim of the present work was to study the effect of $SiaLe^X$-liposomes on neoangiogenesis in a model of Lewis lung carcinoma.

Targeted liposomes loaded with lipophilic prodrug of melphalan demonstrated specific antivascular and antiangiogenic anti-tumor effects upon systemic injection. Moreover, fluorescently labeled $SiaLe^X$-liposomes co-localized with the vascular endothelial marker CD31, while ligand-free liposomes extravasated to the tumor extracellular space and accumulated in perivascular regions.

Therefore, in the absence of targeting ligand, liposomes accumulate in tumor tissue due to passive transport, while introduction of the $SiaLe^X$-conjugate in the liposome bilayer allowed for their active targeting to vascular endothelium of the tumor. Possible effect of the $SiaLe^X$-liposomes on tumor metastases is considered.

ПОЛУЧЕНИЕ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ЦИНКА И ВОЗМОЖНОСТИ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

Кузовкова А.А., Яровая О.В., Киенская К.И., Авраменко Г.В.
Российский химико-технологический университет им. Д.И.Менделеева;
125047,г. Москва, Миусская площадь, д.9

Развитие нанотехнологий ведет к появлению множества материалов, содержащих наноразмерные частицы. В настоящее время объем промышленного производства разнообразных наночастиц составляет уже сотни тысяч тонн. В наноразмерном состоянии многие вещества, а в частности металлы (такие как серебро, золото, платина и др.) и оксиды металлов (такие как оксид титана, оксид цинка и др.), приобретают новые свойства и становятся в биологическом отношении весьма активными. Это открывает новые возможности использования наноматериалов в области биомедицины и фармакологии. В последнее время большое внимание исследователей стали привлекать наночастицы металлов, ввиду возможности их использования для диагностики различных заболеваний на молекулярном уровне, локальной термотерапии, адресной доставки лекарств и пр.

В данной работе рассматривается получение водных дисперсий наночастиц оксида цинка (золей) методом пептизации. На первом этапе синтеза проводили гидролиз 0,2 М раствора $Zn(NO_3)_2$ в присутствии водного раствора аммиака. Полученный гидроксид цинка отмывали от электролита и затем диспергировали в дистиллированной воде, далее проводили нагревание и добавляли 0,1 М раствор $Zn(NO_3)_2$, который выполнял функцию пептизатора. В результате получали агрегативно устойчивый золь молочно-белого цвета с pH 7,0-7,5. В ходе эксперимента было установлено, что на процесс формирования золя влияют мольное соотношение $[OH^-]:[Zn^{2+}]$, температура пептизации и величина pH раствора пептизатора. Методом просвечивающей электронной микроскопии было установлено, что полученные частицы представляют собой пластины клиновидной формы, размер которых лежит в интервале от 40 – 80 нм.

Полученные таким образом частицы, могут быть использованы при производстве препаратов для лечения и диагностики различных заболеваний.

PREPARATION OF ZINC OXIDE NANOPARTICLES AND THEIR APPLICATION POSSIBILITIES

Kuzovkova A.A., Yarovaya O.V., Kienskaya K.I., Avramenko G.V.
D.Mendeleyev University of Chemical Technology of Russia,
125047, Moscow A-47, Miusskaya sq., 9,
e-mail: anna-kaa@yandex.ru

The development of nanotechnology leads to a variety of materials containing nanoparticles. At present, the industrial production of nanoparticles of a variety of hundreds of thousands of tons. At the nanoscale state, many substances, including metals (such as silver, gold, platinum, etc.) and metal oxides (such as titanium oxide, zinc oxide, etc.), acquire new properties and are biologically very active. This opens up new possibilities of using nanomaterials in biomedicine and pharmacology. Recently, much attention of researchers began to attract the metal nanoparticles, because of the possibility of their use for the diagnosis of various diseases at the molecular level, local thermotherapy, targeted drug delivery, etc.

In this paper we consider the receipt of aqueous dispersions of nanoparticles of zinc oxide (sol) by peptization. At the first stage of the synthesis was carried out the hydrolysis of 0.2 M solution of $Zn(NO_3)_2$ in the presence of aqueous ammonia. The resulting zinc hydroxide, washed free of electrolyte, and then dispersed in distilled water, then heating was carried out and added a 0.1 M solution of

$Zn(NO_3)_2$, which served as the peptization agent. As a result of receiving a steady aggregation of sol milky-white color with a pH of 7.0-7.5. During the experiment it was found that the formation of the sol affects the molar ratio [OH-]: [Zn^{2+}], peptization temperature and the pH of the solution using peptization. By transmission electron microscopy revealed that the obtained particles are wedge-shaped plate whose size ranges from 40 - 80 nm.

Particles thus obtained can be used in the manufacture of drugs for the treatment and diagnosis of various diseases.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ НА СТАБИЛЬНОСТЬ ФЕРМЕНТА LysK, ЛИЗИРУЮЩЕГО КЛЕТКИ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, БЛОК-СОПОЛИМЕРА $mPEG_{5k}$-b-$PLKC_{30}$

Лебедев Д.Н., Филатова Л.Ю., Новожилов И.А., Кабанов А.В., Клячко Н.Л.
Кафедра химической энзимологии Химического факультета
МГУ имени М.В. Ломоносова,
Москва, Воробьевы горы, 1-11

В настоящее время остро стоит проблема борьбы с заболеваниями, вызываемыми *Staphylococcus aureus*. Подавляющее большинство штаммов этого возбудителя резистентно к антибиотикам. В качестве альтернативы антибиотикам можно рассматривать литические ферменты бактериофагов. Фермент LysK, лизирует (разрушает) клетки золотистого стафилококка, в том числе штаммы, резистентные к метициллину и ванкомицину. Ограничением, не позволяющим использовать LysK в медицине, является его низкая стабильность при температурах хранения (20-25°C) и функционирования (37°C). Целью работы являлась стабилизация LysK в указанном диапазоне температур блок-сополимером полилизина и полиэтиленгликоля $mPEG_{5k}$-b-$PLKC_{30}$, содержащего 30 звеньев лизина и 114 звеньев этиленгликоля. Были исследованы стабильности серий растворов с различными зарядовыми соотношениями полимер/фермент (от 1 до 100) и различными концентрациями низкомолекулярного электролита (11, 300 и 500 мМ NaCl) при pH 9.0 (выше pI LysK 8.6) и температурах 4 и 22°C (температуры хранения) и 37°C (температура функционирования). Установлено, что значение активности фермента LysK в смесях с блок-сополимером выше, чем без него, при всех исследуемых концентрациях $mPEG_{5k}$-b-$PLKC_{30}$. Зависимость активности LysK от зарядового соотношения полимер/фермент (от 1 до 100) имеет колоколообразный вид со слабо выраженным оптимумом. Показано, что добавление к ферменту $mPEG_{5k}$-b-$PLKC_{30}$ приводит к увеличению его стабильности при всех исследованных температурах. При 37°C через 12 ч. инкубации фермент полностью инактивируется, в смесях с $mPEG_{5k}$-b-$PLKC_{30}$ LysK сохраняет 20-80% активности, при 22°C после 3 недель инкубации фермент сохраняет лишь несколько процентов активности, в то время как в смесях с блок-сополимером – 20-60%. Таким образом, $mPEG_{5k}$-b-$PLKC_{30}$ можно использовать для получения активных и стабильных антистафилококковых препаратов фермента LysK. Работа выполнена в рамках проекта МОН РФ 11.G34.31.0004.

STUDY OF BLOCK COPOLYMER $mPEG_{5k}$-b-$PLKC_{30}$ INFLUENCE ON STABILITY OF LysK – *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* LYTIC ENZYME

Dmitry N. Lebedev, Lyubov Yu. Filatova, Igor A. Novozilov, Alexander V. Kabanov, Natalia L. Klyachko

M.V. Lomonosov Moscow State University, chemical faculty, division of chemical enzymology, Vorobievy Gory, 1-11, Moscow 119991, Russia

Nowadays problem of drug development for treatment of diseases caused by *Staphylococcus aureus* becomes more and more important. Majority of strains of this causative agent is resistant to antibiotics. Lytic enzymes of bacteriophages (phage lysines) can be considered as a possible alternative for antibiotics. Enzyme LysK lyse (destroy) staphylococcus cells including methicillin and vancomycin resistant strains. Main limitation, which does not allow using LysK in medicine, is its low stability under storage (20-25°C) and functioning (37°C) temperatures. Aim of current work was to stabilize LysK under mentioned temperature conditions by block copolymer of polylysine and polyethyleneglycol $mPEG_{5k}$-b-$PLKC_{30}$ which contains 30 links of lysine and 114 links of ethyleneglycol.

Stabilities of series of solutions with different charge ratios polymer/enzyme (from 1 to 100) and different concentrations of low-molecular electrolyte (11, 300 and 500 mM NaCl) at pH 9.0 (that is higher then pI of LysK equal 8.6) and temperatures 4, 22°C (storage temperatures) and 37°C (temperature of functioning) were studied. It was established that activity of LysK in solutions with block copolymers is higher than without at all studied concentrations of $mPEG_{5k}$-b-$PLKC_{30}$. Dependence of LysK activity vs. charge ratio has bell-shaped form with ill-defined optimum. It was shown that addition of $mPEG_{5k}$-b-$PLKC_{30}$ to enzyme leads to increasing of its stability under all studied temperatures. After 12 hours of incubation at 37°C enzyme becomes fully inactive, however in solutions with $mPEG_{5k}$-b-$PLKC_{30}$ LysK maintains 20-80% of activity; after 3 weeks of incubation at 22°C enzyme maintains only several percents of activity while in solutions with block copolymer this value achieves 60%. Thus, $mPEG_{5k}$-b-$PLKC_{30}$ can be used for development active and stable antistaphylococcal LysK agents. Investigation was supported by MON RF 11.G34.31.0004 project.

БИОПОЛИМЕРНЫЕ ПОКРЫТИЯ С КОМПЛЕКСНОЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ ДЛЯ МОДИФИЦИРОВАНИЯ ИМПЛАНТИРУЕМЫХ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ, КОНТАКТИРУЮЩИХ С КРОВЬЮ

Лосева С.В., Новикова С.П.

НЦ ССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, 121552 г. Москва, ул. Рублёвское шоссе д.135

Результаты: Получены биодеградируемые модифицирующие покрытия на основе ХТ в сочетании с лекарственными препаратами (ЛП) антимикробного и антиагрегантного действия. Разработаны технологии модифицирования полифиламентных шовных нитей и медицинского полотна (исходный материал для текстильных кардиохирургических заплат и ПКС) покрытиями на основе ХТ. Исследования физико-химических свойств модифицированных материалов подтвердили их высокие сорбционные свойства относительно выбранных ЛП и пролонгированное высвобождение ЛП. Физико-механические испытания показали необходимые деформационно-прочностные свойства модифицированных материалов и высокие адгезионные свойства ХТ композиций к тканой подложке. Испытания на водопроницаемость показали, что нанесение ХТ покрытия снижает проницаемость исходной текстильной основы более чем в 20 раз. Микробиологические исследования подтвердили наличие высокой антимикробной активности модифицированных

материалов. В результате гематологических и экспериментальных исследований установлено, что нанесение разработанных ХТ покрытий на медицинское полотно и шовные материалы способствует повышению их биосовместимых и тромборезистентных свойств.

BIOPOLYMERS COATINGS WITH COMPLEX BIOLOGICAL ACTIVITY FOR MODIFICATION OF BLOOD- CONTACTING IMPLANTABLE MATERIALS

S.V. Loseva, S.P. Novikova

Bakulev Center for Cardiovascular Surgery (Bakoulev CCVS) of the Russian Academy of Medical Sciences (RAMS),

135 Roublevskoye shosse, Moscow, 121552, Russia

Implantable materials and devices for blood – contacting must have special functional properties: biocompatibility, tromboresistance, antimicrobial activity. But in addition to above mentioned properties, implantable textile medical materials such as blood vessels prostheses (BVP) and cardiosurgical patches should have complex of zero surgical porosity more (absence of bleeding through the wall implant). The most universal method for improving properties of such products is the modification of their surface with biodegradable coating based on the natural polymers in combination with biologically active substances and drugs of directive effect (anticoagulant, antiplatelet, antibacterial, etc.). The purpose of the work: Creation of new bioactive biodegradable coatings based on natural polysaccharides — chitosan (Ch) — and elaboration of technologies for surface modification of textile implants – cardiosurgical patches and suture filaments contacting with blood.

Results: Biodegradable chitosan-based coatings in combination with antimicrobial and antiplatelet drugs was obtained. We have developed technologies of modification suture filament and medical cloth (raw material for textile cardiosurgical patches and BVP) with chitosan-based coatings. Physico-chemical studies of modified materials showed their high sorption relatively to selective drugs and slow-release drugs from modified materials. Physical and mechanical tests have shown the necessary deformation and strength properties of modified materials, and high adhesion of the chitosan coatings for the textile substrate. Tests on the permeability showed that the application of Ch coating reduces the permeability of the original textile base more than 20 times. Microbiological studies have shown a high antimicrobial activity of modified materials. As a result hematological and experimental studies have established that the application of the developed Ch coatings on textile implants increases their biocompatibility and tromboresistance.

ВЛИЯНИЕ ЛИПОСОМАЛЬНОГО КАРДИОЛИПИНА НА РОСТ И ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ И ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ

Микулович Ю.Л.[1], **Гиляров Д.А.**[2], **Сорокоумова Г.М.**[1], **Селищева А.А.**[1], **Швец В.И.**[1], **Северинов К.В.**[2]

[1]*Московский государственный университет тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, 119571, Москва, проспект Вернадского, д. 86*

[2]*Институт биологии гена РАН, 119334, Москва, ул. Вавилова, 34/5.*

Анионные фосфолипиды: кардиолипин (КЛ), фосфатидилглицерин, фосфатидная кислота – входят в состав бактериальных клеточных стенок и играют регуляторную роль в процессе деления

бактериальных клеток за счет связывания с ферментами репликации и белками клеточного цикла и изменения их активности [1]. Это свойство можно использовать при создании новых нетоксичных антибактериальных препаратов, в частности противотуберкулезных, на основе природных веществ.

Ранее нами было обнаружено бактериолитическое действие КЛ (300 мкг/мл) в отношении *Mycobacterium tuberculosis* лабораторного штамма H37Rv и штаммов с множественной и широкой лекарственной устойчивостью [2]. В настоящей работе исследовано влияние КЛ в широком диапазоне концентраций (50, 100, 150, 300, 500 и 1000 мкг/мл) на рост нетуберкулезной микобактерии *Mycobacterium smegmatis*, других грамположительных бактерий, вызывающих инфекции верхних дыхательных путей: *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis,* — и грамотрицательную *Escherichia coli*. Рост клеток в присутствии препарата регистрировали различными методами: измерением оптической плотности культуры при 600 нм, подсчетом колоний после пересева культуры на плотную питательную среду. Жизнеспособность клеток оценивали после их окрашивания иодистым пропидием. Установлено, что даже самая высокая концентрация КЛ – 1000 мкг/мл – не оказывала никакого влияния на рост перечисленных выше микроорганизмов, за исключением *Streptococcus pneumoniae* и *E. coli,* на которые КЛ действовал бактерицидно и бактериостатически, соответственно.

На основании полученных результатов можно говорить о некоторой специфичности действия КЛ, так как он проявляет бактериолитическую активность только в отношении туберкулезных микобактерий.

1. Makise M., Mima S., Tsuchiya T. and Mizuhshima T. // J. Biol. Chem., 2001, v. 276, p. 7450-7456.
2. Андреевская С.Н., Смирнова Т.Г., Жогина Ю.А.и др. // ДАН, 2010, т. 434, с. 371 – 374.

THE INFLUENCE OF LIPOSOMAL CARDIOLIPIN ON GROWTH AND SURVIVAL OF GRAM-POSITIVE AND GRAM-NEGATIVE BACTERIA

Mikulovich J.L.[1], **Gilyarov D.A.**[2], **Sorokoumova G.M.**[1], **Selishcheva A.A.**[1], **Shvets V.I.**[1], **Severinov K.V.**[2]
[1]*M.V. Lomonosov State University of Fine Chemical Technologies, 119571, Moscow, Vernadsky prospectus, 86*
[2]*Institute of Gene Biology of the Russian Academy of Sciences, 119334, Moscow, Vavilova street, 34/5.*

Anionic phospholipids, such as cardiolipin (CL), phosphatidylglycerol, phosphatidic acid, are components of bacterial cell wall that play regulatory role during cell division via binding to enzymes of replication and cell cycle proteins and, as consequence, changing their enzymatic activities [1]. This feature could be used in the development process of new non-toxic antimicrobial drugs (particularly antituberculous) on the basis of natural substances.

CL bacteriolytic activity (300 μg/ml) in regard to sensitive strain H37Rv, multidrug and extensively drug-resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis* was found out by us earlier [2]. CL impact on growth of nontuberculous mycobacterium *Mycobacterium smegmatis,* different Gram-positive (*Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis*) and Gram-negative (*Escherichia coli*) bacteria was investigated in the research. Bacterial growth was monitored in the presence of 50, 100, 150, 300, 500 и 1000 μg/ml CL via optical density measurement at 600 nm of wave-length and calculation of colonies after reinoculation of bacterial cells on solid growth medium. Cells viability was estimated by microscope after staining with propidium iodide. CL at concentration as high as 1000 μg/ml (maximal concentration) was shown to have no any

effect on growth of bacteria listed above, with the exception of *Streptococcus pneumoniae* и *E. coli,* which growth declined or was on the same level as before experiment, respectively. It means that CL has bactericidal activity in respect to *Streptococcus pneumoniae* and bacteriostatic affect on *E. coli*.

Reasoning from data obtained, CL was assumed to have specificity because it had bacteriolytic impact on *Mycobacterium tuberculosis* only and had no influence or affected slightly on other Gram-positive and Gram-negative bacteria.

1. Makise M., Mima S., Tsuchiya T. and Mizuhshima T. // J. Biol. Chem., 2001, v. 276, p. 7450-7456.

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

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ КОНТУЗИОННОЙ ТРАВМЫ СПИННОГО МОЗГА У КРЫС

Морозова А.Ю.[1], **Нуколова Н.В.**[1], **Киржанова Е.А.**[2], **Печенкин М.А.**[2], **Мустафина Т.Б.**[1], **Маникам Д.С.**[3], **Чехонин В.П.**[1], **Клячко Н.Л.**[2], **Кабанов А.В.**[2,3]

[1]*ФГБУ «ГНЦССП им. В.П.Сербского» Минздравсоцразвития России*

[2]*Химический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова*

[3]*Центр Доставки Лекарств и Наномедицины, Фармацевтический колледж, Медицинский Центр Университета Небраски, США, Небраска*

Введение: Множество заболеваний центральной нервной системы сопровождаются активацией клеток микроглии, что приводит к выбросу радикалов, повреждающих нейроны. Антиоксидантная система защиты клеток включает в себя супероксиддисмутазу (СОД), которая преобразует радикалы в кислород и воду. Данный фермент может способствовать уменьшению токсичного воздействия радикалов и может быть использован в качестве лекарственного средства. Цель данной работы заключалась в исследование эффективности действия препаратов на основе СОД в остром периоде контузионной травмы спинного мозга у крыс.

Методы: наноразмерные частицы нанозимы были синтезированные на основе СОД и блоксополимера поли-L-лизин-полиэтиленгликоля с использованием сшивающего агента DTSSP (1). Была воспроизведена модель контузионной травмы спинного мозга (КТСМ) у крыс по методу “weight-drop” (2). После нанесения травмы, животных распределили на 3 группы (n = 4) и вводили препараты (СОД и нанозимы) через 30 минут и 3 часа в бедренную вену животным из расчета 20000 Ед\кг веса. В качестве контроля использовали соответствующий объем буферного раствора. Фармакокинетические параметры препаратов исследовали, используя определение энгогенной активности СОД в плазме крови (5 мин, 30 мин, 1 ч, 6 ч, 24 ч и 72 ч после введения препаратов) с помощью реакции ингибирования аутоокисления кверцетина (3). Для оценки восстановления произвольных движений тазовых конечностей у крыс после травмы спинного мозга животных тестировали по общепринятой системе (шкала BBB) в течение двух месяцев.

Результаты: Были синтезированы и охарактеризованы стабильные нанозимы с размером частиц 30 нм. Сравнение фармакокинетических параметров при внутривенном введение нанозимов и нативной СОД показало, что нанозимы значительно дольше циркулируют в кровотоке по сравнению с СОД. Экспериментальные препараты оказали нейропротективное действие и привели к достоверному восстановлению нарушенных функций в двигательно-координационной сфере (произвольные движения у животных восстановились достоверно лучше по сравнению с контролем, $p \leq 0,05$). Иммуногистохимический анализ подтвердил активации

процессов посттравматической ремиелинизации и неоангиогенеза в зоне контузионного повреждения ткани мозга.

Выводы: таким образом можно заключить, что препараты на основе СОД оказывают биологическое действие при неврологическом дефиците у экспериментальных животных с контузионной травмой спинного мозга.

Литература

1. N.L. Klyachko, D.S. Manickam, A.M. Brynskikh et al. Cross-Linked Antioxidant Nanozymes for Improved Delivery to CNS. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine (Article in press)

2. Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. J Neurotrauma. 1995, 12(1):1-21.

3. Костюк В.А., Потапович А.И., Ковалева Ж.В.Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина. Вопр. Мед. Химии, 1990, 36(2): 88 – 91.

Работа была выполнена при финансовой поддержке гранта Правительства РФ (Договор № 11G34.31.0004 от 30.11.2010 г, Постановление Правительства РФ № 20 от 9 апреля 2010 г).

BIOLOGICAL EFFECTS OF NANO-COMPLEXES BASED ON SUPEROXIDE DISMUTASE IN THE ACUTE CONTUSION SPINAL CORD INJURY IN RATS

Morozova A.Y.[1], Nukolova N.V.[1], Kirzhanova E.A.[2], Pechenkin M.A.[2], Mustafina T.B.[1], Manickam D.S.[3], Chekhonin V.P.[1], Klyachko N.L.[2], Kabanov A.V.[2,3]

[1]*The Serbsky State Scientific Center for Social and Forensic Psychiatry, Moscow, Russia*

[2]*Department of Chemistry, M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

[3]*Department of Pharmaceutical Sciences and Center for Drug Delivery and Nanomedicine, University of Nebraska Medical Center (UNMC), Omaha, Nebraska, USA*

Introduction: Numerous central nervous system (CNS) disorders accompanied with activation of microglial cells, which is linked to overproduction of the reactive oxygen species and subsequent neuronal damage. The use of the antioxidant enzymes (such as superoxide dismutase, SOD) is considered for therapy of pathological processes in CNS. The goal of this study was to investigate the influence of SOD formulations in the acute contusion spinal cord injury in rats.

Methods: Nanozymes based on block-ionomer complexes of SOD and poly-L-lysine-PEG was synthesized using cross-linker DTSSP (1). We used a standard model of acute contusion spinal cord injury in rats ("weight-drop" method, (2)). Animals were divided on 3 groups (n = 4) and injected with nanozyme and native SOD at 20,000 U/kg or the same volume of saline (control) in 30min and 3 h after formation of trauma. Pharmacokinetic parameters of formulations were studied using detection of endogenous SOD in blood plasma before the experiment and after 5 and 30 min, 1, 6, 24 and 72 h of administration. SOD activity was measured by inhibition of quercetin autoxidation (3). The recovery of sensorimotor function of rats with spinal cord injury was monitored by standard BBB-test during two months.

Results: Stable nanozymes with average size about 30 nm were synthesized and characterized. Comparison of pharmacokinetic parameters of formulations showed that nanozyme had prolonged circulation in blood in comparison with free SOD. SOD-formulations promoted the recovery of animals after spinal cord trauma and significantly improved senorimotor functions in rats in comparison with control. Immunohystological analysis confirmed enhanced remielinization and neoangiogenesis in spinal cord tissues after injury.

Conclusion: According to our data one can conclude that formulations based on SOD had a

biological effect on recovery of neurological deficits in experimental animals with contusion spinal cord injury.

Литература

4. N.L. Klyachko, D.S. Manickam, A.M. Brynskikh et al. Cross-Linked Antioxidant Nanozymes for Improved Delivery to CNS. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine (Article in press)

5. Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. J Neurotrauma. 1995, 12(1):1-21.

6. Костюк В.А., Потапович А.И., Ковалева Ж.В.Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина. Вопр. Мед. Химии, 1990, 36(2): 88 – 91.

Acknowledgments: This work was supported by the grants from Government of Russian Federation (№ 11G34.31.0004 from 30.11.2010, government regulation RF № 20 from 9 April 2010).

РАЗРАБОТКА ПОДХОДОВ К ПОЛУЧЕНИЮ АНТИОКСИДАНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ГЛУТАТИОНПЕРОКСИДАЗЫ ТИПА I

Панина И.С., Филатова Л.Ю., Кабанов А.В., Клячко Н.Л.

Кафедра химической энзимологии химического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова,
Москва, 119991, Воробьевы горы, 1-11

Процессы перекисного окисления липидов постоянно происходят в организме и важны для обновления состава и поддержания функциональных свойств биомембран. Избыточная активация процессов цепного свободнорадикального окисления липидов может привести к накоплению в тканях таких продуктов, как липоперекиси, что, в свою очередь, повреждает и увеличивает проницаемость клеточных мембран, происходит активация процессов апоптоза. Препаратами, ограничивающими активность процессов свободнорадикального окисления, являются антиоксиданты. Глутатионпероксидаза типа I (GPx1) – один из основных компонентов антиоксидантной защиты организма. Глутатионпероксидаза типа I катализирует восстановление пероксида водорода до воды. Соответственно, GPx1 обеспечивает защиту мембран клеток от разрушающего действия пероксидных радикалов. На практике необходимо использовать не нативный фермент, а модифицированный, для улучшения таких свойств как стабильность и устойчивость к протеолизу.

Целью настоящей работы было получение и исследование стабильности смесей глутатионпероксидазы с полиэлектролитами, которые часто используют для стабилизации и улучшения каталитических свойств ферментов.

Было проведено исследование влияния на стабильность GPx1 при 37°C полиэлектролитов различной природы (полиакриловых кислот 5 и 240 кДа, блок-сополимеров полилизина и полиэтиленгликоля 6.6 кДа и полиэтиленимина и полиэтиленгликоля 12.6 кДа, полилизинов 5.2, 9.6 и 55.2 кДа). Был обнаружен стабилизационный эффект полиакриловой кислоты 5 кДа и блок-сополимера полиэтиленимина и полиэтиленгликоля 12 кДа. Работа выполнена в рамках проекта МОН РФ 11.G34.31.0004.

DEVELOPING APPROACHES TO OBTAINING THE ANTIOXIDANT PREPARATION BASED ON GLUTATHIONE PEROXIDASE I

Panina I.S., Filatova L.Yu., Kabanov A.V., Klyachko N.L.
Department of chemical enzymology, M.V. Lomonosov Moscow State University, Vorobievy gory, 1-11

Lipid peroxidation is constantly taking place in the body and is important for the upgrade of content and maintenance of the functional properties of biomembranes. Excessive activation of free radical chain process of lipids oxidation can lead to accumulation in tissues such products as lipoperoxides that increases the permeability of cell membranes and activate the apoptosis. Antioxidants are preparations, which can reduce the activity of free radical oxidation processes. Glutathione peroxidase I (GPx1) is an essential component of antioxidant system of the body. Glutathione peroxidase I catalyzes the recovery of hydrogen peroxide to water. Accordingly, GPx1 protects cell membranes from the destructive action of peroxide radicals. In practice, no need to use the native enzyme, as modified, to improve properties such as stability and resistance to proteolysis.

The aim of this work was to obtain and to study the stability of GPx1 mixtures with polyelectrolytes, which is often used to stabilize and improve the catalytic properties of enzymes.

Stability of mixtures of glutathione peroxidase I with polyelectrolytes of different nature (polyacrylic acids 5 and 240 kDa, block copolymers of polyethylene glycol and polylysine and polyethylenimine 6.6 kDa and 12.6 kDa, polylysine 5.2, 9.6 and 55.2 kDa) was investigated at 37°C. Stabilizing effects of polyacrylic acid 5 kDa and block copolymer of polyethylene glycol and polyethylenimine 12 kDa were determined. Investigation was supported by MON RF 11.G34.31.0004 project.

УПАКОВКА ЧУЖЕРОДНОГО ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА В ИСКУССТВЕННЫЕ ВИРУСНЫЕ ЧАСТИЦЫ

Петрова Е.К.[1], **Никитин Н.А.**[1], **Архипенко М.В.**[1], **Карпова О.В.**[1], **Атабеков И.Г.**[1,2]
[1]*Биологический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, 119991*
[2]*Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ имени М.В. Ломоносова, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, 119991*

Белки оболочки (БО) вирусов растений могут быть использованы для разработки новых биотехнологий, так как фитовирусы отличаются высокой стабильностью, полной биологической безопасностью и низкой себестоимостью.

Х-вирус картофеля (ХВК) способен к обратимой диссоциации вирионов на БО и РНК с последующей самосборкой вирусных частиц *in vitro*. В результате удается восстановить структуру и биологическую активность вируса.

Было продемонстрировано, что при инкубации *in vitro* БО ХВК и ряда гетерологичных РНК различной природы, образуются искусственные вирусные частицы, которые не отличаются по морфологии от частиц с гомологичной РНК и от нативного ХВК. Одевание чужеродной РНК в БО ХВК, по-видимому, не зависит, от специфической нуклеотидной последовательности упаковываемого генетического материала и происходит с 5'-конца, что делает ее недоступной для рибосом. Однако нуклеиновая кислота освобождается от БО и становится трансляционно активной при взаимодействии искусственных вирусных частиц с транспортным белком 1 ХВК.

При инкубации с БО ХВК *in vitro* некэпированных 5'-концевых транкскриптов, полученных с кДНК РНК ХВК, искусственные вирусные частицы не образуются. Однако кэпирование транкскриптов приводит к формированию частиц. Возможно, оно влияет на пространственную структуру 5'-конца РНК, что способствует её эффективному взаимодействию с БО ХВК.

Таким образом, в данной работе представлен способ образования и контролируемой диссоциации искусственной белковой оболочки-упаковки, содержащей гетерологичный генетический материал. Это может послужить основой для создания наноконтейнеров на основе вирусов растений.

ARTIFICIAL VIRAL PARTICLES FOR GENETIC FOREIGN MATERIAL PACKAGING

Petrova E.K.[1], **Nikitin N.A.**[1], **Arkhipenko M.V.**[1], **Karpova O.V.**[1], **Atabekov J.G.**[1,2]
[1]*Biology Department, Lomonosov Moscow State University*
[2]*Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology,*
Lomonosov Moscow State University

Viral coat proteins (CP) can be used for development of new biotechnologies, also for design systems for targeted delivery of genes into cells. Plant viruses are the very promising basis for this purpose, because they are highly stable, absolutely biologically safe and low cost price.

Potato virus X (PVX) has the possibility of reversible dissociation of virions into coat proteins and RNA followed by the *in vitro* self-assembly of viral particles. As a result, the structure and biological activity of the virus can be reconstructed.

It was shown that incubation *in vitro* of PVX CP and various heterologous RNAs produces artificial viral particles with morphology identical to those of homological RNA and native PVX virions. The assembly of foreign RNAs *in vitro* with PVX CP appears not to require a specific nucleotide sequence and starts at the 5'-proximal region of the RNA, which makes it inaccessible for ribosomes. However, nucleic acid releases from CP and its translation is activated upon incubation of formed artificial viral particles with PVX movement protein 1.

Incubation *in vitro* of uncapped 5' end transcripts obtained from cDNA of PVX RNA with PVX CP does not lead to formation of artificial viral particles. However, particles we detected after capping of these transcripts and their incubation with PVX CP *in vitro*. We suggest that capping leads to conformational changes in 5' end RNA secondary structure and promote its efficient interaction with PVX CP.

Thereby we offer a method of formation and control disassembly of artificial protein packaging containing the heterologous genetic material of various size and sequence. Creation of "mixed" artificial viral particles gives an opportunity to use them as nanocontainers generated on the basis of plant viruses.

СИНТЕЗ НОВЫХ КАТИОННЫХ АМФИФИЛОВ НА ОСНОВЕ ДИЭФИРОВ *L*-ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Пиманова Е.В., Колоскова О.О., Буданова У.А., Себякин Ю.Л.
Московский государственный университет тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, 119571, Москва, пр. Вернадского, 86, e-mail: c-221@yandex.ru

Разработка рациональных форм лекарственных препаратов, обеспечивающих эффективный перенос активного компонента в клетку, является актуальным и перспективным направлением

научных исследований.

Многообещающим направлением является создание систем доставки, основанных на положительно заряженных липидоподобных пептидах. Ранее нашей научной группой была создана обширная библиотека катионных афифилов на основе липодипептидов. Была доказана эффективность использования таких соединений для доставки лекарственных препаратов в клетки.

С целью расширения библиотеки нами был осуществлен синтез новых липидободобных алифатических производных три- и тетрапептидов на основе диэфиров *L*-глутаминовой кислоты, а также катионных димеров на основе липодипептидов, различающихся природой спейсера между полярными головками. Гидрофобная часть представлена остатками гексадецилового и миристилового спиртов. Увеличение числа заряженных группировок должно способствовать уменьшению размера агрегатов, облегчению взаимодействия с клеточной мембраной и компактизации генетического материала. Варьируя строением соединительного звена двух полярных групп можно менять физико-химические свойства получаемых частиц.

В результате работы были получены новые перспективные соединения для создания транспортных систем доставки лекарственных, диагностических веществ и генетического материала. Проведено системное изучение физико-химических и мембранообразующих свойств липосомальных дисперсий на их основе.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 11-04-01618) и гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых — кандидатов наук МК-4380.2012.3

SYNTHESIS OF NEW CATIONIC AMPHIPHILES BASED ON DIESTERS OF L-GLUTAMIC ACID

PimanovaE.V., Koloskova O.O., Budanova U.A., Sebyakin Yu.L..
Lomonosov Moscow University of Fine Chemical Technology
119571 Moscow, pr.Vernadskogo, 86, e-mail: c-221@yandex.ru

The development of rational forms of drugs to provide an effective carrying over of the active component in a cell, is a relevant and promising direction of research.

The creation of delivery systems based on positively charged lipopeptides is promising direction. Previously, our research group has created an extensive library of cationic amphiphiles based on lipodipeptides. Efficiency of use of such compounds for delivery of drugs in cages has been proved.

In order to expand our library new derivatives of aliphatic similar to lipids tri- and tetrapeptides based on diesters of L-glutamic acid , as well as cationic dimers based on lipodipeptides, which differ nature of spacer between the polar heads, was synthesized. The hydrophobic part consists of the residues of hexadecyl and myristyl alcohols. The increase in number of charged groups should promote reduction of the size of aggregates, facilitate of interaction with a cellular membrane and compaction a genetic material. It is possible to change physical and chemical properties of received particles, by varying the structure of a connecting link of two polar groups.

As a result of the work new promising compounds for the design of delivery systems of therapeutic, diagnostic agents and genetic material were obtained. Systemic researches of the physico-chemical properties and properties of formation of membranes of liposomal dispersions based on them was carried.

This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research (grant № 11-04-01618) and by the grant of President of the Russian Federation for state support of young Russian scientists – candidates of science MK-4380.2012.3

МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ДИЗАЙН ОЛИГОНУКЛЕОТИДНЫХ ЗОНДОВ ДЛЯ МУЛЬТИПАРАМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЕНОВ β -ЛАКТАМАЗ МЕТОДОМ СЭНДВИЧ-ГИБРИДИЗАЦИИ НА ДНК-МИКРОЧИПАХ

Поболелова 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

Продукция бактериальных ферментов β-лактамаз является основным механизмом устойчивости грамотрицательных бактерий к β-лактамным антибиотикам. На основании структурной гомологии β-лактамазы разделяют на 4 молекулярные класса A, B, C и D, которые далее разделяются на группы (типы) и подгруппы. Наиболее клинически значимыми в настоящее время являются β-лактамазы расширенного спектра (БЛРС), относящиеся к молекулярному классу A, а также карбапенемазы, относящиеся к молекулярным классам A, B и D.

Для эффективного контроля возникновения и распространения данного механизма резистентности у возбудителей инфекционных заболеваний актуальной является разработка методов мультипараметрического определения генов для одновременной детекции всех клинически значимых групп β-лактамаз в одном анализе. Для этих целей перспективным является метод гибридизационного анализа на ДНК-микрочипах. Ранее нами был разработан метод гибридизационного анализа, в котором проводят гибридизацию меченной биотином ДНК с иммобилизованными олигонуклеотидными зондами и далее определяют ДНК-дуплексы, образовавшиеся на поверхности ДНК-микрочипа. В данной работе гибридизационный анализ проводился по схеме «сэндвич» с использованием немеченой анализируемой ДНК и двух типов зондов – «улавливающего», который был иммобилизован на поверхности носителя, и «детектирующего», в который вводилась метка — биотин. Целью работы являлось сравнение двух схем анализа. В процессе работы был проведен молекулярный дизайн олигонуклеотидных зондов, исследовано влияние их основных параметров на эффективность и специфичность гибридизации. Критическим оказалось расстояние между «улавливающим» и «детектирующим» зондами. В работе показано, что близкое расположение зондов на цепи ДНК приводит к увеличению концентрации ДНК-дуплексов на поверхности носителя. При сравнении аналитических характеристик метод гибридизационного анализа в «сэндвич» варианте показал большую чувствительность и воспроизводимость, чем анализ с использованием прямой схемы гибридизации. Разработанный метод применен для исследования клинических штаммов бактерий-продуцентов β-лактамаз различных типов.

MOLECULAR DESIGN OF OLIGONUCLEOTIDE PROBES FOR MULTIPARAMETRIC DETERMINATION OF β -LACTAMASE GENES BY SANDWICH HYBRIDIZATION ON DNA MICROARRAYS

Pobolelova Yu.I., Ulyashova M.M., Rubtsova M.Yu., and Egorov A.M.
Department of Chemistry, M.V.Lomonosov Moscow State University,
Moscow, Russia

Currently the production of β-lactamases is the predominant cause of resistance to β-lactam antibiotics in Gram-negative bacteria. On the basis of structural homology the β-lactamases are divided into four molecular classes A, B, C and D , which are further divided into groups (types) and subgroups. In the present the most clinically significant β-lactamase are extended spectrum (ESBL) related to the molecular class A, as well as carbapenemases related to molecular classes A, B and D

To support an effective control of the emergence and spread of the mechanism of resistance in

infectious agents the development of methods for identifying genes for multiparametric competitive detection of all clinically relevant β-lactamase groups in one analysis is required. The method for hybridization analysis on DNA microarrays is a promising for these purposes. Previously, we developed a method for hybridization analysis, in which hybridization of biotin labeled DNA with the immobilized DNA oligonucleotide probes was performed and further the DNA duplexes formed on the DNA microarray surface were defined. In this work, hybridization analysis was performed on a "sandwich"-type with unlabeled DNA and two types of probes — "capture", which was immobilized on the support surface, and "detecting" with biotin label. The aim of the work was to compare the two schemes of analysis. In the process, molecular design of oligonucleotide probes was carried out, the influence of key parameters on the efficiency and specificity of hybridization was investigated. The distance between the "capture" and "detecting" probes is happened to be very important. It is shown that the proximity of the probes on the DNA chain leads to an increase in the concentration of DNA duplexes on the carrier surface. A comparison of analytical characteristics of the method of hybridization analysis of the "sandwich" variant showed a higher sensitivity and reproducibility than the analysis using the direct hybridization schemes.

The method has been applied successfully for the detection of ESBL and carbapenemase genes in a series of clinical isolates.

ИЗМЕНЕНИЕ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ЛЕКАРСТВ, СНАБЖЕННЫХ ФОСФОЛИПИДНОЙ НАНОСИСТЕМОЙ ТРАНСПОРТА

Половинкина А.А., Ипатова О.М., Прозоровский В.Н., Широнин А.В., Стрекалова О.С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича» Российской академии медицинских наук,
119121, Москва, ул. Погодинская, д.10

Развитие науки и технологий, наряду с поиском и синтезом новых лекарственных соединений, позволяет совершенствовать уже используемые средства и производить новые оригинальные препараты, отличающиеся высокой эффективностью, биодоступностью, отсутствием или снижением побочного действия. Одним из таких подходов является конструирование систем транспорта лекарств к пораженным органам и клеткам-мишеням. В качестве систем транспорта используют наночастицы разной природы. Использование фосфолипидных наночастиц (липосом, мицелл) имеет ряд преимуществ, таких как контролируемое высвобождение лекарственного соединения, снижение его побочных эффектов, повышение биодоступности и др. При этом одним из наиболее важных факторов, влияющим на эффективность транспорта препарата в организме, является размер этих наночастиц.

В ИБМХ РАМН разработана технология получения стабильных фосфолипидных наночастиц, со средним диаметром 15-25 нм, как системы транспорта биологически активных соединений различных классов. Показано существенное изменение некоторых фармакокинетических параметров известных лекарственных субстанций (доксорубицин, арбидол, индометацин и др), таких как биодоступность, распределение по тканям, связывание с компонентами крови, токсичность и специфическая активность.

Таким образом, разработанная стабильная ультрадисперсная наносистема представляет собой эффективную систему транспорта для ряда лекарственных соединений, а предельно малый размер фосфолипидных частиц способствует существенному повышению биодоступности, специфической эффективности и снижению побочного действия этих лекарств

CHANGES OF THE PHARMACOKINETIC PARAMETERS OF DRUGS IN DELIVERY NANOSYSTEM ON THE BASE OF PHOSPHOLIPIDS

Polovinkina A.A., Ipatova O.M., Prozorovskyi V.N., Shironin A.V., Strekalova O.S.
Research Institute of Biomedical Chemistry named by V.N. Orekhovich,
Russian Academy of Medical Sciences,
119121 Moscow, Pogodinskaya str., 10

The development of science and technologies allows not only to search and synthesize the new drug compounds but also to improve employed remedies and to produce new original medicines with high efficiency, bioavailability, absence or decrease of side effects. One of such approaches is elaboration of systems for drug delivery to affected organs and cell targets. Different kinds of nanoparticles are used as delivery systems. The use of phospholipid nanoparticles (liposomes and micelles) has several advantages such as controlled drug release, decreased side effects, rising of bioavailability and etc. The size of the nanoparticles of phospholipid delivery system is one of the most important factors influencing on efficiency of drug transport in the body.

The technology for preparing of stable phospholipid nanoparticles with mean diameter of 15-25 nm as a transport system for biologically active compounds of different classes was elaborated in Research Institute of Biomedical Chemistry. The substantial changes of some pharmacokinetic parameters such as bioavailability, tissues distribution, binding to blood components, toxicity and specific activity of well-known medicinal substances (doxorubicin, arbidol, indomethacin and etc) after their embedding into these nanoparticles was shown.

Therefore, the developed stable ultra dispersed nanosystem represents an effective transport system for a number of drug compounds, and the extremely small size of phospholipid particles promotes contributes to significant increase of their bioavailability, therapeutic efficiency and reducing side effects.

Т1 КОНТРАСТНЫЙ АГЕНТ НА ОСНОВЕ ПОЛИЛИЗИНА И ХЕЛАТНОГО КОМПЛЕКСА ГАДОЛИНИЙ-ДТПА ДЛЯ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ГЛИОМЫ С6

Сандалова Т.О.[1], Нуколова Н.В.[1,2], Абакумов М.А.[1], Гриненко Н.Ф.[2], Юсубалиева Г.М.[2], Кабанов А.В.[3,4]и Чехонин В.П.[1,2]
[1]*ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздравсоцразвития России, гор. Москва, ул.Островитянова д.1*
[2]*ГНЦССП им. В.П.Сербского МЗСР РФ*
[3]*Институт исследования рака университета Небраски, г. Омаха, США;*
[4]*МГУ имени М.В. Ломоносова, г. Москва, Россия*

Введение. Мультиформная глиобластома человека- это наиболее частая и агрессивная форма опухоли мозга. В аспекте диагностики границ низкодифференцированных глиом, большой интерес вызывает использование в качестве белка-мишени коннексина 43 (Cx43) — интегрального мембранного белка. Гиперэкспрессия этого маркера по периферии опухоли в зоне активной инвазии мобилизованных глиомных клеток делает перспективным исследование Cx43 в целях диагностики резистентных к химио- и радиотерапии глиом головного мозга.

Цель исследования

Целью эксперимента было получение векторного Т1-контрастного агента на основе полилизина (PLL) и хелатного комплекса гадолиния (III) и диэтилентриаминопентетеновой кислоты (ДТПА), конъюгированного с моноклональными антителами к Cx43 для визуализации опухолевых клеток глиомы С6.

Материалы и методы

ДлЯ получения Т1-контрастного агента (ДТПА-PLL-Mab), к раствору, содержащему ДТПА (2,2 мг) и н-(3-диметиламинопропил)-н-этилкарбодиимидхлорид (1,6 мг), добавили полилизин (1 мг, молекулярная масса 15кД) и перемешивали в течение 2 часов при температуре 25°С. Полученный раствор инкубировали с 200 мкг моноклональных антител к коннексину 43 (MAB CX43) в течение 2 часов при температуре 25°С или в течение 12 часов при +4°С и затем добавляли 4,15 мг гексагидрата хлорида гадолиния (III).

Определение цитотоксичности на культуре клеток глиомы С6 проводили с помощью МТТ-теста. Клетки инкубировали с исследуемым образцом с различными временами инкубации, после чего отмывали от среды и инкубировали в ростовой среде (DMEM) в течение суток, а затем проводили МТТ тест.

Иммунофлюоресцентный анализ полученного контрастного агента ДТПА-PLL-MabCx43 был произведен на линии живых клеток коннексин-позитивной глиомы С6. В качестве контроля к культуре клеток глиомы С6 был добавлен контрастный агент, конъюгированный с неспецифическими иммуноглобулинами мыши ДТПА-PLL-IgG. В качестве флюоресцентной метки использовали флюоресцеинизотиоционат. Т1-релаксивность полученных частиц была измерена на 7 Т МР-томографе ClinScan фирмы Bruker

Результаты

Иммунофлуоресцентный анализ полученного контрастного агента, конъюгированного с антителами к коннексину 43 (Рис.1А), показал более высокую специфичность к клеткам глиомы с6 по сравнению с контрастным агентом, конъюгированным с неспецифическими иммуноглобулинами мыши (Рис.1Б). Максимальная нетоксичная концентрация контрастного агента по данным МТТ-теста составила 4 мкг/мл. Измерения Т1 релаксивности показали высокие значения вплоть до 6,9 $мМ^{-1}*с^{-1}$ для полученных агентов. Следует отметить, что коммерчески доступный контрастный агент Магневист характеризуется Т1-релаксивностью около 4,4 $мМ^{-1}*с^{-1}$.

Выводы

Таким образом, был синтезирован и охарактеризован биосовместимый Т1-контрастный агент на основе полилизина и хелатного комплекса гадолиний-ДТПА, конъюгированный с антителами к коннексину 43, обладающий высокой релаксивностью и специфично взаимодействующий с опухолевыми клетками глиомы С6 в экспериментах in vitro.

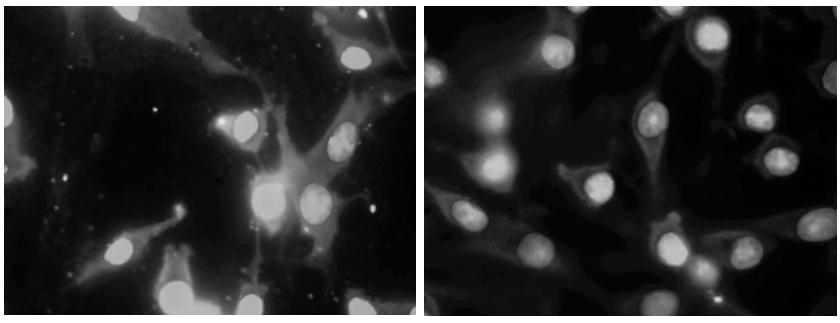


Рисунок 1. Иммунофлюоресцентный анализ Т1 контрастного агента на клетках глиомы С6. ФИТЦ-меченый специфический ДТПА-PLL-MabCx43 (**А**) и неспецифический ДТПА-PLL-IgG (**Б**) агенты.

T1 CONTRAST AGENT BASED ON SPECIFIC MONOCLONAL ANTIBODY TO CX43 MODIFIED WITH POLYLYSINE (PLL) AND CHELATE COMPLEX OF GADOLINIUM (III)-DTPA FOR VISUALIZATION OF TUMOR CELLS OF GLIOMA C6

Sandalova T.O.[1], **Nukolova N.V.**[1,2], **Abakumov M.A.**[1], **Grinenko N.F.**[2], **Yusubalieva G.M.**[2], **Kabanov A.V.**[3,4] **and Chekhonin V.P.**[1,2]

[1]*Russian State Medical University, Ostrovitianov str. 1, Moscow, Russia, 117997*

[2]*The Serbsky State Scientific Center for Social and Forensic Psychiatry, Moscow, Russia*

[3]*University of Nebraska Medical Center, Omaha, USA;*

[4]*Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

Introduction

Human glioblastoma multiforme is the most frequent and aggressive form of brain tumors. For the diagnosis of the borders of low-grade gliomas the integral membrane protein connexin 43(Cx43) has a great interest as a targeting protein. Protein Cx43 is a perspective target for diagnosis and treatment of brain gliomas, since it overexpressed in tumor periphery in the zone of active invasion of mobilized glioma cells.

Purpose

The goal of this study was the development of targeted T1 contrast agent for visualization of tumor cells of glioma C6. This agent based on specific monoclonal antibody to Cx43 modified with polylysine (PLL) and chelate complex of gadolinium (III) with diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA).

Materials and methods

First, the solution of 2,2 mg DTPA and 1,6 mg 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide was added to polylysine (1mg, molecular weight 15kDa) and mixed 2 hours under 25°C. Second, the obtained solution was incubated with 200ug monoclonal antibody to Cx43 (MabCx43) for 2 hours under 25°C or 12 hours under 4°C and finally, gadolinium(III) chloride hexahydrate (4,15 mg) was added. All unbound complexes of Gd (III) were removed by gel filtration chromatography using Sephadex G-25. Concentration of Gd (III) was determined by roentgen-fluorescent analysis. Cytotoxicity of contrast agents was analyzed using MTT-test on glioma C6 cells. Cells were incubated with experimental samples for a different period of time , then they were washed and incubated with growth media (DMEM)–for 24 hours. Immunofluorescent assay of obtained contrast agent DTPA-PLL-MabCx43 was perfomed on living cells of Cx43-positive glioma. Non-specific contrast agent DTPA-PLL-IgG was used as a control.

T1-relaxivity of obtained agent was measured on 7T MR-tomograph ClinScan, Bruker.

Results

Immunofluorescent assay of obtained contrast agent, conjugated with antibody to Cx43 (Figure 1A), showed higher specificity to C6 cells then non-specific contrast agent DTPA-PLL-IgG (Figure 1B). Maximal non-toxic concentration of contrast agents was 4ug/ml. The measurement of T1-relaxivity showed high values until 6,9 mM-1s-1. It should be noted that relaxivity of commercial available agent Magnevist is about 4,4 mM-1s-1.

Summary

Taken together this data confirm that biocompatible T1 contrast agent based on specific monoclonal antibody to Cx43, modified with polylysine-DTPA-Gd, was successfully synthesized and characterized. This agent has a high relaxivity and high affinity to Cx43-positive brain tumor cells.

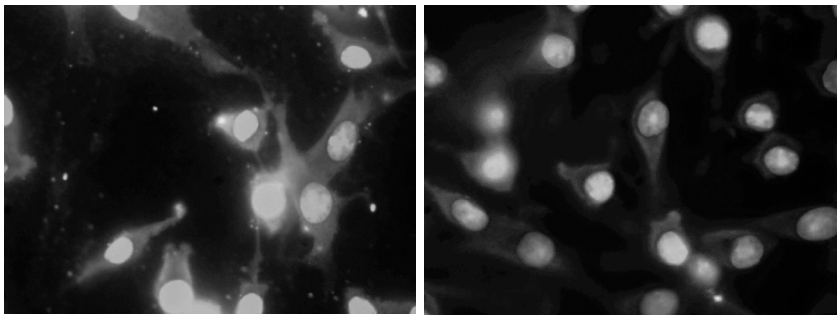


Figure 1. Immunofluorescent assay of T1 contrast agent on living cells of glioma c6. FITC-labeled specific DTPA-PLL-MabCx43 **(А)** and non-specific DTPA-PLL-IgG **(Б)** agents.

ФОСФОЛИПИДНАЯ НАНОСИСТЕМА ТРАНСПОРТА ДЛЯ ПРЕПАРАТОВ РИФАМИЦИНОВОГО РЯДА

Санжаков М.А., Медведева Н.В., Прозоровский В.Н., Ипатова О.М.

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научно-исследовательский институт биомедицинской химии
имени В.Н. Ореховича»
Российской академии медицинских наук ,
119121, Москва, ул. Погодинская, д.10

По данным ВОЗ ежегодно 2 млн. человек умирает от туберкулеза. Заболеваемость и смертность от туберкулеза наибольшая среди людей трудоспособного возраста. Низкая биодоступность противотуберкулезных препаратов и снижение ее при длительном лечении, а также ограниченный арсенал доступных лекарственных средств стимулирует поиски новых лекарств и/или лекарственных форм.

С использованием метода гомогенизации под высоким давлением нами разработана наносистема транспорта для противотуберкулезных препаратов рифамицинового ряда на основе фосфатидилхолина и жирных кислот. Диаметр частиц полученных композиций не превышал 50 нм, дзета-потенциал композиции рифампицин-фосфатидилхолин-олеат был по абс. величине значительно выше, чем для композиции рифампицин-фосфатидилхолин. Введение в состав транспортной системы олеиновой и каприловой жирных кислот позволило в 2,5 раза увеличить включение этих субстанций в наночастицы. При этом биодоступность противотуберкулезных препаратов значительно возрастала и зависела от используемой жирной кислоты.

Проведенные доклинические испытания показали, что при экспериментальном генерализованном туберкулезе у мышей новые лекарственные композиции противотуберкулезных препаратов, снабженных системой транспорта, обладали более высокой (в 1,5-2 раза) терапевтической эффективностью как при пероральном, так и подкожном введении.

При исследовании острой и подострой токсичности, возможного местно-раздражающего и мутагенного действия разработанных композиций доказано, что пероральные и инъекционные формы противотуберкулезных препаратов, снабженных системой транспорта на основе фосфатидилхолина и жирных кислот менее токсичны, чем соответствующие субстанции.

PHOSPHOLIPID TRANSPORT NANOSYSTEM FOR RIFAMYCIN DRUGS

Sanzhakov M.A., Medvedeva N.V., Prozorovskiy V.N., Ipatova O.M.
Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry
of Russian Academy of Medical Sciences,
119121, Moscow, Pogodinskaya St., 10

According to WHO, each year 2 million people die from tuberculosis. Morbidity and mortality rates from tuberculosis are the greatest among the people of working age. The low bioavailability of antitubercular drugs and its reducing long-term treatment, and also limited arsenal of available drugs stimulate the search for new drugs and / or dosage forms.

Using the method of homogenization under high pressure we have developed a new transport nanosystem for antitubercular drug of rifamycin series on the basis of phosphatidylcholine and fatty acids. Particle diameter of the resulting composition does not exceed 50 nm, the zeta potential of the rifampicin-phosphatidylcholine-oleate composition was on abs. value significantly higher than that for the composition of rifampicin-phosphatidylcholine. The introduction into the transport system of oleic and caprylic fatty acids increased by 2,5 times the incorporation of medicinal substances into nanoparticles. Thus the bioavailability of antitubercular drugs increased markedly and was dependent on the used fatty acid.

Preclinical trials have shown that in experimental tuberculosis in mice using of new medicinal compositions of antitubercular drugs equipped with the transport nanosystem had a higher therapeutic efficacy (by 1.5-2 times) both on oral administration and on subcutaneous one.

In the study of acute and subacute toxicity, irritation potential locally-developed and mutagenic effects of the compositions proved that oral and injectable forms of antitubercular drugs equipped with a system of transport on the basis of phosphatidylcholine and some fatty acids are less toxic than the corresponding substances.

СОЗДАНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ НАНОСТРУКТУР, ВКЛЮЧАЮЩИХ ПЕРОКСИДАЗУ РЕДЬКИ ЧЁРНОЙ

Глазова Н.В., Серкова А.Н.
Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия,
197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, 14, лит. А

Пероксидаза является основным реагентом в медицинских диагностических тест-системах, широко использующихся в настоящее время для выявления целого ряда вирусных (в том числе СПИД), бактериальных и онкологических заболеваний.

Целью работы являлось создание и изучение различных наноструктур с пероксидазой, которые могли бы успешно использоваться при создании новых лекарственных форм. На первом этапе работы пероксидаза была использована в качестве наноносителя, к которому присоединялись: антибиотики канамицин, гентамицин и антисептик хлоргексидин биглюконат. Конечной целью было создание более сложной наноструктуры, включающей комплекс пероксидазы с антибиотиком/антисептиком и циклодекстрины. В виду уникальных свойств гентамицина (отсутствие выработки резистентности, термостабильность при высоких температурах) в дальнейших экспериментах с наноносителями: α-,β-, γ –циклодекстринами был использован этот антибиотик.

Для подтверждения существования как комплекса пероксидазы с гентамицином, так и наноструктур с циклодекстринами применили метод кинетики диффузии через пористую мембрану, который позволяет рассчитать количество отдельных компонентов в наноструктурах.

Изучено влияние α-, β- и γ- циклодекстринов на активность и стабильность пероксидазы и подобраны оптимальные соотношения фермент: компонент. Показано, что стабильность пероксидазы в комплексе при взаимодействии с циклодекстринами возрастает. Таким образом, доказана целесообразность использования такого нанообъекта и возможность создания лекарственного средства способного к пролонгированному высвобождению и стабильного при хранении.

PREPARATION AND INVESTIGATION OF NANOSTRUCTURES COMPRISING BLACK-RADISH PEROXIDASE

Glazova N.V., Serkova A.N.
Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical Academy,
Russia, 197376, Saint Petersburg, Prof.Popova st., 14

Peroxidase is the main reagent in medicinal diagnostic test systems which are widely used now for detection of a variety of viral (including AIDS), bacterial and oncological diseases.

The purpose of this investigation was to prepare and study various nanostructures with peroxidase, which could be successfully used in the preparation of new dosage forms. At the first stage of the work the peroxidase has been used in quality nanocarrier which joined: antibiotics kanamycin, gentamycin and antiseptic chlorhexidine bigluconate. Creation of more difficult nanostructure, including the complex of peroxidase with antibiotic/antiseptic and cyclodextrins was an ultimate goal. In a kind of unique properties of gentamycin (absence of development of resistance, thermostability at high temperatures) in the further experiments with nanocarriers: α -, β -, γ- cyclodextrins this antibiotic has been used.

To confirm the existence as complex of peroxidase with gentamycin, and nanostructures with cyclodextrins have applied the method of diffusion kinetics through a porous membrane, which allows to calculate quantity of separate components in nanostructures. The influence of α-, β- and γ-cyclodextrins on the activity and stability of peroxidase was studied and the optimal enzyme: component ratios were selected. It is shown that stability of peroxidase in complex at interaction with cyclodextrins increases. Thus, the expediency of use such nanosubject and possibility of creation of a medical product capable to the prolonged liberation and stable at storage is proved.

ТВЕРДОФАЗНЫЙ СИНТЕЗ ПОЛИАМИДНЫХ МИМЕТИКОВ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ. КОНТРОЛЬ MALDI-TOF-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЕЙ

Ширяева М.В., Кириллова Ю.Г., Смирнов И.П.[1], **Позмогова Г.Е.**[1]
Московский государственный университет тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова,
пр. Вернадского 86, 119571, Москва, Россия,
e-mail: pna-mitht@yandex.ru
[1] *"Научно-исследовательский институт физико-химической медицины" ФМБА России,*
ул. Малая Пироговская 1а,113435, Москва, Россия,
e-mail: smirnov_i@hotmail.com, pozmge@gmail.com

Полиамидные миметики нуклеиновых кислот (ПАНКМ) – молекулы, способные образовывать более стабильные комплексы с ДНК и РНК, чем природные аналоги. Наше внимание направлено на создание отрицательно заряженных ПАНКМ на основе *L*-глутаминовой кислоты. В данном случае ПАНКМ заряжены одноименно с нуклеиновой кислотой, а расположение хиральных центров в *α*- или *γ*-положениях остова (Рис.1) определяют параметры и направление закручивания

образующейся спирали. Вероятно, данная модификация будет сочетать высокую аффинность, устойчивость и некоторые свойства природных нуклеиновых кислот.

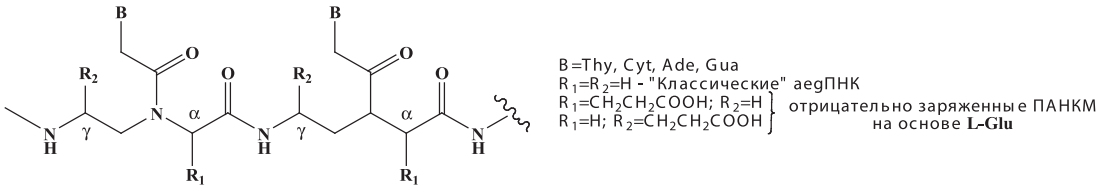


Рис.1. Общая структура ПАНКМ.

Цель данной работы заключалась в оптимизации условий стадии отщепления олигомеров ПАНКМ с полимерного носителя с изучением состава реакционных смесей MALDI-TOF-масс-спектрометрией. Наилучшие результаты получили при использовании системы трифторуксусная кислота/ трифторметансульфокислота/триизопропилсилан. Также по Boc-протоколу впервые был синтезирован полианионный октамер, включающий четыре нуклеиновые основания.

SOLID PHASE SYNTHESIS OF POLYAMIDE NUCLEIC ACID MIMICS. MONITORING BY MALDI-TOF-MASS-SPECTROMETRY

Shiryaeva M.V., Kirillova Yu.G., Smirnov I.P.[1], Pozmogova G.E.[1]
Lomonosov Moscow State University of Fine Chemical Technology,
Prospect Vernadskogo 86, 119571, Moscow, Russia,
e-mail: pna-mitht@yandex.ru
1Institute of physical-chemical medicine,
Malaya Pirogovskaya str., 1A, 119992, Moscow, Russia,
e-mail: smirnov_i@hotmail.com, pozmge@gmail.com

Polyamide nucleic acid mimics (PANAM) are molecules that are capable to form more stable complexes with DNA and RNA than natural analogues. Our attention is directed on the development of negatively charged PANAM based on the *L*-glutamic acid. In this case PANAM are charged like nucleic acid and chiral center arrangement (at α- or γ-position) (Fig.1) defines parameters and the direction of twisting of a formed helix. Probably this modification will show high affinity, stability and some properties of natural nucleic acids.

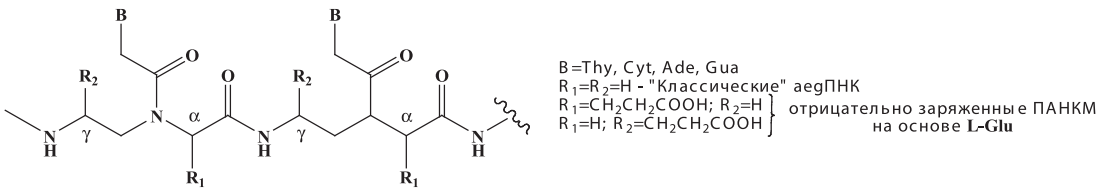


Fig.1. Common structure of PANAM.

Purpose of this work consisted in the optimization of cleavage stage condition of PANAM oligomers from polymeric support with investigation of reaction mixture composition by MALDI-TOF-mass-spectrometry. The best results were achieved using the trifluoroacetic acid/trifluoromethanesulphonic acid/triisopropylsilane mixture. At the first time it was synthesized polyanionic octamer containing four nucleic bases using Boc-strategy.

НОВЫЕ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИЕ НАНОМАТЕРИАЛЫ ИЗ КЛАССА ЧЕТВЕРТИЧНЫХ АММОНИЕВЫХ СОЛЕЙ

Шмакова Н.С., Панкратов В.А., Сдобникова О.А.
Московский государственный университет пищевых производств
109316, г. Москва, ул. Талалихина, дом 33

Растворы поверхностно-активных солей четвертичных аммониевых оснований используются в качестве лекарственных средств наружного применения, в том числе, для полоскания уха, горла, носа и других органов. Популярны такие препараты как альдесол, хлорид и бромид бензалкония, мирамистин. Наночастицами являются шарообразные и цилиндрические мицеллы этих веществ (их диаметр 5 - 10 нм), а также полученные на их основе тончайшие пленки, используемые в качестве антимикробных покрытий.

Нами синтезирован ряд новых моно- и бис-четвертичных аммониевых хлоридов и бромидов, некоторые из них содержат в гидрофобных радикалах алкоксиметильные группы. Бис-четвертичные хлориды получены реакцией взаимодействия хлорметиловых эфиров высших спиртов с диаминами, например

$$2C_{12}H_{25}OCH_2Cl + (CH_3)_2NCH_2CH_2N(CH_3)_2 \rightarrow$$
$$[C_{12}H_{25}OCH_2N(CH_3)_2CH_2CH_2\ N(CH_3)_2CH_2OC_{12}H_{25}]^{2+}2Cl^-$$

либо взаимодействием бис-хлорметиловых эфиров гликолей с третичными аминами:

$$2C_{12}H_{25}N(CH_3) + ClCH_2OCH_2CH_2OCH_2Cl \rightarrow$$
$$[C_{12}H_{25}N(CH_3)_2CH_2OCH_2CH_2OCH_2N(CH_3)_2C_{12}H_{25}]^{2+}\ 2Cl^-$$

Исследованы коллоидные и антимикробные свойства солей. Некоторые из них обладают бактерицидным действием в отношении золотистого стафилококка и кишечной палочки in vitro при разведении 1:10000 и даже 1:20000.

С использованием четвертичных солей получены покрытия для фруктов и овощей на основе метилцеллюлозы. Толщина покрытий не превышала 40 мкм. Для упаковки пищевых продуктов изготовлены пленки из полиэтилена и полипропилена. Они обладают выраженной фунгицидной активностью в отношении гриба Mucor. При этом содержание четвертичной соли в пленке не превышало 200 нг на 1 $см^2$ упаковочного материала.

Лекарственные препараты этой группы очень дороги. Розничная цена мирамистина в аптеках, в пересчете на 100% вещество превышает 15000 рублей за 1 г. Реально для многих целей производить и использовать значительно более дешевые препараты группы четвертичных солей.

NEW DISINFECTANTS NANOMATERIALS FROM THE CLASS OF QUATERNARY AMMONIUM SALTS

Shmakova N.S., Pankratov V.A., Sdobnikova O.A.
Moscow State University of Food Production
109316, Moscow, ul. Talalikhina 33, Russia

The solutions of surface-active salts of quaternary ammonium bases are used as medicines for the outdoor using, including, for the rinsing of the ear, nose, throat and other organs. Medications are widely use such as Aldesol, Benzalkonium chloride and bromide, Miramistin. The spherical and cylindrical micelles of these substances are nanoparticles (the diameter of them 5 - 10 nm), and the thinnest films, used as antimicrobial coatings, have received from them are too.

We have synthesized a series of new mono- and bis-quaternary ammonium chlorides and bromides, some of them contain alkoxymethyl groups in hydrophobic radicals.

Bis-quaternary chlorides were prepared by reaction of chloromethyl ethers of higher alcohols with diamines:

$$2C_{12}H_{25}OCH_2Cl+(CH_3)_2NCH_2CH_2N(CH_3)_2\rightarrow$$
$$[C_{12}H_{25}OCH_2N(CH_3)_2CH_2CH_2\ N(CH_3)_2CH_2OC_{12}H_{25}]^{2+}2Cl^-$$

or by the interaction of bis-chloromethyl ethers of glycoles with tertiary amines:

$$2C_{12}H_{25}N(CH_3) + ClCH_2OCH_2CH_2OCH_2Cl\rightarrow$$
$$[C_{12}H_{25}N(CH_3)_2CH_2OCH_2CH_2OCH_2N(CH_3)_2C_{12}H_{25}]^{2+}\ 2Cl^-$$

Colloidal and antimicrobial properties of the synthesized salt were investigated. They have a bactericidal action against Staphylococcus aureus and Escherichia coli in vitro at a dilution of 1:10000 and 1:20000 even.

By the use of quaternary salts the coatings for fruits and vegetables based on methylcellulose were derived. The thickness of the coating does not exceed 40 microns. For food packaging films were made from polyethylene and polypropylene. They have high fungicidal activity against fungal Mukor. The content of the quaternary salt in the film did not exceed 200 ng per 1 cm^2 of packaging material.

Medications of this group are very expensive. Retail price of Miramistin in pharmacies, in terms of 100% substance, exceeds 15,000 rubles per 1 gram. It is possible, for many purposes to produce and use much less expensive medications from group quaternary salts.

СИНТЕЗ МАЛОТОКСИЧНЫХ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА С ПРИМЕНЕНИЕМ ПРИРОДНОГО СТАБИЛИЗАТОРА

Сосенкова Л.С., Егорова Е.М.

НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН,
125315 Москва, Балтийская ул., д.8;
Научно-производственная компания «Наномет»,
Москва, Россия

Ранее нами было показано, что водные растворы наночастиц серебра, полученных методом биохимического синтеза, обладают выраженной антимикробной активностью, а также токсичностью для других живых организмов [1]. Было показано, что токсичность таких растворов отчасти обусловлена присутствием синтетического стабилизатора (анионного ПАВ – АОТ) [1,2]). Для исследований биологических эффектов наночастиц с целью применения их в медицине разумной альтернативой была замена синтетического ПАВ на природный стабилизатор, не оказывающий негативного воздействия на биологический объект. В настоящей работе сообщается о получении наночастиц серебра с восстановлением ионов серебра биофлавоноидом кверцетином в водном экстракте очищенного картофеля. Ионы серебра вводили в виде водного раствора нитрата ($AgNO_3$). Процесс формирования наночастиц контролировали методом спектрофотометрии. На рис.1 показана электронная микрофотография и гистограмма распределения по размерам в водном растворе наночастиц.

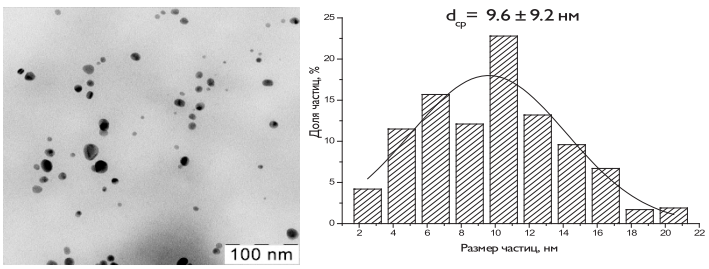


Рис. 1. Микрофотография и гистограмма распределения по размерам наночастиц серебра через 14 дней после синтеза.

Как видно из рисунка, используемый стабилизатор позволяет получать наночастицы примерно сферической формы, средним размером $d_{ср}$ = 9.6 ± 9.2 нм.

Литература.

3. Egorova E.M.In: "Silver nanoparticles: properties, characterization and applications". (Ed. by Audrey E. Welles). Nova Science Publishers, New York, 2010, p.221-258.

4. Матвеева Н.Б., Егорова Е.М., Бейлина С.И., Леднев В.В.//Биофизика. 2006. Т.51. №5. С.859-865.

SYNTHESIS OF LOW-TOXIC SILVER NANOPARTICLES WITH NATURAL STABILIZER

Sosenkova L.S., Egorova E.M.

Institute of general pathology and pathophysiology, RAMS,
Baltijskaya st., 8, 125315 Moscow, Russia;
Science-technology Company "Nanomet",
Moscow, Russia

We have shown previously that water solutions of silver nanoparticles obtained by the biochemical synthesis possess a high antimicrobial activity, as well as toxicity to the other living organisms [1]. It was shown that toxicity of such solutions is partly due to the presence of synthetic stabilizer (anionic surfactant — AOT) [1,2]. In studies of the biological effects of nanoparticles aimed to their application in medicine, it was found reasonable to replace this synthetic surfactant with natural stabilizer which does not exert a negative impact on biological objects. In the present paper we report about the preparation of silver nanoparticles by the reduction of silver ions with bioflavonoid quercetin in the water extract of purified potato. Silver ions were injected as water solution of silver nitrate ($AgNO_3$). The process of nanoparticles formation was controlled by means of spectrophotometry. Particle sizes were determined by transmission electron microscopy. Figure 1 shows the electronic micrograph and size distribution histogram of the nanoparticles in water solution.

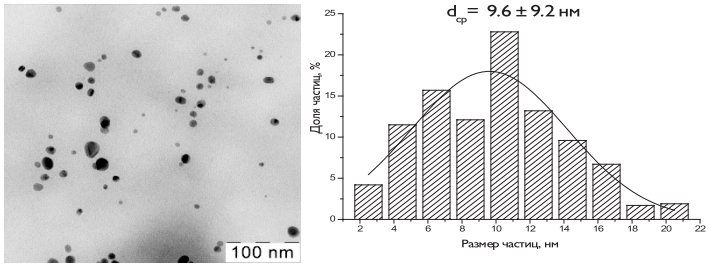


Fig. 1. Electron micrograph and size distribution of silver nanoparticles 14 days after the beginning of synthesis. As seen from the figure, the stabilizer used allows to obtain approximately spherical nanoparticles, with average size d_{av} = 9.6 ± 9.2 nm.

References:

1. Egorova E.M.In: "Silver nanoparticles: properties, characterization and applications". (Ed. by Audrey E. Welles). Nova Science Publishers, New York, 2010, p.221-258.

2. Matveeva N.B., Egorova E.M.Beylina S.I.// Biofizika (Russian). 2006. V.51. N5. P.859-865.

РАЗРАБОТКА ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ ТЕСТ-СИСТЕМ ДЛЯ ЭКСПРЕСС-ДИАГНОСТИКИ В МУЛЬТИЗОННОМ ФОРМАТЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК В КАЧЕСТВЕ МАРКЕРОВ

Таранова Н.А., Берлина А.Н., Жердев А.В., Дзантиев Б.Б.
Институт биохимии А.Н. Баха РАН,
119071 Москва, Ленинский проспект, 33

В последнее десятилетие широкое применение находят экспрессные методы иммуноанализа, к которым относятся тест-системы на основе коллоидного золота. В качестве альтернативных меток предлагается использовать флуоресцентные наночастицы, обеспечивающие повышение чувствительности и достоверности детектирования. В настоящей работе исследовано применение в иммунохроматографическом анализе квантовых точек (КТ) – нанодисперсных маркеров, характеризующихся высоким квантовым выходом и стабильностью флуоресценции, – и реализация с их использованием мультизонного анализа.

Предложена методика синтеза конъюгата водорастворимых КТ с антителами карбодиимидно-сукцинимидным методом. Показана высокая степень сохранения конъюгатом оптических и иммунохимических характеристик.

С использованием данного конъюгата реализован иммунохроматографический анализ антибиотика хлорамфеникола, характеризующийся пределом обнаружения 0,03 нг/мл при длительности определения 20 мин, что удовлетворяет требованиям диагностической практики.

Предложен мультизонный формат иммунохроматографического анализа с использованием конъюгатов КТ с антителами. Аналитическая зона мультизонных тест-систем формируется массивом из нескольких десятков микроточек (диаметром 10-50 мкм) с иммобилизованными иммунореагентами. Данный формат повышает производительность и точность определения и позволяет осуществлять сравнение концентрации аналита с несколькими пороговыми уровнями. Новый метод анализа совмещает экспрессность иммунохроматографии с возможностью одновременного количественного определения большого числа разных соединений в одной пробе.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ (государственный контракт от 25 февраля 2011 г. № 16.512.11.2125) и Программы фундаментальных исследований Президиума РАН № 24.

DEVELOPMENT OF THE LATERAL FLOW TEST-SYSTEMS FOR RAPID DIAGNOSTICS IN MULTI-ZONE FORMAT USING QUANTUM DOTS AS LABELS

Taranova N.A., Berlina A.N., Zherdev A.V., Dzantiev B.B.
Institute of Biochemistry Russian Acad. Sci.,
119071 Moscow, Leninsky prospect 33

In the last decade rapid methods of immunoassay are widely applied including test-systems based on colloidal gold. Fluorescent nanoparticles can be used as alternative labels that provide increased sensitivity and accuracy of detection. We have studied the application of the quantum dots (QDs) – nanosized labels with high quantum yield and stability of fluorescence – for immunochromatographic assay and realization of multi-zone format of analysis with their use.

The procedure of the conjugation between water-soluble QDs and monoclonal antibodies by carbodiimide-succinimide method is proposed. High degree of fluorescence and immunoreactions properties storage are demonstrated.

Lateral flow immunoassay for detection of antibiotic chloramphenicol has been carried out with the use of the QD-antibody conjugate. The method is characterized by detection limit of 0.03 ng/mL and analysis time of 20 min that meets the diagnostic practice.

Multi-zone format of lateral flow immunoassay in based on QD-antibody conjugate is proposed. The analytical zone of the test-strip is formed by array of micropoints (10-50 μms in diameter) with immobilized immunoreactants. This format increases assay productivity and accuracy significantly and allows to compare the analyte concentration with multiple thresholds simultaneously. The novel method of the analysis combines rapidity of immunochromatography with simultaneous quantification of a large number of different compounds in single sample.

This work was supported by the Ministry of Education and Science of Russian Federation (state contract on February 25, 2011 № 16.512.11.2125) and the Program for Basic Research of the Presidium of the Russian Aad. Sci. #№ 24.

ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫЙ ФЕРМЕНТНЫЙ МИКРОДИАГНОСТИКУМ – НОВОЕ СЛОВО В КЛИНИКО-БИОХИМИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ

Тихоненко С.А, Дубровский А,В, Сабурова Е.А, Шабарчина Л.И.
ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,
142290, Московская область, г. Пущино, ул. Институтская, 3.

Разработан и исследован полиэлектролитный ферментный микродиагностикум – новое средство для анализа биологически значимых метаболитов в различных водных средах, таких как биологические жидкости организма, природные и сточные воды. Главной структурной единицей такого микродиагностикума является полиэлектролитная микрокапсула с полупронецаемой оболочкой наноразмерной толщины, содержащая внутри себя фермент. Основными преимуществами микродиагностикума, по сравнению с применяемыми на сегодняшний день методами клинико-биохимического анализа, являются: возможность применения его для анализа без предварительного фракционирования биожидкостей; малый расход материала; возможность многократного использования микрокапсул при проведении анализов; повышение термостабильности, длительности хранения фермента и его устойчивости в агрессивных средах; использование простых и доступных методов регистрации.

При исследовании микродиагностикума были установлены основные принципы его создания, такие как формирование оболочки микрокапсул из селективно подобранной пары противоположно заряженных полиэлектролитов, pH и ионный состав среды, способ включения ферментов в полиэлектролитную микрокапсулу. Также были раработаны различные способы регистрации функционирования микродиагностикума: спектрофотометрический анализ прироста количества продукта ферментативной реакции или же уменьшения количества ее субстрата, анализ накопления продукта реакции по изменению седиментационных характеристик микрокапсул, флуоресцентный метод регистрации продуктов реакции.

Результаты многократного применения микродиагностикума, а также его применение для анализа метаболитов в реальной биологической жидкости, позволят использовать его в клинико–биохимическом анализе.

POLYELECTROLYTE ENSYM-BEARING MICRODIAGNOSTICUM – A NEW STEP IN CLINICAL-BIOCHEMISTRY ANALYSIS

Sergey A. Tikhonenko, Alexei V. Dubrovsky, Ekaterina A. Saburova, Lyudmila I. Shabarchina[1]
Institute of Theoretical and Experimental Biophysics RAS,
Institutskaya Street 3, 142290 Pushchino, Moscow region, Russia

The polyelectrolyte enzyme-bearing microdiagnosticum was developed and investigated, that is a new tool for the analysis of biologically important metabolites in different aquatic environments, such as biological liquids, natural and waste waters. The main structural unit of the microdiagnosticum is a polyelectrolyte microcapsules with nanometer thickness semipermeable shell, containing within itself the enzyme. The main advantages of microdiagnosticum, compared with currently used methods of clinical — biochemical analysis are: the possibility of its application for analysis without prior fractionation bioliquids, a small amount of material (the amount of enzyme in the microcapsule is picograms) reusability of the microcapsules during the test, increasing the thermal stability, duration of storage of the enzyme and its resistance in hostile environments, the use of simple and accessible methods of recording.

In the study microdiagnosticum the basic principles of its creation were established, such as the formation of the microcapsule's shell from selectively picked up pair of oppositely charged polyelectrolytes, pH and ionic composition of the medium, a way to incorporate enzymes in polyelectrolyte microcapsules. Different ways of registration of microdiagnosticum's functioning were developed. They are spectrophotometric analysis of the rate of enzymatic reaction product, or reducing the quontity of its substrate, the analysis of the changing of the sedimentation characteristics of the microcapsules according to accumulation of reaction product, fluorescent method of detecting the reaction products.

The results of repeated use of microdiagnosticum, as well as its application for analysis of metabolites in real biological fluid, will use it in clinical — biochemical analysis.

СОЗДАНИЕ КАНДИДАТНЫХ ВАКЦИН НА ОСНОВЕ СТРУКТУРНО МОДИФИЦИРОВАННЫХ ВИРУСОВ РАСТЕНИЙ

Трифонова Е.А., Никитин Н.А., Шевелева А.А, Чирков С.Н., Карпова О.В., Атабеков И.Г.
Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова,
Биологический факультет,
119991, г. Москва, Ленинские горы, д.1, стр. 12

Целью данной работы являлась разработка кандидатных вакцин нового типа на основе структурно модифицированного вируса табачной мозаики (ВТМ). Вирусы растений являются удобными платформами для образования комплексов с антигенными детерминантами патогенов. Биобезопасность применения фитовирусов, обусловлена отсутствием общих патогенов у растений и человека.

При термической денатурации вириона ВТМ происходит образование структурно модифицированных сферических частиц (СЧ). СЧ не содержат нуклеиновой кислоты, биодеградируемы, обладают высокой стабильностью и иммуногенностью.

Для создания модельной кандидатной вакцины против вируса гриппа на поверхности СЧ-платформ был презентирован полиэпитоп гемагглютинина (НА) вируса H1N1-A/California/07/09. Образование иммуногенных композиций «СЧ-НА» было показано с помощью метода непрямой иммунофлуоресценции. Была проведена подкожная и внутрибрюшинная иммунизация мышей полученными комплексами. Контрольную группу мышей иммунизировали индивидуальным

белком. Как в случае внутрибрюшинной так и в случае подкожной иммунизации было продемонстрировано существенное усиление иммунного ответа на целевой антиген в составе комплекса «СЧ-НА».

Таким образом, получена модель кандидатной противогриппозной вакцины, состоящей из СЧ-платформы и полиэпитопа НА вируса H1N1-A/California/07/09. Разработанная технология исключает возможность реверсии вакцины при сохранении ее высокой иммуногенности. Кроме того, такая кандидатная вакцина биобезопасна, так как СЧ получены из вирусов растений, а растения не имеют общих патогенов с человеком. Предложенный подход сможет значительно снизить себестоимость вакцины против гриппа и уменьшить период ее производства.

THE NOVEL TYPE OF CANDIDATE VACCINES BASED ON STRUCTURAL REMODELING PLANT VIRUSES

Trifonova E.A., Nikitin N.A., Sheveleva A.A., Chirkov S.N., Karpova O.V., Atabekov J.G.
Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology

The aim of the present work was the in vitro assembly of the novel type of candidate vaccines based on structural remodeling tobacco mosaic virus (TMV). Plant viruses are safe for humans, because plants and animals have no common pathogens. Thus plant viruses could be useful platforms for the displaying of antigens and antigenic determinants of different pathogens.

Recently was obtained and described structural remodeling spherical nanoparticles (SPs), generated by thermal denaturation of TMV. It was provided the evidence that SPs are stable, highly immunogenic, biodegradable and do not contain nucleic acid.

The polyepitope of hemagglutinin (HA) of H1N1-A/California/07/09 virus was displayed on the surface of SPs to generate the model candidate vaccine against influenza virus. The formation of immunogenic compositions was revealed by indirect immunofluorescence staining method. The immunogenicity of «SP-HA» complexes was examined by subcutaneous and intraperitoneal immunization of mice. The HA polyepitope was used alone in the control immunization. Our data indicated that in both methods of immunization the titers of serum antibodies to HA increase dramatically when antigen was linked to SPs.

The model of the novel candidate vaccine against influenza virus was obtained. It consists of SP-platform and HA of H1N1-A/California/07/09 virus. The developed technology excludes the possibility of reversion to the pathogenic form, while the high immunogenicity of vaccine maintained. Such vaccines will be safe for humans because plants and animals have no common pathogens. This approach could decrease the cost of vaccine against influenza virus and reduce the period of production.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЫСВОБОЖДЕНИЯ ДОКСОРУБИЦИНА ИЗ НАНОЧАСТИЦ СУКЦИНОИЛ-ХИТОЗАНА

Зубарева А.А.[1], **А.В. Ильина**[1], **Свирщевская Е.В.**[2], **Варламов В.П.**[1]
[1]*Учреждение РАН Центр «Биоинженерия» РАН,*
Москва, 117312 пр.60-летия Октября, д. 7, к .1
[2]*Учреждение РАН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,*
Москва 117997, Ул. Миклухо-Маклая 16/10

Одним из важных параметров наноразмерных систем доставки противоопухолевых препаратов является способность предпочтительного высвобождения лекарства в опухолевой

ткани. Целью исследования был анализ высвобождения модельного противоопухолевого препарата доскорубицина (ДОКС) из наночастиц, полученных на основе сукциноил-хитозана и загруженных доксорубицином (НЧСХ-ДОКС). Частицы получали методом солевого осаждения. Комплекс частиц с ДОКС готовили методом сорбции в присутствии бычьего сывороточного альбумина. Анализ высвобождения ДОКС из частиц проводили методом диализа в фосфатном (pH 7.4) и ацетатном (pH 5.5) буферах. Кинетику связывания НЧСХ-ДОКС с клетками оценивали методом проточной цитометрии на суспензионных клетках Jurkat (лимфома человека) и MDCC (лимфома собаки). Биодеградацию изучали на адгезивных клетках линий RAW137 (макрофаги мышей), MDCK (карцинома собаки) и HEK293 (почка человека). Для анализа биодеградации хитозана внутри клеток частицы НЧСХ-ДОКС добавляли к монослою клеток в культуре in vitro и инкубировали 15 мин., 1, 4 и 20 часов, центрифугировали и оценивали количество ДОКС в супернатанте, несвязывшегося с клетками. Далее проводили экстракцию антибиотика из осадков клеток кислым этанолом. Концентрацию ДОКС в экстрактах и супернатанте оценивали методом флуоресцентной спектрофотометрии. Показали, что при pH 5.5 за 48 часов около 70% лекарства выделялось из частиц. При pH 7.4 за это же время выделялось 35%. Такое pH-зависимое свойство частиц может быть полезным, поскольку pH опухолевой ткани обычно значительно ниже, чем pH нормальных органов. В экспериментах in vitro установили, что заключение ДОКС в хитозановую матрицу существенно не меняло способности препарата связываться с клетками линий Jurkat и MDCC. До 90% НЧСХ-ДОКС или ДОКС проникало в клетку в течение 15 минут. В количество свободного ДОКС в экстрактах может вносить вклад как высвобождение лекарства путем свободной диффузии, так и высвобождение за счет биодеградации наночастиц под действием внутриклеточных ферментов. Мы показали, что количество экстрагированного ДОКС зависело от типа клеточной линии, но не зависело от того, был ли это свободный антибиотик или ДОКС в составе наночастиц хитозана. Полученные данные показали, что отщепление ДОКС от хитозановой матрицы внутри опухолевых клеток происходит полностью за 30-60 мин, что подтверждает высокую степень биосовместимости хитозана.

IN VITRO RELEASE OF A DOXORUBICIN FROM NANOPRATICLES FORMED FROM SUCCINOYL-CHITOSAN

Zubareva A.A.[1] **, Ilyina A.V.**[1]**, ,Svirshchevskaya E.V.**[2]**,Varlamov V.P.**[1]
[1]*Centre «Bioengineering», RAS, Moscow,*
Russia, Prospect 60-Letia Oktyabrya 7/1,
e-mail:ZuN_88@mail.ru
[2]*Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, RAS,*
Moscow, Russia, Ul. Miklukho-Maklaya, 16/10

One of the most important parameter of antitumor drug delivery nanosystems is a preferable drug release in tumors. The aim of this work was to analyze a release of a model antitumor drug doxorubicin (DOX) from nanopraticles formed from succinoyl-chitosan and loaded with DOX (NPSC-DOX). NPs were prepared by salt precipitation. The chitosan NPs-DOX complex was developed by sorption in the presence of bovine serum albumin. DOX release from the particles was studied by dialyzing in phosphate (pH 7.4) and acetate (pH 5.5) buffers. The kinetics of NPSC-DOX binding to cells was studied by flow cytometry using suspension cell cultures Jurkat (human lymphoma) and MDCC (dog lymphoma). Biodegradation was studied on adhesive cells RAW137 (mouse macrophages), MDCK (dog carcinoma) and HEK293 (human kidney). To do this, NPSC-DOX were added to *in vitro* monolayer cultures for 15 min., 1, 4 and 20 hrs. Supernatants were collected and analyzed to estimate the amount

of DOX bound to cells. Residual cells were subjected to acid ethanol extraction. The amount of free DOX in superntants and extracts was estimated by fluorescence at 590 nm. We have shown that at pH 5.5 70% of DOX was released during 48 hrs while at pH 7.4 only 35% was released. This pH-dependence can be of use due to lower pH in tumors in comparison with normal organs. Experiments *in vitro* have demonstrated that DOX inclusion into chitosan matrix has not affected binding affinity to cells Jurkat and MDCC. Up to 90% of either NPSC-DOX or DOX has been bound to the cells during 15 min. As during intracellular processing DOX can be released due to passive leakage and as a result of enzymatic hydrolysis, we have compared the amount of free DOX extracted from cells. We have found that the amount of released DOX has depended on cell line studied however it has been comparable in DOX and NPSC-DOX cultures. In HEK293 at 20 hrs of incubation the total release was around 100%, which is much higher when percentage of passive leakage. Taking collectively, we have shown that intracellular degradation of chitosan as well as chitosan nanoparticles and DOX release occurs during first 30-60 min, showing high degree of biocompatibility of chitosan.

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

НОВЫЕ ШТАММЫ БАКТЕРИЙ, СИНТЕЗИРУЮЩИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ МАГНИТНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ

Дзюба М.В.
Центр «Биоинженерия» РАН
117312 Россия, Москва, пр-т 60-летия Октября д.7, корп.1

Магнетосомы – внутриклеточные магнитные наноразмерные включения, синтезируемые так называемыми магнитотактическими бактериями. В различных исследованиях была показана возможность применения бактериальных магнитных частиц в медицине – от магнито-резонансной томографии до нанодиагностики.

Целью нашего исследования является изучение разнообразия магнитотактических бактерий в природных водоемах и выделение в чистые культуры новых штаммов МТБ, пригодных для биотехнологического применения. Для этого нами были взяты пробы воды и ила в следующих водоемах: р. Ольховка (г. Кисловодск), р. Пшада (Краснодарский край), оз. Селигер (Тверская обл.). В результате работы было выделено 3 штамма магнитотактических бактерий: SO-1 (р. Ольховка), SP-1 (р. Пшада) и Sel-1 (оз. Селигер). Все изолированные бактерии представляют собой спириллы, подвижны с помощью жгутиков и способны накапливать до 30 магнетосом на клетку. Диаметр зрелых магнетосом – около 50 нм. В результате экспериментов по культивированию для всех штаммов были оптимизированы условия выращивания и подобраны условия, способствующие синтезу магнитных частиц. Для изолированных бактерий был проведен филогенетический анализ на основе сравнения последовательностей генов 16S рРНК и построена дендрограмма, отражающая степень сходства полученных последовательностей с известными из баз данных. Согласно результатам анализа все штаммы были отнесены к роду *Magnetospirillum*. Изолят SO-1 предположительно представляет собой новый штамм вида *M. magneticum*, а SP-1 и Sel-1 - новые виды рода *Magnetospirillum.*

В настоящий момент мы продолжаем исследования физиологических особенностей выделенных штаммов. Данные исследования позволят выбрать оптимальный штамм для генетических манипуляций с целью создания диагностических наборов на основе модифициро ванных магнетосом.

THE NEW STRAINS OF BACTERIA SYNTHESIZING INTRACELLULAR MAGNETIC NANOPARTICLES

M.V. Dzuba
Centre «Bioengineering», RAS, Moscow,
Russia, Prospect 60-Letia Oktyabrya 7/1,

Magnetosomes — intracellular magnetic nanoscale inclusions synthesized by the magnetotactic bacteria (MTB). The possible medical applications of bacterial magnetic nanoparticles — from magnetic resonance imaging to nanodiagnostics — were demonstrated in numerous studies.

The aims of our research is studying the diversity of magnetotactic bacteria in natural aquatic habitats and obtaining pure (axenic) culture of new MTB strains useful for biotechnological application. To achieve this goal we screened water and mud samples from several ponds: the Olkchovka river (Kislovodsk), Seliger lake (Tver region) and the Pshada river (Krasnodar region). As a result we isolated three strains of magnetotactic bacteria: SO-1 (from the Olkchovka), SP-1 (from the Pshada) и Sel-1 (from Seliger). All isolated bacteria are spiral-shaped cells, motile by flagella and able to accumulate up to 30 magnetosomes per cell. The size of mature magnetosome is about 50 nm. Cultivation conditions have been optimized for all new strains. Their phylogeny was investigated on the basis of 16S rRNA gene comparison. According to the results of phylogenetic analysis all strains belonged to the genus *Magnetospirillum*. Putatively SO-1 is the new strain of *M. magneticum*, SP-1 and Sel-1 are the new species of the genus *Magnetospirillum*.

Currently the research of physiological features of allocated strains proceeds. This will allow choosing the best strain for genetic manipulations in order for designing diagnostic kits based on modified magnetosomes.

АНТИМИКРОБНЫЕ НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫЕ КОМПОЗИЦИИ

Федотова А.В., к.т.н., Фролова Ю.В., Савченко Н.А., к.т.н.
Московский государственный университет пищевых производств,
109316, г. Москва, ул. Талалихина, дом 33

При разработки новых антисептических и дезинфецирующих материалов наиболее перспективным является использование достижений нанотехнологии, в частности применение наночастиц серебра, бактерицидные свойства которых были известны ещё с глубокой древности.

Целью данной работы явилась разработка состава антимикробного наноматериала и изучение его свойств.

В качестве объектов исследования использовали водную дисперсию сополимера винилацетата с дибутилмалеинатом, антимикробной добавкой выступал концентрат коллоидного раствора наночастиц серебра. На первом этапе исследования были подготовлены системы с различными концентрациями антимикробной добавки и изучено её влияние на коллоидно-химические свойства композиций. С увеличением концентрации добавки вязкость систем увеличилась, поверхностное натяжение латексных композиций снижалось. Затем были получены плёнки и изучались их эксплуатационные, санитарно-химические и токсикологические свойства.

Предельные деформационно-прочностные характеристики плёнок показали, что добавка не оказывает значительного влияния на прочностные свойства. Изучение санитарно-гигиенических, антимикробных и токсикологических свойств полученных плёнок показало, что содержание серебра в плёнках коррелирует с концентрацией в исследуемых вытяжках и по органолептическим оценкам водные вытяжки соответствуют требованиям безопасности.

Антимикробные исследования плёнок показали их бактерицидное действие против золотистого стафилококка, кишечной палочки и плесени.

Установлено, что материалы со встроенными в их структуру наночастицами серебра проявляют антимикробную активность по отношению к различным видам патогенной и условно патогенной микрофлоры. Бактерицидное действие пленок сохранялось в течение длительного времени.

THE ANTIMICROBIAL COMPOSITION OF NANOSTRUCTURED

A.V. Fedotova, PhD., Y.V. Frolova, N.A. Savchenko, PhD.
Moscow State University of Food Technologies,
109316, Moscow, Talalihina str., 33

The most promising is the usage of the nanotechnology achievements in the development of the new disinfectants and antiseptic materials. It's antibacterial properties, particular the usage of silver nanoparticles, have been known since antiquity.

The aim of this work was the development of the antimicrobial nanomaterials and the studying of their properties. An aqueous dispersion of a copolymer of vinyl acetate with dibutilmaleinatom was the objects of the study; an antimicrobial additive was the colloidal solution of the silver nanoparticles. The systems with different concentrations of antimicrobial additive were prepared at the first phase of the study, the effect of the compositions on colloid-chemical properties was studied. Additive concentration increasing increased the viscosity of the systems, the latex tension surface compositions decreased. Then the films were obtained and studied their operational, sanitary, chemical and toxicological properties.

Limit deformation-strength characteristics of the films showed that the additive has no significant effect on strength properties. The study of the sanitary-hygienic, antimicrobial and toxicological properties of the films showed that the silver content in the films is correlated with the concentration in the test extracts and according to sensory evaluation the aqueous extracts are safe. Antimicrobial study of the films has shown their bactericidal activity against Staphylococcus aureus, Escherichia coli and molds.

It is established that the materials with built-in structure of silver nanoparticles exhibit antimicrobial activity against different kinds of pathogenic and conditionally pathogenic microorganisms. The bactericidal effect of the films persisted for a long time.

О ПРИМЕНЕНИИ АУТОЛИТИЧЕСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ В НАНОДИАГНОСТИКЕ

Грибанов Г.А.
ГОУ Тверской государственный университет,
170100, г. Тверь, ул. Желябова, 33

Стремительное развитие в последние годы нанобиотехнологий (НБТ) заставляет по-новому оценить некоторые медико-биологические технологии. К ним относятся и аутолитические технологии, приоритет в разработке которых принадлежит РФ. Имея в виду, что большинство традиционно используемых в биохимической диагностике компонентов (глюкоза, липиды, разнообразные метаболиты, белки, ферменты и др.) имеют размеры 0,5 -10-100 нм, в настоящее время актуальной становится нанодиагностика (НД). Она позволяет более точно и полно анализировать метаболические нарушения при различных патологиях. Применяя аутолитические технологии для диагностических и прогностических целей были выявлены

ряд особенностей аутолитических изменений наноразмерных биомолекул в биологических жидкостях и тканях (глюкоза, мочевая кислота, креатинин, липиды, ряд белков, ферментов), связанных как с характером заболевания, состояния, полом, возрастом, проводимым лечением. Теоретической (методологической) основой таких технологий является представление об отсроченном характере действия, в динамике аутолитического процесса, патологических факторов, метаболитов, изменяющих молекулярную структуру белков, липидов, ферментов (денатурация, гидролиз). Известно, что при денатурации альбумина сыворотки крови его линейные размеры увеличиваются до 60-80 нм,. вместо 6-7 нм, что существенно меняет реологические характеристики крови .Не менее существенные сдвиги в структуре биомембран, липидома крови , организма в целом, проявляются при гидролизе фосфолипидов и других липидных компонентов биологических структур и жидких систем. Появление значительных количеств жирных кислот, лизокомпонентов нарушают не только кислотно — щелочное равновесие, но и структуру мембранных систем клеток и липопротеидов крови и тканей. Данные о количественных и качественных изменениях основных биохимических компонентов (биомолекул наноразмеров), полученных в динамике аутолитического процесса могут быть полезными для построения биохимической и молекулярно-биологической картины болезни у конкретного человека с целью проведения целенаправленной индивидуальной терапии, а также в дифференциальной нанодиагностике..

ON THE APPLICATION OF AUTOLYTIC TECHNOLOGIES IN NANODIAGNOSTIKS

Gribanov G.A.
GOW Tver State University,
170100, Tver, street. Zheliabova, 33

The rapid development in recent years, the nanobiotechnology (NBT), leads to reevaluate some of biomedical technologies. This includes autolytic technologies, priority in the development of which belongs to RUSSIA. Bearing in mind that most of the traditionally used in biochemical diagnostics components (glucose, lipids, proteins, metabolites, enzymes, etc.) have dimensions 0,5 -10 -100 nm, now becoming nanodiagnostika (ND). It allows you to more accurately and completely analyze metabolic violation in various pathologies. Using autolytic technologies for diagnostic and prognostic purposes identified a number of characteristics of autolytic change nano-biomolecules in biological fluids and tissues (glucose, uric acid, creatinine, lipids, a number of proteins, enzymes), connected to the nature of the disease, state, gender, age, conduct treatment. Theoretical (methodological) the basis of such technologies is the deferred nature of the actions, in the dynamics of the autolytic process, of pathological factors, of metabolites, that alter the molecular structure of proteins, lipids, enzymes (denaturing, hydrolysis). It is known that blood serum albumin denaturation its linear dimensions are increased to 60-80 nm instead of 6-7 nm, which significantly changes the rheological characteristics of blood. Equally essential changes in the structure of biomembranes, lipidom of bloods, the whole organism, with hydrolysis of phospholipids and other lipid components of biological structures and liquid systems. The appearance of considerable amounts of fatty acids, liysocomponents violate not only acid-alkaline equilibrium, but also the structure of the cell membrane systems and various-density lipoprotein levels of blood and tissues. Data on quantitative and qualitative changes of main biochemical components (biomolecules nanorazmery) in the autolytic process may be useful for constructing biochemical and molecular biological picture of disease in a person with a view to conducting targeted individual therapy, as well as in differential ND.

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОСТАТ-СПЕЦИФИЧЕСКОГО АНТИГЕНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ НА КРЕМНИЕВЫХ КАНТИЛЕВЕРАХ

Игнатенко О.В.[1], Рубцова М.Ю.[1], Преснова Г.В.[1], Григоренко В.Г.[1], Синицина О.В.[2], Горелкин П.В.[2], Яминский И.В.[2], Егоров А.М.[1]
[1]*Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва*
[2]*ЗАО «Центр перспективных технологий», Москва*

Разработан метод выявления простат-специфического антигена (ПСА) на кремниевых микрочипах, изготовленных на основе кантилеверов атомно-силового микроскопа. Определение антигена основано на измерении изгиба кантилеверной консоли в результате возникновения латеральных напряжений внутри слоя иммобилизованных антител при их взаимодействии с антигеном в проточной системе. Высокая чувствительность анализа обеспечивается регистрацией изгиба кантилеверной консоли с использованием лазерооптической системы.

Для ковалентной иммобилизации моноклональных антител, специфичных к простат-специфическому антигену, поверхность кремния модифицировали 3-аминопропилсилатраном либо 3-аминопропилтриэтоксисиланом. Были оптимизированы условия иммобилизации антител и их взаимодействия с ПСА на поверхности кантилеверов. Равномерность распределения и толщину слоя иммобилизованных антител контролировали методом атомно-силовой микроскопии. Плотность и равномерность распределения иммунных комплексов антител с антигеном на поверхности микрочипов оценивали методом сканирующей электронной микроскопии на электронном микроскопе SUPRA 40 (Carl Zeiss) с использованием наночастиц золота в качестве метки. В качестве контрольного использовали кантилевер с иммобилизованными неспецифическими антителами. Метод анализа на основе кантилеверов был апробирован с использованием сывороток крови с известным содержанием ПСА. Разработанный метод может быть основой для создания высокочувствительных детекторов онкомаркеров в сыворотке крови.

Работа выполнялась при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (Контракт 6.512.11.2265).

DETERMINATION OF PROSTATE-SPECIFIC ANTIGEN IN HUMAN SERUM USING SILICON CANTILEVERS

Ignatenko O.V.[1], Rubtsova M.Yu.[1], Presnova G.V.[1], Grigorenko V.G.[1], Sinitsyna O.V.[2], Gorelkin P.V.[2], Yaminsky I.V.[2], Egorov A.M.[1]
[1]*Department of Chemistry, Moscow State University, Moscow*
[2]*Advanced Technologies Center, Moscow*

A method for detection of prostate-specific antigen (PSA) on silicon microchips made of cantilevers for atomic force microscope was developed. Determination of antigen is based on measuring the bending of cantilever console in a result of lateral stress within the layer of immobilized antibodies in a course of interaction with an antigen in a flow system. High sensitivity of the analysis is provided by recording of cantilever bending with laser-optical system.

For covalent immobilization of monoclonal antibodies specific to prostate-specific antigen, the surface of silica was modified with 3-aminopropylsilatran or 3-aminopropyltrimethoxysilane. The conditions for immobilization of antibodies and their interaction with PSA on the surface of cantilevers were optimized. The uniformity of immobilized antibodies distribution and thickness of their layer was monitored by atomic force microscopy. The density and uniformity of immune complexes distribution on the surface of microchips was evaluated by scanning electron microscopy

with an electron microscope SUPRA 40 (Carl Zeiss) using gold nanoparticles as the label. A cantilever with immobilized nonspecific antibodies was used as a control. The method of analysis based on the cantilever was validated using a panel of human sera with known content of PSA. The developed method can be the basis for highly sensitive detectors of tumor markers in serum.

This work was supported by the Ministry of Education and Science (Contract 6.512.11.2265).

ИННОВАЦИОННЫЕ БИОНАНОТЕХНОЛОГИИ В ПРОИЗВОДСТВО

Иванов А.А.,
к.э.н., директор ООО «НИИ Бионанотех»
ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»,
420075, РТ, Казань, Научный городок-2

В «ФЦТРБ-ВНИВИ» создан научно-исследовательский институт нано- биотехнологий. В институте на основе проводимых научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ разрабатываются, производятся и выпускаются новые лекарственные средства. Уникальные научные исследования в институте нано- биотехнологий направлены на разработку и совершенствование методов и средств диагностики, профилактики и лечения при токсикозах, радиационных поражениях, особо опасных инфекционных заболеваниях и улучшение экологической обстановки в России.

Особую значимость нано- биотехнология приобретает в условиях техногенного загрязнения, где важными направлениями являются обеспечение токсикологической, радиационной, биологической безопасности и улучшение экологической ситуации. Среди главных задач природоохранной биотехнологии определена и экологическая био- и нанотехнология, разрабатывающая экологически безопасные, и, в тоже время, ресурсосберегающие, дающие народному хозяйству высокий эффект в оздоровлении окружающей природы от техногенных, сельскохозяйственных и бытовых отходов. Работы проводимые в институте нано- биотехнологий показывают, что подбором и вселением организмов водных и почвенных экосистем можно интенсифицировать биологическую очистку водоемов и технологических стоков, загрязненных нефтью, биоцидами, удобрениями и разнообразными солями в несколько десятков раз.

В настоящее время научно-исследовательский институт используя методы био- и нанотехнологии работает по многим направлениям разрабатывает и производит диагностические наборы, средства профилактики и лечения, направленные на обеспечение токсикологической, радиационной и биологической безопасности Российской Федерации, а также биологические препараты, для улучшения экологической обстановки в стране.

IMPLEMENTATION OF BIOTECHNOLOGICAL INNOVATIONS IN PRODUCTION

A.A.Ivanov,
director of Limited Liability Company "NII Bionanotech", PhD in Economy
Federal State Non-Profit Organization
"Federal Center for Toxicological, Radiation,
and Biological Safety",
2-Nauchny gorodok, Kazan Tatarstan Russia 420075

In "FCTRBS-ARRVI" scientific research institute nano — biotechnologies was created. The Institute develops and produces novel pharmaceutical drugs basing on scientific investigations and experimental and evaluation studies performed. The aim of the unique scientific studies carried out at the

Institute is to develop and improve detection, prevention, and treatment means at toxicosis and radiation injuries, particularly dangerous infections, and improvement the environment in Russia.

Nano- and biotechnology becomes even more important at technogenic contamination when its crucial trends are to provide toxicological, radiation, and biological safety as well as environment improvement. One of the main tasks of nature preserving biotechnology is the environmental bio- and nanotechnology developing environmental friendly and resource-saving methods that are highly efficient in prevention the nature from technogenic, agricultural discharges and domestic wastes. The studies performed at the Institute demonstrate that introduction the selected microorganisms into water and soil ecosystems allows to intensify biological purification of water and technological discharges contaminated with petroleum, biocides, fertilizers, and various salts for decimal fold.

Using bio- and nanotechnological methods our research Institute develops and produces diagnostic kits, prevention and treatment means to provide toxicological, radiation, and biological safety in the Russian Federation, as well as developing biological preparations to improve the environment in the country.

ИНГИБИТОРЫ АНГИОТЕНЗИН-ПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА В СОСТАВЕ НАНОЧАСТИЦ КАК ПЕРСПЕКТИВНОЕ СРЕДСТВО ДЛЯ СНИЖЕНИЯ ВНУТРИГЛАЗНОГО ДАВЛЕНИЯ

Никольская И.И.[1], **Шимановская Е.В.**[1], **Безнос О.В.**[2], **Павленко Т.А.**[2], **Биневский П.В.**[1], **Кабанов А.В.**[3], **Чеснокова Н.Б.**[2], **Клячко Н.Л.**[1], **Кост О.А.**[1]

[1]*Химический факультет МГУ имени М.В.Ломоносова, Москва*

[2]*ФГУ Московский НИИ глазных болезней им. Гельмгольца, Москва*

[3]*Center for Drug Delivery and Nanomedicine, University of Nebraska, Nebraska*

Глаукома – широко распространенное заболевание и основная причина слепоты у лиц старше 40 лет. Больные глаукомой должны постоянно получать препараты, снижающие внутриглазное давление (ВГД) и поэтому важно, чтобы эти препараты действовали в течение длительного времени. Ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) являются перспективными препаратами для лечения глаукомы, т.к. действуют на основные патогенетические факторы возникновения этого заболевания: они снижают ВГД, оказывают нейропротекторное и противоишемическое действие. В настоящей работе исследовано влияние введения ингибиторов АПФ в активной форме и в виде проформы в состав кальций-фосфатных наночастиц (CaPh-наночастицы) с радиусом менее 350 нм на эффективность снижения ВГД у кроликов. Условия получения частиц подбирали, варьируя температуру и pH среды, а также способ введения ингибитора. Размеры частиц определяли методом динамического светорассеяния. Показано, что ингибиторы АПФ поступают внутрь частиц и удерживаются ими. В экспериментах *in vivo* определяли величину снижения ВГД у нормотензивных кроликов под действием лекарственных препаратов в растворе и включенных в CaPh-наночастицы. Максимальное снижение ВГД и в опытных, и в контрольных группах отмечалось через 2-3 ч после однократной инстилляции препаратов, однако в группах, получавших лекарственные вещества в составе CaPh-наночастиц, величины снижения ВГД вдвое превышали таковые в контрольных группах. Более того, если в контрольных группах ВГД через 4 ч возвращалось к норме, то в опытных группах оно все еще оставалось достоверно сниженным и через 4-6 часов после инстилляции. Таким образом, внедрение в наночастицы достоверно увеличивает и продлевает гипотензивный эффект ингибиторов АПФ.

INHIBITORS OF ANGIOTENSIN-CONVERTING ENZYME WITHIN NANOPARTICLES AS EFFECTIVE DRUGS FOR THE DECREASING OF INNER OCULAR PRESSURE

Nikolskaya I.I.[1], Shimanovskaya E.V.[1], Beznos O.V.[2], Pavlenko T.A.[2], Binevski P.V.[1], Kabanov A.V.[3], Chesnokova N.B.[2], Klyachko N.L.[1], Kost O.A.[1]

[1]*Chemistry Faculty, Moscow State University, Moscow*

[2]*Helmholtz Institute for Eye Diseases, Moscow*

[3]*Center for Drug Delivery and Nanomedicine, University of Nebraska, Nebraska*

Glaucoma is a wide-spread disease and the main reason for the blindness of patients above 40. Glaucoma patients should receive drugs decreasing inner ocular pressure (IOP) permanently, this is why these drugs should be of a prolonged action. Inhibitors of angiotensin-converting enzyme (ACE) can be considered as perspective drugs for the treatment of glaucoma, because they act on the main pathogenetic factors causing this disease: they decrease blood pressure, exhibit both neuroprotective and anti-ischemic properties. Here, we investigated the effect of ACE inhibitors (in active form and as a pro-form) within calcium phosphate nanoparticles (CaPh-nanoparticles) with radius less than 350 nm on the inner ocular pressure of rabbits. The properties of CaPh-nanoparticles were changed by changing pH values and temperature of the media, as well as by changing the way of inhibitor entrapment. The sizes of particles were determined by dynamic light scattering. It was shown that ACE inhibitors were included within CaPh-nanoparticles and were retained there. In the experiments in vivo, we determined the influence of ACE inhibitors in solution and within CaPh-nanoparticles on the values of IOP of normotensive rabbits. Maximal decrease of IOP was detected at 2-3 hours after single instillation of ACE inhibitors in both cases, however, the value of the effect caused by ACE inhibitors within CaPh-nanoparticles appeared to be twice bigger than the one caused by ACE inhibitor in solution. Moreover, IOP in control groups returned to normal values within 4 hours after instillation, whereas IOP in experimental groups was decreased even after 4-6 hours.

Thus, the inclusion of ACE inhibitors within CaPh-nanoparticles increases the affect of these drugs and prolongates their hypotensive action.

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВОВИРУСНОЙ АКТИВНОСТИ БИОКОМПОЗИТОВ, СОСТОЯЩИХ ИЗ АДРЕСНЫХ ДНК И ПЕПТИДИЛ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ, ИММОБИЛИЗОВАННЫХ НА TIO_2-НАНОЧАСТИЦАХ

Мазуркова Н.А.[1], Макаревич Е.В.[1], Ибрагимова Ж.Б.[1], Мазурков О.Ю.[1], Зарытова В.Ф.[2]

[1]*Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»),*
630559, Новосибирская область, Новосибирский район, р.п. Кольцово, а/я 257.

[2]*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,*
630090, г. Новосибирск, пр. акад. Лаврентьева, д. 8.

Одной из важнейших проблем современной биологии и фундаментальной медицины является поиск путей к адресному воздействию на определенные мишени (нуклеиновые кислоты и белки) в эукариотических клетках. Возможность реализации подходов доставки лекарственных средств, использующих катионные липиды, комплексы полиэтиленамина и хитозана, лидерные пептиды, невирусные векторы, липосомы продемонстрирована в ряде публикаций, однако проблема слабого проникновения олигонуклеотидов и их аналогов в клетки пока остается до конца не решенной. В последнее время используют наночастицы в качестве «нановекторов», нагруженных лекарствами или репортерными группами.

В данной работе исследована противовирусная активность нанокомпозитов TiO_2-PL-DNA/PNA, созданных на основе наночастиц диоксида титана, содержащих фрагменты нуклеиновых кислот и их аналогов (пептидил нуклеиновых кислот, PNA), на культуре клеток MDCK, инфицированной вирусом гриппа человека A/H3N2. Показано, что нанокомпозит, несущий фрагмент PNA, комплементарный участку вирусной РНК, обладает высокой противовирусной активностью в отношении вируса гриппа (степень подавления вируса – 99.8%), в то время как в случае некомплементарной последовательности PNA нанокомпозит вообще не проявил противовирусной активности. Противовирусная активность контрольного образца PL-DNA/PNA (не связанного с TiO_2-наночастицами) оказалась существенно ниже по сравнению с целевым нанокомпозитом: степень подавления вируса составила 60%.

Таким образом продемонстрировано, что предложенный нанокомпозит обладает высокой противовирусной активностью в отношении вируса гриппа А.

STUDIES OF ANTIVIRAL ACTIVITY OF BIOCOMPOSITES COMPOSED OF TARGETED DNA AND PEPTIDIL NUCLEIC ACIDS IMMOBILIZED ON TIO_2-NANOPARTICLES

Mazurkova N.A.[1], **Makarevich E.V.**[1], **Ibragimova Zh.B.**[1], **Mazurkov O.Yu.**[1], **Zarytova V.F.**[2]
[1]*Federal State-financed Science Institution*
"State Research Center for Virology and Biotechnology "Vector",
630559, Kol'tsovo, Novosibirskaya oblast, Russia
[2]*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine,*
Siberian Branch of Russian Acadeemy of Science,
630090, Novosibirsk, Lavrentjev pr., 8

Search of pathways for targeted influence on nucleic acids and proteins in eukaryotic cells is one of the important problems in modern biology and fundamental medicine.

Possibility of drug delivery using cationic lipids, complexes of polyetilenamine and chitozan, leader peptides, non-viral vectors and liposomes have been published, however problem of week penetration of oligonucleotide and their analoges into cells was not resolved yet. Usage of various nanoparticles loaded with drugs or reporter groups was also reported in last decade.

Antiviral activity of nanocomposites TiO_2-PL-DNA/PNA based on titan dioxide nanoparticles and containing fragments of nucleic acids and their analogs (peptidil nucleic acids, PNA) was examined on MDCK cell culture infected by human influenza virus A/H3N2. High antiviral activity (suppression of virus was 99.8%) was demonstrated by the nanocomposite carried fragment of PNA complementary to an area of virus RNA. In contrast, no signs of antiviral activity were observed in the case on non-complementary PNA of the nanocomposite. The control compound PL-DNA/PNA did not linked with TiO_2-nanoparticles showed low antiviral activity: the suppression of virus was 60%. The obtained data clearly demonstrate high antiviral activity of developed nanocompsite against influenza A virus.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНСТАНЫ ДИССОЦИАЦИИ ИОНОГЕННОЙ ГРУППЫ СТАБИЛИЗАТОРА НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА

Орджоникидзе К.Г.[2], **Егорова Е.М.**[1,3]
[1]*НПК «НАНОМЕТ»,*
Москва, ул. Долгоруковская ,д.33, стр.8
[2]*Институт общей генетики им. Н.И.Вавилова РАН,*
Москва, Губкина, 3, chiris.ordj@gmail.com;
[3]*Институт общей патологии и патофизиологии РАМН,*
Москва, Балтийская,8, emenano@mail.ru

Для выявления роли электростатических взаимодействий в биологических эффектах наночастиц металлов в водных средах измеряют ζ-потенциал мицелл, содержащих наночастицы, который далее можно использовать для качественных выводов или количественной оценки плотности их поверхностного заряда по известным уравнениям теории двойного электрического слоя применительно к границе мембрана/раствор электролита. Как было показано ранее, для определения плотности поверхностного заряда мембран (или мицелл), несущих ионогенные группы, применим также другой подход – электрохимический адсорбционный метод — позволяющий определить истинное значение pK_i (K_d) ионогенных групп [1]. С помощью адсорбционного метода нами определено pK_i сульфогруппы анионного ПАВ (АОТ), стабилизирующего наночастицы металлов, получаемых методом биохимического синтеза; в водном растворе наночастицы присутствуют в оболочке из бислоя АОТ [2], внешняя поверхность которого несет отрицательный заряд вследствие диссоциации SO_3^- групп. Величина pK_i сульфогруппы АОТ была найдена из подгонки теоретических зависимостей суммы изменений концентраций протонов ($\sum\Delta C_{H^+}$) от ионной силы при разных заданных pK_i к сумме измеренных изменений pH. Найденное значение pK_i (5.15±0.30) было использовано для расчета плотности поверхностного заряда мицелл по уравнениям теории Гуи-Чапмена. Отсюда было получено значение σ = 10.76 мкКл/см^2. При площади на молекулу 50 А^{o2} это приблизительно соответствует ионизации трети молекул АОТ на поверхности мицеллы.

Литература:

1. Egorova E.M.Topolev V.V.//J. Electroanalyt.Chem. 1994. V.379, P. 479.
2. Егорова Е.М., Ревина А.А., Румянцев Б.В.и др.// Журнал прикладной химии. — 2002. — Т.75. — С.1620 - 1632.

DETERMINATION OF THE DISSOCIATION CONSTANT OF IONOGENIC GROUP FOR SILVER NANOPARTICLES STABILIZER

Ordzhonikidze K.G[2], **Egorova E.M.**[1,3]
[1]*RDC «NANOMET», Moscow, Dolgorukovskaya st., 33, building 8.*
[2]*Vavilov Institute of General Genetics RAS,*
Moscow, Gubkina st., 3, chiris.ordj@gmail.com
[3]*General Pathology and Pathophysiology Institute RAMS,*
Moscow, Baltiiskaya st., 8, emenano@mail.ru

To elucidate the contribution of electrostatic interactions in the biological effects of nanoparticles, ζ-potential of micelles containing nanoparticles is measured, which can be used further for qualitative conclusions or quantitative estimation of surface charge density according to the well-known equations of electrical double layer theory adjusted to the membrane/electrolyte solution interface. As shown earlier, for the estimation of surface charge density of membranes (or micelles) carrying ionic groups,

another approach can be used – namely, the electrochemical adsorption method — which allows to find the true value of ionic group dissociation constant pK_i (K_d) [1].

In our study the adsorption method was used for estimating the pK_i of SO_3^- group of the anionic surfactant (AOT), used by us as a stabilizer of metal nanoparticles obtained by means of the biochemical synthesis. In water solutrion the nanoparticles are stabilized by the AOT bilayer [2]; its external surface carries negative charge due to the dissociation of SO_3^- groups.

The pK_i value of AOT sulfo group was found by fitting the theoretical curves (sums of the proton concentration changes, $\Sigma\Delta C_{H^+}$, vs ionic strength) calculated for different pK_i values, to the measured sums of pH changes . The result obtained is 5.15±0.30; it was used further to calculate the surface charge density (σ) of micelles from the Gouy – Chapmen theory. It was found to be 10.76 μCoul/cm^2. Assuming the area per molecule to be 50 A^{o2} , this σ value approximately corresponds to the ionization of 1/3 of AOT molecules on the micelle surface.

References:

1. Egorova E.M., Topolev V.V.//Journal of Electroanalytical Chemistry. 1994. V.379, P. 479.
2. Egorova E.M., Revina A.A., Rumyantzev B.V.et al.// Journal of Applied Chemistry (Russian). 2002. V.75. P.1620 - 1625.

МЕТОД ИДЕНТИФИКАЦИИ ГЕНОВ НА КРЕМНИЕВЫХ МИКРОЧИПАХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА В КАЧЕСТВЕ МЕТКИ

Преснова Г.В.[1], **Рубцова М.Ю.**[1], **Преснов Д.Е.**[2,3], **Григоренко В.Г.**[1], **Игнатенко О.В.**[1], **Егоров А.М.**[1]

[1]*Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва*
[2]*НИИ Ядерной Физики им. Д.В. Скобельцына, МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва*
[3]*Физический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва*

Разработан метод выявления олигонуклеотидов и ДНК на кремниевых микрочипах методом сканирующей электронной микроскопии с использованием наночастиц золота в качестве метки. Олигонуклеотидные зонды были ковалентно иммобилизованы на микрочипах из кремния. В качестве метки ДНК использовался биотин, который выявлялся конъюгатом стрептавидина с наночастицами золота. Размер наночастиц составлял 27±3 нм. В результате взаимодействия олигонуклеотидов комплементарной структуры на поверхности микрочипа образовывались дуплексы ДНК, меченые наночастицами золота через комплекс биотин-стрептавидин. Их выявляли методом сканирующей электронной микроскопии на электронном микроскопе SUPRA 40 (Carl Zeiss). Определение числа дуплексов ДНК на поверхности проводили подсчетом числа наночастиц золота в зонах микрочипа. Для обеспечения высокой воспроизводимости анализа были оптимизированы условия регистрации результатов взаимодействия и подсчета наночастиц. Площадь фрагмента зоны ячейки микрочипа для подсчета числа наночастиц составляла от 1,7 до 30 мкм^2. В качестве контроля использовали подсчет наночастиц в зоне такого же размера, не содержащей иммобилизованных зондов, либо содержащей иммобилизованные зонды некомплементарной структуры. Были продемонстрированы преимущества регистрации единичных взаимодействий олигонуклеотидов на поверхности микрочипов по сравнению с ферментативной колориметрической детекцией метки-биотина. Было установлено, что разработанный метод обладает более высокой чувствительностью и характеризуется лучшим соотношением сигнал/фон. Разработанный метод может быть основой для создания высокочувствительных молекулярных детекторов ДНК.

Работа выполнялась при финансовой поддержке РФФИ (11-02-01531).

METHOD FOR IDENTIFYING GENES ON SILICON MICROCHIPS USING GOLD NANOPARTICLES AS LABELS

Presnova G.V.[1], Rubtsova M.Yu.[1], Presnov D.E.[2,3], Grigorenko V.G.[1], Ignatenko O.V.[1], Egorov A.M.[1]
[1]*Chemistry Faculty, M.V.Lomonosov Moscow State University, Moscow*
[2]*Skobeltsyn Institute of Nuclear Physics, M.V.Lomonosov Moscow State University, Moscow*
[3]*Faculty of Physics, M.V.Lomonosov Moscow State University, Moscow*

A method for identifying oligonucleotides and DNA on silicon microchips using scanning electron microscopy and gold nanoparticles as the label was developed. Oligonucleotide probes were immobilized covalently on silicon microchips. Biotin molecules were used as labels for oligonucleotide probes, and they were revealed with streptavidin conjugated to gold nanoparticles. The size of the gold nanoparticles was 27 ± 3 nm. Duplexes of DNA labeled with gold nanoparticles via biotin-streptavidin complex were formed on a surface of the microchips in a result of complementary interaction of oligonucleotides. They were detected by scanning electron microscopy with an electron microscope SUPRA 40 (Carl Zeiss). Determining the number of DNA duplexes was performed by counting the number of gold nanoparticles in different areas of the microchip. Method of nanoparticles counting in each spot of the chip was optimised to provide high reproducibility of the detection technique. To calculate the number of DNA duplexes the fragments of 1.7 to 30 μm^2 area were used. Spots not containing immobilized probes or containing immobilized probes with non-complementary structure were used as control spots. The advantages of the registration of number of individual interactions on the surface of microchip were shown in a comparison with the enzymatic colorimetric detection of biotin label. It was found that the method based on nanoparticles counting provides higher sensitivity and better signal/background ratio. The method developed can be the basis for highly sensitive molecular detectors of DNA.

The work was supported by the RFBR (11-02-01531).

ПРИМЕНЕНИЕ АППАРАТА ТЕНЗОРНОЙ АЛГЕБРЫ В МЕДИЦИНСКИХ НАНОБИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ РАЗРАБОТКАХ

Раткин Л.С.
ООО «АРГМ»,
119049, г. Москва, Ленинский проспект, д. 4, стр. 1А

Автором разработан метод, позволяющий в медицинских нанобиотехнологических разработках использовать аппарат тензорной алгебры, например, при моделировании процессов на наноуровне. Метод, в частности, позволяет уменьшить время построения моделей и снизить пороговые значения для технических параметров вычислительных систем, применимых для проведения расчетов. На международной конференции, посвященной перспективам построения интегрированной системы, объединяющей научные исследования с образовательной и инновационной деятельностью, проведенной под патронажем Российской академии наук и Российской академии образования в октябре 2011 года, разработка была удостоена диплома первой степени.

APPLICATIONS OF TENSOR ALGEBRA FOR MEDICAL NANOBIOTECHNOLOGICAL RESEARCHES

Rathkeen L.S.
«ARGM»,
119049, Moscow, Leninskyi prospect, 4, bldg 1A

Author designed tensor algebra method for medical nanobiotechnological researches, for example, for nanoscale process modeling. Method helps to reduce some time for model constructing and makes possible to decrease the meanings of parameters of calculating systems. On international conference, which was organized by Russian academy of sciences and Russian academy of education and was intended for prospective of development of integrated system of science, education and innovations (October 2011) this work was awarded on the First stage diploma.

АНТИСЕПТИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ И ТЕСТ-СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ Ag И Au, СТАБИЛИЗИРОВАННЫХ СОПОЛИМЕРАМИ МАЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Самойлова Н.А., Курская Е.А., Краюхина М.А., Пискарев В.Е., Аскадский А.А., Ямсков И.А.
Учреждение Российской Академии Наук
Институт элементоорганических соединений им. А.Н.Несмеянова РАН,
Москва, Россия, 119991, ул. Вавилова, д. 28

Для получения эффективных антисептических материалов, а также гликонаночастиц для нанодиагностики предложены стабилизированные и функционализированные наночастицы (НЧ) Ag и Au, синтезированные на основе коммерчески доступных или легко синтезируемых полимеров регулярной структуры – сополимеров малеиновой кислоты.

Синтез НЧ осуществляли в водной среде восстановлением $NaBH_4$ полимерных солей ионов металлов. Показано, что для стабилизации НЧ, обладающих необходимым набором свойств (устойчивостью в водных средах, оптимальным размером наночастиц и т.д.), в случае НЧ Ag предпочтительны амфифильные сополимеры малеиновой кислоты, а в случае НЧ Au — сополимеры малеиновой кислоты, содержащие меркаптоалкильные лиганды.

Остатки карбоксильных групп звена малеиновой кислоты полимерных оболочек НЧ легко трансформировались при термической обработке в реакционноспособные ангидридные группы, которые в мягких условиях в водной среде реагировали с гликосинтонами (β-глицилгликозиламинами) с получением гликонаночастиц Ag и Au для использования в нанодиагностике.

Предложенные комплексы стабилизированного Ag применялись для получения наполненных пористых полимерных гидрогелевых и пленочных композиций с регулируемыми прочностными и диффузионными характеристиками, ранозаживляющим эффектом, антисептическими свойствами [1]. В частности, фунгицидная активность нанокомпозитов серебра проявлялась при концентрации 10 ppm.

[1]. Аскадский А.А., Курская Е.А., Самойлова Н.А., Ямсков И.А.Композиция в качестве бактерицидного средства, способ получения материала на ее основе и макропористый бактерицидный материал на основе данной композиции. RU 2404781 (C1) от 23.07.2009.

ANTISEPTIC MATERIALS AND TEST SYSTEMS BASED ON Ag AND Au NANOPARTICLES STABILIZED WITH MALEIC ACID COPOLYMERS

Samoilova N.A., Kurskaya E.A., Krayuhina M.A., Piskarev V.E., Askadsky A.A., Yamskov I.A.

A.N.Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds Russian Academy of Sciences, 119991, Moscow, Vavilova str., 28, Russia

Stabilized and functionalized nanoparticles (NPs) of Ag and Au were proposed for preparation of antiseptic materials, and test systems in nanodiagnostics. NPs were prepared using maleic acid copolymers.

The NPs were prepared by $NaBH_4$ reduction of metal polymeric salts in water. It was shown that for stabilization of AgNPs having desired properties (stability in water, optimum size, and biological activity), the amphiphilic maleic acid copolymers are preferable. Maleic acid copolymers containing mercaptoalkyl ligands were most preferable for gold NPs stabilization.

The carboxylic group of maleic acid residues of NPs polymer covering were easily transformed thermally to reactive anhydride groups affording possibility of mild conjugation of amino groups of different organic compaunds, or biopolymers in aqueous solution. This approach was used for preparation of Ag and Au glyconanoparticles (from β-glycylglycosylamines) which may applied in nanodiagnostics.

The Ag NPs were used for preparation of filled porous polymeric hydrogels and films with controlled strength and diffusive properties, wound repaire effect, and antiseptic properties [1]. Thus, fungicidic activity of Ag NPs-containing composites was shown at 10 ppm.

[1]. Askadsky A.A., Kurskaya E.A., Samoilova N.A., Yamskov I.A.A method of preparation of bactericidal substance, and macroporous matererial based on this composition. RU 2404781 (C1), 23.07.2009.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ КОСМЕТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА В СИСТЕМЕ IN VITRO

Шестопалова Е.М., Рожков А.А., Рожкова О.Ю., Хрипко Ю.И.

ООО Инновационный центр «Вектор»
тел/факс (383)3061460, почтовый адрес Россия,
Новосибирская обл., Новосибирский р-н,
р.п. Кольцово, Технопарковая ул., 1, оф. 207

Приоритетной задачей современной косметологии является создание высокотехнологичных косметических средств с глубокой проницаемостью компонентов препарата, пролонгированным действием и регулируемым высвобождением действующих веществ композиции. Использование натуральных полимеров входящих в состав кожи обладает рядом преимуществ, определяющих перспективность их использования в качестве векторов доставки. В связи с этим цель работы исследование эффективности и токсичности косметических композиций на основе технологии «Translucent skin».

Гели Hyaluron Day и Hyaluron Night были исследованы при помощи атомно-силовой микроскопии. Показано, что в состав препарата входят частицы с различной величиной, варьирующей от 20 до 500 нм. Предполагается, что каждый размер частиц, содержит в своем составе различные компонент косметической композиции. Поскольку проницаемость препарата через слои кожи, зависит от его размеров, это означает направленное воздействие компонентов косметической композиции на слои и структуры кожного покрова. Оба

препарата были проверены на токсичность по отношению к культурам клеток Vero и культуре клеток фибробластов кожи человека. Токсический эффект препаратов отслеживали по их цитопатическому действию на монослой клеток. Показано, что используемые максимальные концентрации 4% являются нетоксичными для культур клеток. Далее проводилось исследование эффективности восстановления монослоя культуры клеток фибробластов, обработанного УФ-излучением в течение 1 часа, концентрация обоих препаратов составляла 1%. Показано, что при использование обоих препаратов в течение 72 часов приводит к восстановлению монослоя клеток, тогда как в культуре клеток, без использования препарата наблюдается дегенерация монослоя и цитопатический эффект УФ-излучения. Таким образом, нами показан ультраструктурный состав, безвредность и эффективность косметологических средств производства ООО ИЦ «Вектор»

STUDY OF THE EFFICIENCY AND SAFETY OF A COSMETIC PREPARATION IN VITRO

Shestopalova E.M., Rozhkov A.A., Rozhkova O.A., Khripko Yu.I.
"Vector" Innovation Center Ltd.

The creation of high-technology cosmetics with deep penetrability of components, prolonged action, and controlled release of active components is a priority problem of modern cosmetology. The use of natural polymers of the skin has some advantages determining their promise as delivery vectors. This is why the purpose of this paper is to study the efficiency and toxicity of cosmetics based on the 'translucent skin' technology.

The Hyaluron Day and Hyaluron Night gels were studied using atomic force microscopy. It was shown that the preparation compositions include particles of sizes varying from 20 to 500 nm. Each particle with direct size is assumed to include different components of the cosmetic composition. Since the preparation penetrability through the skin layers depends on its size, the cosmetic composition components have a directed action on the layers and structures of the cutaneous covering. The toxicity of the both preparations with respect to Vero cell cultures and the human skin fibroblast cell culture was examined. The toxicity of the preparations was determined according to their cytopathic action on the cell monolayer. The maximum 4% concentrations used were shown to be non-toxic for cell cultures. Then, the efficiency of recovery of the fibroblast cell culture monolayer subject to the action of UV radiation for 1 hour was investigated. The concentration of each preparation was 1%. It was shown that the use of both preparations for 72 hours results in the cell monolayer recovery, whereas in the cell culture not treated with the preparations the monolayer degeneration and the cytopathic effect of UV radiation were observed. Thus, an ultra-structural composition, safety, and efficiency of the "Vector" IC cosmetics have been demonstrated.

НОВЫЙ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНЫЙ МЕТОД СКРИНИНГА АКТИВНОСТИ ЦЕЛЛОБИОЗОДЕГИДРОГЕНАЗЫ, ОСНОВАННЫЙ НА ОБРАЗОВАНИИ *IN SITU* БЕРЛИНСКОЙ ЛАЗУРИ

Васильченко Л.Г.[1], **Людвиг Р.**[2], **Ершевич О.П.**[1], **Хальтрих Д.**[2], **Карапетян К.Н.**[1], **Рабинович М.Л.**[1]

[1]*Институт биохимии имени А.Н. Баха Российской Академии Наук, Ленинский проспект, 33-2, 119071, Москва, Российская Федерация*

[2]*Университет Природных Ресурсов и Прикладных Естественных Наук, улица Г. Менделя 33, 1180 Вена, Австрия*

Целлобиозодегидрогеназа (ЦДГ), внеклеточная грибная оксидаза флавоцитохромовой природы, специфически окисляющая целлоолигосахариды и лактозу до соответствующих δ-лактонов, представляет значительный практический интерес для биоэлектроники. Способность ЦДГ аскомицетов осуществлять прямой перенос электронов с глюкозы на анод биоэлектрохимической ячейки в физиологических условиях без существенного образования высокотоксичных перекиси и супероксида делает этот фермент очень перспективным в плане применения в биотопливных элементах наноустройств, имплантируемых непосредственно в кровеносные сосуды или ткани.

Был разработан высокоэффективный метод скрининга ЦДГ, основанный на образовании берлинской лазури in situ в присутствии целлобиозы, $K_3[Fe(CN)_6]$ (феррицианида), и ионов Fe3+. Метод можно использовать для скрининга грибных культур, активно растущих на плотной среде в чашках Петри, или для проверки супернатантов культур в 96-луночных планшетах в аэробных условиях. При этом ни другие оксидоредуктазы (пираноза дегидрогеназа, ФАД-зависимая глюкозодегидрогеназа, глюкозооксидаза), ни лакказа не мешают определению активности ЦДГ данным методом. Предложенный метод является более селективным, чем общепринятая методика скрининга активности ЦДГ грибных культур, основанная на восстановлении 2,6-дихлорфенол-индофенола или хинона, которое может полностью ингибироваться примесями лакказы. Более того, разработанная методика позволяет отличать полноразмерную ЦДГ от ее усеченных форм, которые не способны к прямому переносу электронов, и является более дешевой, чем методика, скрининга, основанная на способности полноразмерного фермента к восстановлению цитохрома cyt c3+ в присутствии целлобиозы или лактозы. Эти преимущества делают разработанный метод перспективной альтернативой существующим техникам скрининга ЦДГ.

A NOVEL HIGH-THROUGHPUT SCREENING ASSAY FOR CELLOBIOSE DEHYDROGENASE ACTIVITY BASED ON *IN SITU* FORMATION OF PRUSSIAN BLUE

Vasilchenko L.G.[1], **Ludwig R.**[2], **Yershevich O.P.**[1], **Haltrich D.**[2], **Karapetyan K.N.**[1], **Rabinovich M.L.**[1]

[1]*A.N. Bach Institute of Biochemistry, Russian Academy of Sciences, Leninsky Prospect, 33-2, 119071, Moscow, Russian Federation*

[2]*The University of Natural Resources and Applied Life Sciences, Gregor Mendel Strasse 33, 1180 Wien, Austria,*

Cellobiose dehydrogenase (CDH), extracellular fungal flavocytochrome specifically oxidizing cellooligosaccharides and lactose to corresponding δ-lactones by a variety of electron acceptors, is of important practical interest for bioelectronics. The ability of ascomycetous CDHs to transfer electrons directly from glucose to the anode of a bioelectrochemical cell under physiological conditions without substantial formation of highly toxic peroxide or superoxide makes these enzymes very promising

for application in biofuel cells implantable nanodevices for direct application in blood vessels or tissues.

A selective high-throughput screening assay for CDH was developed. It is based on Prussian Blue (PB) in situ formation by CDH in the presence of cellobiose, $K_3[Fe(CN)_6]$ (ferricyanide), and Fe3+ ions. The assay can be applied on active growing cultures on agar plates or on fungal culture supernatants in 96-well plates under aerobic conditions. Neither other carbohydrate oxidoreductases (pyranose dehydrogenase, FAD-dependent glucose dehydrogenase, glucose oxidase) nor laccase interfered with CDH activity in this assay. Thus this method of screening is more selective then wide spread routine screening of CDH activity in the fungal strains with 2,6-dichlorophenol indophenol or quinone reduction that can be completely masked by contaminating laccases. Further-more, this method gives an opportunity to distinguish intact CDHs from their truncated DH domains, which do not support the directly electrons transfer and is less expensive than the one based on the ability of the CDH holoenzyme to reduce cyt c3+ with cellobiose or lactose. This makes the developed assay a promising alternative to the existing screening techniques for CDHs.

СЕКЦИЯ 6. «ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ БИОТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ВЕТЕРИНАРИИ» SECTION 6 "PHARMACEUTICAL BIOTECHNOLOGY IN VETERINARY MEDICINE"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ ORAL REPORTS

НАУЧНОЕ ОБОСНОВАНИЕ СОЗДАНИЯ И РАЗВИТИЯ РЕГИОНАЛЬНЫХ БИОФАРМПРЕДПРИЯТИЙ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ АПК РФ

Самуйленко А.Я., Беро И.Л., Гринь С.А., Еремец В.И., Раевский А.А., Пухова Н.М.
ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности» РАСХН, 141142.
Московская область. Щелковский р-н, п.Биокомбината, Россия

Промышленная биотехнология охватывает многие сферы сельскохозяйственной отрасли, начиная от массового производства продуктов питания и лекарственных средств до новых методов диагностики, позволяющих определить риск возникновения заболеваний. Сегодня половина всех патентуемых в мире фармпрепаратов являются продуктами биотехнологии. Трудно переоценить научное и экономическое значение данной отрасли. Правительства ведущих стран Европы и Азии разработали государственные программы поддержки биотехнологических компаний и инвестируют в них сотни миллиардов долларов, причем 2/3 средств отводится на НИОКР. Для примера, Япония, делая ставку на практическое использование научно-технических разработок, закупку лицензий и патентов, подготовку специалистов и расширение собственных производств, заняла одно из ведущих мест в мире по уровню развития биотехнологии.

В России биотехнология в производстве фармпрепаратов для животных не достигла желаемого уровня, несмотря на то, что разработано множество современных высокоэффективных лекарственных средств. Анализ показал, что из 70 наименований отечественных пробиотиков, выпускаются в ограниченном количестве не более 10, хотя потребность составляет сотни тысяч тонн в год.

Исправить ситуацию можно путем тесной координации научных разработок НИИ, модернизации существующих биопредприятий АПК и создания сети новых региональных минизаводов.

Имеющийся потенциал отечественной науки при эффективной государственной поддержке, разработка и проведение мероприятий по восстановлению и развитию биологической промышленности, мониторинговые и маркетинговые исследования рынка и рациональное размещение биозаводов с учетом экономической целесообразности позволят поднять производство отечественных биофармпрепаратов на современный уровень, коммерциализировать научные разработки и повысить эффективность АПК России.

SCIENTIFIC GROUND OF CREATION AND DEVELOPMENT OF REGIONAL BIOPHARMPLANTS TO IMPROVE THE EFFICIENCY OF THE AGROINDUSTRIAL COMPLEX OF THE RUSSIAN FEDERATION

Samujlenko A.J., Bero I.L., Grin S.A.., Eremets V.I., Raevsky A.A., Pukhova N.M.
GNU "All-Russian scientific research and technology institute of biological industry" Russian Academy Of Agricultural Sciences

Industrial biotechnology covers many areas of agricultural sector, starting from the mass production of food, medicines, to new methods of diagnostics, to determine the risk of disease. Today, half of all, patent-pending in the world of pharmaceuticals are the products of biotechnology. It is difficult to overestimate the scientific and economic importance of this sector. The governments of the leading countries of Europe and Asia have developed a state program of support of biotechnology companies and invest in them hundreds of billions of dollars, and 2/3 of the funds allocated for science. For example, Japan, focusing on the practical use of scientific and technical developments, the purchase of licenses and patents, training of specialists and expansion of own production, has taken one of the leading places in the world in terms of the development of biotechnology.

In Russia biotechnology in the production of pharmaceuticals for animals has not reached the desired level, in spite of the fact that a great number of modern highly effective medicines. The analysis showed that out of the 70 titles of domestic probiotics, are produced in a limited quantity not more than 10, though the need is hundreds of thousands of tons per year.

To remedy the situation can be achieved through a close coordination of scientific research institutes, the modernization of the existing bioplants of agro- industrial complex and creation of a network of new regional miniplants.

Existing potential of the Russian science in the effective state support, development and implementation of measures for the restoration and development of the biotechnology industry, monitoring and marketing research and the rational distribution of bioplants with consideration of the economic expediency will allow to raise the production of domestic biopharmaceuticals to the modern level, commercialize the scientific development and improve the efficiency of the agroindustrial complex of Russia.

ОБРАТНАЯ ГЕНЕТИКА В БИОТЕХНОЛОГИИ

Забережный А.Д.[1], **Алипер Т.И.**[2], **Непоклонов Е.А.**[3],
[1]*Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского, 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 16*
[2]*НПО НАРВАК, 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 16*
[3]*Россельхознадзор, 107139, г. Москва Орликов переулок 1/11,*

Обратная генетика (ОГ), технология, известная с 90-х годов, основана на *конструировании* функционального генетического материала. Ранее нельзя было вносить изменения в гены РНК-содержащих вирусов. Сегодня можно создавать вирусы, копируя Природу, и вносить в них модификации. Полученный инфекционный вирус ничем не будет отличаться от своего прототипа, кроме способа создания. С практической точки зрения возможность манипуляции вирусной генетической информацией может быть использована для фундаментальных исследований и для создания новых штаммов, например, вакцин. К сожалению, новые технологии открывают возможность и для создания штаммов, патогенных для человека, животных и растений. Во всём мире в вирусологии доминируют методы ОГ, информация о вирусах накапливается принципиально иными темпами. В международной коллекции АТСС вирусы предлагают в виде генетического материала в расчёте на лаборатории, владеющие технологией.

Сегодня многие вирусы создают в лаборатории. Вирусы с некодирующими цепями РНК требуют специальных условий для репродукции, а именно, введения в клетку-хозяина белков репликазного комплекса. Получение инфекционного вируса гриппа, имеющего 8 сегментов одноцепочечной анти-смысловой РНК, кардинальным образом повлияло на эффективность создания вакцин. Вместо отбора реассортантов создают вирус с заданным набором генетических сегментов, которые обеспечивают 100% -ю антигенную специфичность, безопасность и высокую репродуктивную активность для рентабельности и качества последующего производства. Синтезированы вирусы гриппа – «птичьего», «свиного», эпидемических штаммов и даже «испанки» — вируса подтипа H1N1, чей генетический материал сохранился в мерзлоте с 1918 года.

При помощи ОГ нами созданы новые штаммы вирусов классической чумы, репродуктивно-респираторного синдрома свиней. Кроме этого в рамках международного сотрудничества нами освоена технология создания вируса гриппа. На базе вируса классической чумы свиней создан новый вакцинный штамм с генетическим материалом из вируса диареи крупного рогатого скота. Ведется работа по созданию «маркированной» вакцины, дающей возможность выявления инфицированных животных в вакцинированном стаде. Получены рекомбинантные вирусы гриппа, разработана схема быстрого получения вакцинных штаммов с заданной антигенной специфичностью.

REVERSE GENETICS IN BIOTECHNOLOGY

Zaberezhny A.D.[2], Aliper T.I.[2], Nepoklonov E.A.[3]

[1]*D.I. Ivanovski Virology Institute, 123098, 16, Gamalei st., Moscow, Russia*

[2]*R&D Narvac, 123098, 16, Gamalei st., Moscow, Russia*

[3]*Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance, 107139, Orlikov pereulok, 1/11, Moscow, Russia.*

Reverse genetics (RG) is known since 1990-s as a technology based on construction of functionally active genetic material. Never before was it possible to modify RNA viruses. Today it is feasible to create viruses as they have been created by Nature and modify them. The resulting infectious virus will have no differences from its prototype except the way it has been obtained. From practical point of view, possibility to manipulate viruses can be used for basic research and for creation of new strains such as vaccines. Unfortunately, new technologies also allow for making new strains that are pathogenic for humans, animals and plants. The RG methods dominate now in virology around the globe facilitating fast accumulation of new information. The international collection ATCC offers viruses today in a form of genomes to the laboratories that possess the technology.

Many viruses today are being created in the lab. The viruses with non-coding RNA genomes require special conditions for reproduction, they need replicase complex proteins to be present in a host cell. Creation of an infectious influenza virus from its 8 segments of single-stranded non-coding RNA had positively affected the effectiveness of vaccine development. Instead of selection for re-assortants, a virus is created from selected and modified genetic segments, that virus has 100% antigenic specificity, is safe and fast reproducing to facilitate lower cost and maintain quality of subsequent vaccine production. Today, viruses of “birds” and “swine” flu have been created along with epidemic strains including the notorious “Spanish flu”, H1N1, whose genetic material has been preserved in ice since 1918.

In our laboratories we have created new strains of Classical swine fever virus, Porcine reproductive and respiratory syndrome virus, using RG. The technology of making new influenza strains has been adopted under international collaboration. A new vaccine strain of Classical swine fever virus has

been made carrying genes from Bovine viral diarrhea virus. A work is under way to develop a new markered vaccine, that would allow to differentiate between infected and vaccinated animals. New influenza viruses were obtained with RG technology, a protocol was developed to obtain new vaccine strains with required antigenic specificity.

ПРИМЕНЕНИЕ СОВРЕМЕННЫХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕТОДОВ В ВЕТЕРИНАРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ

Гребенникова Т.В.[1,2], **Алипер Т.И.**[3], **Непоклонов Е.А.**[4],
[1]*АНО «НИИ ДПБ», 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 16*
[2]*Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского, 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 16*
[3]*НПО НАРВАК, 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 16*
[4]*Россельхознадзор, 107139, г. Москва Орликов переулок 1/11,*

Внедрение молекулярных методов в лабораторную практику стало одним из наиболее важных событий в ветеринарной диагностике. Спектр молекулярных методов довольно разнообразен, мы остановимся на следующих: ПЦР и ее различные модификации, ПЦР в реальном времени, как наиболее перспективный из современных вариантов ПЦР, секвенирование, анализ с использованием микрочипов. Данные методы имеют ряд общих характеристик. Прежде всего, все они определяют молекулы или составные их части. Молекулярная диагностика — это прямое обнаружение нуклеиновой кислоты инфекционного агента. Все молекулярные методы являются чувствительными и специфичными методами. Однако у каждого из данных методов есть свои особенности и преимущества. Благодаря высокой чувствительности, ПЦР и ПЦР в реальном времени позволяют определять возбудителя заболевания на ранних стадиях, когда выявление инфекционного агента другими методами невозможно. Определение маскированного возбудителя, как в случае комплекса с антителами вируса классической чумы свиней, определение двух различных возбудителей с похожими симптомами заболевания, как в случае вирусов классической чумы свиней и африканской чумы свиней, возможность дифференциации видов *M. tuberculosis, B. anthracis,* патогенных лептоспир – вот далеко не полный список возможностей ПЦР и ПЦР в реальном времени. ПЦР в реальном времени, кроме того, позволяет проводить количественные исследования, существенно снизить риск контаминаций. Первичная структура генома является своеобразным «паспортом» для любого организма, поэтому трудно переоценить значение секвенирования. Секвенированием подтверждают принадлежность патогена к той или иной таксономической единице, определяют патогенность вирусов, дифференцируют вакцинные и полевые штаммы. Микрочипы – это комплекс ПЦР и молекулярной гибридизации. Разработка микрочипа предполагает создание диагностики, при которой в процессе одной реакции можно ответить на ряд различных вопросов. Например, проведение 1 анализа на микрочипе для типирования вируса гриппа А соответствует 17 реакциям ПЦР. В данном сообщении будут рассмотрены границы применения каждого метода, приведены примеры их использования, особенности интерпретации результатов.

THE APPLICATION OF MODERN MOLECULAR TECHNIQUES IN VETERINARY DIAGNOSTICS

Grebennikova T.V.[1,2], **Aliper T.I.**[3], **Nepoklonov E.A.**[4],
[1]*Diagnostic and Prevention Research Institute for Human and Animal Diseases (DPRI), 123098, 16, bld. 2, Gamalei str., Moscow, Russia*
[2]*Ivanovski virology Institute, 123098, 16, Gamalei str., Moscow, Russia*
[3]*R&D Narvac, 123098, 16, Gamalei str., Moscow, Russia*
[4]*Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance, 107139, Orlikov pereulok, 1/11, Moscow, Russia.*

The introduction of molecular methods in laboratory practice has become one of the most important developments in the veterinary diagnostics. The spectrum of molecular techniques is quite diverse, we will focus on the following: PCR and its various modifications, real-time PCR as the most promising of the modern variants of PCR, sequencing analysis and microarrays analysis. The molecular methods have some general characteristics. First of all, they detect a molecule or compound of them. Molecular Diagnostics — is the direct detection of nucleic acid of the infectious agent. All molecular methods are sensitive and specific. However each of these methods has its own characteristics and advantages. Due to the high sensitivity of PCR and real-time PCR can identify the causative agent in the early stages, when the infectious agent detection by other methods is impossible. Determination of the masked agent, as in the case of the complex with the antibodies of Classical Swine Fever virus, the definition of two different agents with similar symptoms, as in the case of Classical Swine Fever virus and African Swine Fever virus, the possibility of differentiation of *M. tuberculosis*, *B. anthracis*, pathogenic Leptospira — this is not a complete list of features and PCR real-time PCR. Real-time PCR, in addition, allows the quantitative study, significantly reduce the risk of contamination. The primary structure of the genome is a kind of "passport" for any organism; it is difficult to overestimate the importance of sequencing. Sequencing confirmed identity of the pathogen to a particular taxonomic unit, determine the pathogenicity of viruses, differentiate vaccine and field strains. Microchips — a combine of PCR and molecular hybridization. The development involves the creation of the microarray diagnostics, in which during a reaction can answer a number of different issues. For example, conducting an analysis on a microarray for typing influenza A virus corresponds to 17 PCR reactions. In this report, will be considered the boundary of each method, are examples of their use, particularly the interpretation of results.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОГАЩЕНИЕ КОРМОВ

Хамидова Х.М., Азимова Н.Ш., Зухритдинова Н.Ю., Байбаев Б.Г.
Институт Микробиологии АН РУз, ул. А. Кадыри 7Б, Ташкент, Узбекистан

Важным резервом в области кормопроизводства является способ улучшения качества грубых кормов на основе отходов сельского хозяйства путем применения микроорганизмов, синтезирующих целлюлолитические ферменты, витамины, пробиотики и другие физиологически активные соединения. Использование микроорганизмов для силосования соломы и другого целлюлозосодержащего сырья способствует созреванию силоса и обогащению кормов физиологически активными веществами.

В работе была исследована возможность использования для кормовых целей малоценных отходов сельского хозяйства (солома зерновых, кукурузные кочерыжки, верблюжья колючка и др.). Был приготовлен силос с внесением дрожжей, молочнокислых, целлюлолитических микроорганизмов как в монокультуре, так и в ассоциации. Для этих целей использовали суспензию

клеток микроорганизмов с титром 1x10^8 молочнокислых бактерий в количестве 2%, дрожжей 0,8% и целлюлолитиков 5% от веса силосуемой массы. Контролем служил силос, приготовленный без микроорганизмов. Качество силоса оценивали через 10 , 20 и 30 суток по органолептическим и биохимическим показателям. Хорошие результаты были получены при использовании ассоциации молочнокислых, целлюлозосодержащих и дрожжей. Силос, полученный указанным способом через 20 дней обладал хорошими органолептическими показателями, размягченной структурой. РН силоса равен 4,3. Определение свободных органических кислот(%); молочной -0,34, уксусной – 0,29, масляной -0,14. Связанные органические кислоты (%); уксусная – 2,18, молочная – 2,97, масляная – 0,56. Отмечено уменьшение целлюлозы по сравнению с исходным с 37,8 до 29,6, лигнина с 17,5 до 13,0 и повышение протеина до 10,4%.

Приготовленный этим же способом корм был добавлен в рацион коров животноводческого хозяйства Ташкентской области. Корм охотно поедался животными и небольшая разница по сравнению с контрольными коровами, которые не получали добавок, наблюдалась.

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности получения кормов из трудносилосующихся целлюлозосодержащих растительных субстратов с использованием дрожжей, молочнокислых и целлюлозосодержащих микроорганизмов.

MICROBIOLOGICAL ENRICHMENT OF FORAGE

Kh.M. Khamidova, N.Sh. Azimova, N.Y. Zukhritdinova, B.G. Baybaev
Institute of Microbiology of Uzbek Academy of sciences, 7B, A. Kadyri str., Tashkent, Uzbekistan

The important reserve in the sphere of forage production is the method of the improving of the coarse forage quality on the basis of the agricultural waste by means of using the microorganisms synthesizing the cellulolytic enzymes, vitamins, probiotics and the other physiologically active compounds. The utilization of microorganisms for the siloing of straw and the other cellulo-containing raw materials promotes the ripening of silage and the enrichment of forage with physiologically active substances.

The possibility of utilization of agricultural waste of little value (corn straw, maize stumps, camel's burr and etc.) as forage was investigated in the work. The silage with introducing of yeasts, lacto-acid, cellulolytic microorganisms both in monoculture and in association was made. For this purpose the microorganisms cell suspension with a titre of 1 x 10^8 of lacto-acid bacteria 2% in member, yeasts – 0,8% and celulolytics – 5% to the weight of the siloing mass was used. The silage made without microorganisms was used as a control. The quality of the silage was estimated after 10, 20 and 30 days according to its organoleptic and biochemical characteristics. Good results were obtained while using the association of lacto-acid, cellulo-containing microorganisms and yeasts. The silage obtained with the help of the stated method after 20 days had good organoleptic characteristics, soft structure, with pH = 4,3. The composition of free organic acids (%) was as the following: lactic acid – 0,34; acetic acid – 0,29; bytyric acid – 0,14. For combined organic acids (%): acetic acid – 2,18; lactic acid – 2,97; bytyric acid – 0,56. The decreasing amount of cellulose in comparison with the initial figures from 37,8 to 29,6 was noticed; as for lignin: from 17,5 to 13,0 and increasing of protein up to 10,4%.

The forage prepared while using the same method was added into the ration of the cows of the cattle-breeding farm of Tashkent region. The forage was willingly eaten by the animals and some difference was noticed in comparison with the control cows which didn't get any additives.

The obtained results indicate of prospects connected with production of forage from fairly-siloing celullo-containing plant substances while using yeasts, lacto-acid and cellulo-containing microorganisms.

РАЗРАБОТКА И МОДЕЛИРОВАНИЕ УПРАВЛЯЕМЫХ ПРОЦЕССОВ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ БИОФАРМПРЕПАРАТОВ

Раевский А.А., Самуйленко А.Я.

ГНУ Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности РАСХН, Московская область, Щелковский район, п Биокомбината, Россия

Задача интенсификации процессов культивирования вакцинных штаммов микроорганизмов с использованием современных методов оптимизации технологических процессов является весьма актуальной, т.к. большинство технологических процессов культивирования микроорганизмов при производстве ветеринарных биофармпрепаратов основано на эмпирических данных и не контролируется по большинству значимых физико-химических параметров.

С использованием методов математического планирования эксперимента найдены оптимальные условия и разработаны способы управляемого периодического культивирования нескольких штаммов Pasteurella multocida, производственных (вакцинных) штаммов Listeria monocytogenes, штаммы АУФ, УСХИ-19 и УСХИ-52; Salmonella cholerae suis, штаммы ТС-177 и № 9.

Получение бактериальной массы микроорганизмов для изготовления биопрепаратов ведется в основном периодическим способом, однако наиболее эффективным для этой цели является хемостатное культивирование с лимитированием роста бактерий источником углерода.

Разработан процесс хемостатного культивирования P. multocida, который интенсифицирует процесс изготовления вакцин за счет увеличения выхода бактериальной массы при сохранении ее биологических свойств и позволяет получать стандартные препараты.

Экспериментальные данные хемостатного культивирования пастерелл в условиях лимитирования их роста глюкозой свидетельствуют о существенном противоречии с зависимостями, рассчитываемыми по теории Моно. Особенностью полученных экспериментальных данных является повышение концентрации пастерелл и экономического коэффициента при уменьшении скорости разбавления. Другим отклонением от теории является весьма малая (практически равная нулю) удельная скорость потребления глюкозы при малых скоростях разбавления.

Разработано математическое описание хемостатного культивирования пастерелл и проведен анализ этого процесса с использованием полученных моделей.

DEVELOPMENT AND MODELING OF CONTROLLED PROCESSES OF MICROORGANISMS CULTIVATION PRODUCING BIOLOGICAL AND PHARMACEUTICAL PREPARATIONS

Raevskiy A.A., Samuilenko A. Ja,

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, VNITIBP

The task of the intensification of vaccine cultivation strains of microorganisms using modern methods of process optimization is rather actual ,because most of the process of cultivation of microorganisms in the production of veterinary biological pharmaceuticals based on empirical data and is not controlled by the majority of important physico-chemical parameters.

Using methods of mathematical planning of the experiment found the optimal conditions and developed methods of culturing periodic managed several strains of Pasteurella multocida, production (vaccine) strains of Listeria monocytogenes, strains АУФ, УСХИ-19, УСХИ-52; Salmonella choleraesuis, strains TC-177 and number 9.

Preparation of the bacterial mass of microorganisms for the production of biologics is basically a periodic way, but in greatest effective for this purpose is the cultivation of the chemostat with limiting the growth of bacteria as a carbon source.

Establish a process chemostat cultivation P. multocida, which intensifies the process of vaccine production at the expense of increasing the yield of bacterial mass while preserving its biological properties and allows you to receive standard medications.

Experimental data of chemostat cultivation of Pasteurella in limiting the growth of glucose indicated a marked contrast with the dependencies calculated by the theory of Mono. A feature of the experimental data is to increase the concentration of Pasteurella and economic factor in reducing the rate of dilution. Another deviation from the theory is very small (almost zero), the specific rate of glucose uptake at small rates of dilution.

Developed a mathematical description of chemostat cultivation of Pasteurella and analyzedthis process using the obtained models.

ОБЕСПЕЧЕНИЕ КАЧЕСТВА ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ВЕТЕРИНАРИИ

Еремец Н.К., Самуйленко А.Я., Неминущая Л.А., Скотникова Т.А., Люлькова Л.С., Бобровская И.В., Провоторова О.В., Шубина Е.А.

ГНУ Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности РАСХН, Московская область, Щелковский район, п. Биокомбината, Россия

Основная цель внедрения системы менеджмента качества (СМК) на промышленном предприятии — выпуск высококачественной продукции. Для предприятия биологической промышленности центральным элементом обеспечения качества являются Правила GMP (ГОСТ Р 52249-2009) и СМК на основе требований стандартов ИСО 9000 (ГОСТ Р 9001-2008), что обеспечивает производство безопасной, эффективной продукции стабильного качества и приводит к снижению управленческих ошибок, финансовых затрат на выпуск продукции, существенно повышая эффективность бизнеса.

В настоящее время отделом обеспечения качества ЛС для животных ВНИТИБП проводится большая работа по актуализации системы нормативных и информационно-справочных документов и методов обеспечения качества лекарственных средств для животных на этапах разработки, апробации и производства в соответствии с национальным законодательством и международными требованиями.

Во ВНИТИБП организовано опытное производство иммунобиологических препаратов для ветеринарии (набор для диагностики хламидиоза сельскохозяйственных животных в РСК и РДСК, вакцины против ньюкаслской болезни, пробиотик для птиц АВИЛАКТ-1К, синбиотические комплексы для птицеводства АВИЛАКТ-ФОРТЕ и ЛАКТОСУБТИЛ-ФОРТЕ, а также сорбенты и адъюванты для противобактерийных и противовирусных вакцин), в деятельности которого реализуются основные принципы обеспечения качества лекарственных средств для животных, требуемые стандартами ИСО серии 9000 и Правилами GMP.

В 2003 г. при поддержке РОАО «Росагробиопром» подготовлена и доведена до предприятий биологической промышленности блок-схема разработки и внедрения СМК по требованиям стандарта ИСО 9001 (ГОСТ Р ИСО 9001-2008) и общих требований Правил GMP (ГОСТ Р

52249-2009), которая успешно реализована на Щелковском биокомбинате и Покровском заводе биопрепаратов.

Взамен стандарта отрасли ОСТ 10089 – 95 разработан национальный стандарт «Средства лекарственные для животных. Технологические регламенты производства. Содержание, порядок разработки. Согласования и утверждения», который устанавливает общие требования к порядку разработки, содержанию, согласованию и утверждению технологических регламентов производства лекарственных средств для животных, производимых биопредприятиями в соответствии с требованиями ГОСТ Р 52249-2009 «Правила производства и контроля качества лекарственных средств».

MAINTENANCE OF QUALITY OF IMMUNOBIOLOGICAL PREPARATIONS FOR VETERINARY SCIENCE

Eremets N.K., Samujlenko A.J., Neminushchaja L.A., Skotnikova T.A., Ljulkova L.S., Bobrovskaya I.V., Provotorova O.V, Shubina E.A.

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

Main objective of introduction of system of a quality management (SQM) at the industrial enterprise — release of high-quality production. For the enterprise of the biological industry the central element of maintenance of quality are Rules GMP (GOST R 52249-2009) and SQM on the basis of requirements of standards ISO 9000 (GOST R 9001-2008), that provides manufacture of safe, effective production of stable quality and leads to decrease in administrative errors, financial expenses for output, essentially raising efficiency of business.

Now the department of maintenance of quality medical products for animals VNITIBP spends the big work on actualisation of system of standard and directory documents and methods of maintenance of quality of medical products for animals at development cycles, approbations and manufactures according to the national legislation and the international requirements.

In VNITIBP pilot production иммунобиологических preparations for veterinary science (a set for diagnostics of a clamidiosis of agricultural animals in РСК and РДСК, vaccines against Newcastle decease, probiotic for birds AVILAKT-1K, synbiotic complexes for poultry farming AVILAKT-FORTE and LAKTOSUBTIL-FORTE, and also sorbents both adjavants for bacterial and virus vaccines) in which activity main principles of maintenance of quality of medical products for the animals are realised, series demanded by standards ISO 9000 and Rules GMP is organised.

In 2003 at support ROAO «Rosagrobioprom» the block diagramme of working out and introduction SQM under requirements of standard ISO 9001 (GOST R ISO 9001-2008) and the general requirements of Rules GMP (GOST R 52249-2009) which is successfully realised at the Shchelkovskiy biocombinat and Pokrovskiy factory of biological products is prepared and finished to the enterprises of the biological industry.

Instead of the standard of branch OST 10089 - 95 is developed the national standard «Means medicinal for animals. Manufacture production schedules. The maintenance, a working out order. Coordination and statements» which establishes the general requirements to a working out order, to the maintenance, the coordination and the statement of production schedules of manufacture of medical products for the animals made by the bioenterprises according to requirements of GOST R 52249-2009 «Rules of manufacture and quality assurance of medical products».

СОЗДАНИЕ И ПРИМЕНЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА БИОЛОГИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ

Пухова Н.М.[1], **Самуйленко А.Я.**[1], **Еремец Н.К.**[1], **Красуткин С.Н.**[2], **Елаков А.Л.**[3], **Бобровская И.В.**[1]

[1]*ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности» РАСХН,*
141142, Московская область, Щелковский р-н, п. Биокомбината, Россия
[2]*ФГУП «Щелковский биокомбинат», 141142,Московская область,*
Щелковский р-н, пос. Биокомбината, Россия
[3]*ФГУ «Всероссийский научно-исследовательский институт вирусологии им.Д.И.Ивановского», Россия*

Производство биологических препаратов имеет свою специфику, определяемую характером продукции и технологией. В отличие от лекарственных средств, производимых с использованием химических и физических методов, обеспечивающих высокую степень стабильности, производство биопрепаратов связано с биологическими процессами и материалами, например культивирование клеток и микроорганизмов. Учитывая, что эти процессы достаточно вариабильны и влияют на стабильность и биоэквивалентность готового препарата, оценку их качественных и количественных характеристик проводят аттестованными методами, включая специфическую активность и использование стандартных образцов.

Для усовершенствования и стандартизации методов контроля антирабических препаратов (вакцин и сывороток), используемых в ветеринарии, нами были проведены исследования по созданию Национальных отраслевых стандартов: референс-вакцины и референс-сыворотки. В результате проведенной работы были валидированы методики определения специфической активности антирабических препаратов относительно Международных стандартов, разработаны и аттестованы Национальные отраслевые стандартные эталоны, утверждены инструкции по применению и получены свидетельства о гос.регистрации. Показатели качества и стабильности референс-препаратов, соответствовали требованиям ВОЗ.

В настоящее время референс-вакцина и референс-сыворотка являются обязательными препаратами, используемыми при контроле иммуногенности антирабических вакцин, выпускаемых в России, и в диагностических исследованиях сыворотки крови животных на наличие антирабических антител.

CREATION AND APPLICATION OF BIOLOGICAL STANDARDS FOR THE ESTIMATION OF QUALITY OF BIOLOGICAL PRODUCTION

Puhova N.M., Samujlenko A.J., Eremets N.K., Krasutkin S.N., Elakov A.L., Bobrovskaja I.V.

Manufacture of biological preparations has the specificity defined by character of production and the technology. Unlike the usual medical products made with use of chemical and physical methods, providing high degree of stability, manufacture of biological products is connected with biological processes and materials, for example cultivation of cells and microorganisms. Considering that these processes it is enough variation and influence on stability and bioequivalence of a ready preparation, an estimation of their qualitative and quantitative characteristics spend the certified quality monitoring of indicators of quality, including specific activity and use of standard samples.

For improvement and standardization of a quality monitoring antirabic preparations (vaccines and serums), used in veterinary science, we had been conducted researches on creation of National

branch standards: referens-vaccine and referens-serum. As a result of the spent work were validation techniques of definition of specific activity the antirabic preparations concerning the International standards, National branch standards are developed, certified and register, instructions on application are confirmed. Index of quality and stability of our referens-preparations will be coordinated with the requirement of WHO.

Now the referens-vaccine and referens-serum is the obligatory preparations used at control of an immunogenicity of antirabic vaccines, let out in Rushia, and in diagnostic researches of serum of blood of animals on presence the antirabic antibodies.

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ХИТОЗАНА И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ В СОСТАВЕ ВЕТФАРМ-ПРЕПАРАТОВ

Фролова М.А[1]**., Албулов А.И**[1]**., Самуйленко А.Я**[2]**., Варламов В.П**[2]**.,**
Гринь А.В[1]**., Буханцев О.В**[1]**.**
[1]*ЗАО «Биопрогресс».*
141142 Московская область Щелковский район п. Биокомбината, Россия.
[2]*ВНИТИ биологической промышленности РАСХН.*
141142 Московская область Щелковский район п. Биокомбината, Россия.

Известно, что в первые дни и месяцы жизни организм новорожденных животных особенно подвержен действию факторов среды и возбудителей инфекционных болезней смешанной этиологии, вызывающих заболевания желудочно-кишечного тракта. Для лечения диарей телят и поросят применяются антибиотики, которые помимо антимикробного, обладают иммунодепрессивным и кумулятивным действием, а со временем приобретают резистентность с потерей лечебного эффекта. Нами проведен комплекс исследований по изучению эффективности применения хитозана для лечения и профилактики желудочно-кишечных заболеваний молодняка сельскохозяйственных животных. Опыты проводили на телятах и поросятах в период массовых отелов и опоросов в хозяйствах Московской, Тульской и Брянской областей. Отработаны лечебные и профилактические дозы, а также кратность применения хитозана. В опытах использовали 2-3% гелевые растворы хитозана с молекулярной массой 80,150,300, 380 и 500 кДа. Результаты позволили сделать заключение о возможности применения хитозана для сохранения поголовья животных в раннем возрасте и снижения затрат на ветеринарные мероприятия по сохранению молодняка.

Препарат сертифицирован для использования в ветеринарной практике.

Из существующего в настоящее время широкого ассортимента полимерных покрытий на раны и ожоги, рассасывающиеся покрытия в наибольшей степени отвечают всем медико-биологическим требованиям, могут быть полезны как на ранних, так и на более поздних стадиях лечения ран и ожогов. Проведенные нами испытания раневых хитозановых покрытий показали их эффективность при лечении раневой поверхности после термического и химического ожога. Применение аппликаций хитозана приводило к более быстрому сокращению площади раневой поверхности, при этом отсутствовали гиперемия и отечность.

Следовательно, препараты хитозана оказывают разностороннее положительное влияние на организм животных, что говорит о перспективности их использования в ветеринарной практике.

PERSPECTIVES OF CHITOSAN AND ITS DERIVATIVES APPLICATION IN VETERINARY PHARMACY

Frolova M.A[1]., Albulov A.I[1]., Samuylenko A.Y[2]., Varlamov V.P[2]., Grin A.V[1]., Buhantsev O.V.[1]
[1]*Joint-Stock Company"Bioprogress"*
141142 Moscow Region, Shchelkovo district, Biokombinat, Russia
[2]*Russian research institute of technology and the biological industry*
141142 Moscow Region, Shchelkovo district, Biokombinat, Russia

It is known that in the first days and months of life the organism of newborn animals is most sensitive to the influence of environment and the activators of infectious diseases of the mixed etiology, which cause diseases of a gastrointestinal tract. Antibiotics, which besides antimicrobial effect, show immunosuppressive properties, are applied in treatment of diarrheas of calves and piglets, that with the laps of time lead to the resistance and loss of medical effect of antibiotics. We have carried out a complex of investigations on introduction of chitosan to veterinary practice as an enterosorbent and immunomodulator used in treatment of gastrointestinal diseases of young agricultural animals. Experiments were conducted on calves and piglets during periods of mass calving and farrows at farms of Tula, Bryansk and Moscow regions. Medical and preventive (prophylaxis) doses and frequency of chitosan application were optimized. 2-3% gel solutions of chitosan with molecular weight 80, 150, 300, 380 and 500 kDa were used in the tests. The results allowed conclusion that chitosan can be apply to preserve young animals numbers in smalls and to reduce cost of veterinary measures for young animals preservation.

The product is certified for using in veterinary practice.

Among wide spectrum of polymeric coatings available now for wounds and burns, absorbable coatings to the best extent meet all medical and biological requirements and can be useful at the early and advanced stages of wounds and burns treatment. Our tests results have shown high effectiveness of chitosan coatings in the treatment of the wound surface after thermal and chemical burns. Chitosan applications led to the faster reduction the wound surface area, and elimination of redness and swelling.

Thus, chitosan-based preparations show positive effect on the animal organism and have high potential of application in veterinary practice.

ЭМБРИОНАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕН-НЫХ ЖИВОТНЫХ КАК НОВАЯ КЛЕТОЧНАЯ МОДЕЛЬ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ

Савченкова И.П.
Всероссийский ГНУ НИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко

В настоящий момент существует более 82000 химических препаратов, которые широко распространены в среде, окружающей человека. С каждым годом число таких веществ увеличивается, что мотивирует потребность в разработке методов изучения их токсичности, альтернативных традиционным методам тестирования на животных. Существующие методы оценки риска использования химических препаратов дорогостоящи и занимают много времени. Национальный Научный Совет (США) опубликовал отчет, в котором были сформулированы критерии тестирования токсичности химикатов в XXI веке [1]. К одним из таких критериев относится разработка более быстрых и более рентабельных подходов оценки химических препаратов в культуре клеток. Эмбриональные стволовые клетки (ЭСК), выделенные из ВКМ ранних эмбрионов млекопитающих, представляют собой наиболее перспективную модель для

этих целей [2]. ЭСК при определенных условиях могут в культуре воспроизвести эмбриогенез и дифференцироваться в заданном направлении. В отличие от других культур клеток, они обладают свойствами ранних эмбрионов, в том числе содержат огромную библиотеку предсинтезированных мРНК генов раннего эмбриогенеза и органогенеза, что позволяет проводить тестирование лекарственных препаратов на цито- и эмбриотоксичность, мутагенность в культуре. В последнее время показано, что ЭСК способны *in vitro* дифференцироваться в половые клетки — мужские и женские гаметы. Все это делает их самым перспективным материалом для разработки новых технологий в фармацевтической биотехнологии, в том числе для ветеринарии. В докладе обсуждаются вопросы по созданию ЭСК сельскохозяйственных животных и перспективе их применения для тестирования химических веществ на разных уровнях.

1. Toxicity testing in the 21st century. A vision and strategy. Washington. DC: National Research Council.

2. Савченкова И.П.Эмбриональные стволовые клетки в биологии: настоящее и будущее. 1999. Дубровицы. 95 С.

EMBRYONIC STEM CELLS OF AGRICULTURAL ANIMALS AS NEW CELLULAR MODEL FOR PHARMACOLOGICAL BIOTECHNOLOGY

Savchenkova I.P.

Kovalenko's All Russian State Research Institute of Experimental Veterinary Medicine

At the moment exists over 82000 chemicals which widespread in the environment, surrounding the humans. Every year the number of such substances increases that motivates need for development of methods of learning of their toxicity, alternative to traditional toxicity testing on whole-animal studies. Existing valuation methods of risk of using of chemicals are expensive and occupy a lot of time. The National Research Council (USA) has published the report in which criteria of testing of toxicity of chemicals in the 21st Century have been formulated [1]. Development of faster and more cost-effective approaches of an estimation of chemical preparations concerns one of such criteria in culture of cells. Embryonic stem cells (ESCs), isolated from inner cell mass of early mammal embryos, represent the most perspective model for these purposes [2]. ESCs under certain conditions can play back in culture embryogenesis and be differentiated in the given direction. Unlike other cultures of cells, they possess properties of early embryos, including contain huge library presynthesized mRNA genes of early embryogenesis and organogenesis that allows to hold testing of medical products on cyto- and embryotoxity, a mutagenicity in culture. ESCs provide an in vitro model of embryonic development and an alternative method for assessing developmental toxicity. Recently it is shown that ESCs are capable in vitro to be differentiated in germ cells — gametes. It does all by their most perspective material for development of new technologies in pharmacology. In the report questions on derivation of ESCs of agricultural animals and perspective of their application for testing of chemical substances at different levels are considered.

1. Toxicity testing in the 21st century. A vision and strategy. Washington. DC: National Research Council.

2. Savchenkova I.P.Embryonic stem cells in biology: present and future. 1999. Dubrovitsi. 96 P.

ВЛИЯНИЕ МАННОЗОСОДЕРЖАЩИХ ГИДРОЛИЗАТОВ НА КОРРЕКЦИЮ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ДИСБИОЗА

Черемушкина И.В., Корнеева О.С.
ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет инженерных технологий», 394000 г. Воронеж, пр. Революции 19

Одним из путей поддержания микробиоценоза кишечника является использование пребиотиков. Вещества, обладающие пребиотической активностью, будучи неферментируемыми углеводами, в неизмененном виде легко достигают толстой кишки, где способствуют восстановлению нормофлоры микробного пула.

Наиболее распространенные бифидогенные факторы – моно- и олигосахариды, которые являются источником энергии для микроорганизмов. К таким веществам можно отнести манноолигосахариды и продукт их гидролиза – моносахарид маннозу.

Оценка пребиотической активности *in vitro* выявила тенденцию положительного влияния различной концентрации маннозы и маннозосодержащих гидролизатов на рост бифидобактерий. Отмечена способность манноолигосахаридов увеличивать резистентность клеток бифидобактерий в присутствии антибиотика широкого спектра действия, а также способность к увеличению симбиотических взаимоотношений *B. bifidum* и *E. coli* — основного представителя микрофлоры желудочно-кишечного тракта, что подтверждает пребиотические свойства манноолигосахаридов.

В опытах *in vivo* маннозосодержащие продукты вводили в диету опытных животных в условия экспериментального дисбиоза, что приводило к увеличению количества бифидобактерий и стимулировало рост молочнокислых бактерий.

Медико-биологические исследования влияния полученных манноолигосахаридов на иммунный статус показали их высокую эффективность и выявили тенденцию положительного влияния на показатели неспецифического иммунитета опытных животных.

Работа выполняется в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы (ГК № П1074 от 31.05.2010 г.).

THE INFLUENCE OF MANNOSE-CONTAINING HYDROLYZATES ON THE CORRECTION OF EXPERIMENTAL DYSBIOSIS

Cheremushkina I.V., Korneyeva O.S.
Voronezh State University of Engineering Technologies
394000, Voronezh, prospekt Revolutsii, 19

One of the ways of maintaining intestinal micro-biocenosis is the use of prebiotics. Having prebiotic activity substances are unfermentable carbohydrates, and they easily reach the large intestine in an unmodified form, where they contribute to the restoration of the normal flora of the microbial pool.

The most common bifidogenic factors are mono- and oligosaccharides, which are a source of energy for microorganisms. To such substances we can relate mannooligosaccharides and their hydrolysis product – monosaccharide mannose.

The assessment of prebiotic activity in vitro has revealed a tendency of a positive effect of mannose and mannose-containing hydrolyzates in different concentrations on the growth of bifidobacteria. It is marked that mannooligosaccharides can increase resistance of bifidobacteria cells in the presence of broad-spectrum antibiotic as well as the ability to increase symbiotic mutual relations B. bifidum and E. coli – the main representative of the microflora in the gastrointestinal tract. That fact confirms the prebiotic properties of mannooligosaccharides.

In the experiments in vivo, mannose-containing products were introduced into the diet of the animals in the conditions of the experimental dysbiosis; it led to an increase in the number of bifidobacteria and stimulated the growth of lactic acid bacteria.

Medical and biological studies have shown high efficiency of mannooligosaccharides and observe a trend of their positive influence on immune status and indicators of nonspecific immunity of the experimental animals.

This work is performed under the Federal Program «Scientific and scientific-pedagogical personnel of innovative Russia» for 2009–2013 (the state contract number P1074 from 31.05.2010).

УНИЧТОЖЕНИЕ ИНФИЦИРОВАННЫХ ОТХОДОВ ФАРМПРЕДПРИЯТИЙ ТЕРМИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Денисов А.А., Тарасова И.И., Чичилеишвили Г.Д.
ВНИТИ биологической промышленности РАСХН
141142 Московская область Щелковский район п. Биокомбината, Россия.

Решение санитарно-эпидемиологических вопросов биотехнологической промышленности в технологии утилизации инфицированных объектов является вопросом первостепенной важности.

Цель работы — разработка рекомендаций по обеспечению организационных и дезинфекционных мероприятий в пунктах технологической переработки инфицированного вирусом материала, отходов, обоснование и контроль приемов безопасной работы персонала.

На основании научно-исследовательских работ выполненных во ВНИТИБП получены данные по мероприятиям локализации и ликвидации инфицированных очагов. Для этого наиболее предпочтительным методом обеззараживания указанного вида отходов является термическая обработка, являющаяся эффективным и широко применяемым техническим приемом разрушения опасных органических отходов. При этом обеспечивается полная ликвидация опасных вирусных элементов и существенное уменьшение объема отходов.

На основание результатов выполненных работ сделано заключение:

1. Наиболее целесообразным методом обеззараживания инфицированного помета является его сжигание. При этом обеспечивается полное и надежное обеззараживание.

2. Сжигание помета с целью его обеззараживания следует проводить в барабанных вращающихся печах прямоточного типа. При сжигании в таких печах обеспечивается полное совершенное сжигание навоза и надежное его обеззараживание. Такие печи имеют преимущества по сравнению с другими типами печей по их надежности в условиях эксплуатации.

3. Масса остатка после сжигания помета составляет 2-18% от массы исходного помета. Наряду с надежным обеззараживанием это позволяет значительно сократить объем работ по удалению помета, как с частных подворий, так и с птицеводческих предприятий.

4. В комплексе со сжиганием помета во вращающейся печи необходимо производить дополнительное сжигание отходящих дымовых газов.

DESTRUCTION OF INFECTION WASTES OF PHARMACEUTICAL COMPANIES BY THERMAL METHOD

Denisov A.A., Tarasova I.I., Chichileishvili G.D.
Russian Scietific- Research and Technological Institute of Biological Agricultural Industry Rosselchoza-cademy (VNITIBP)
141142 Moscow region, Shchelkovo district, settlement Biokombinat, Russia.

The decision of sanitary and epidemiological issues in the biotechnology industry due to utilization technology of infected objects is a matter of primary importance.

Main goal — to develop recommendations for the organizational and disinfection actions in technological processing enterprises of infected material or wastes, and the rationale and methods of monitoring the safe operation of staff.

Based on research, carried out in VNITIBP, obtained the data on measures of localization and elimination of infected lesions. To do this, the most preferred method for disinfection of this type of wastes is a heat treatment, that is the effective and widely used technical method of destruction of hazardous organic wastes. This ensures the complete destruction of dangerous viral elements and a significant reduction of wastes.

Based on the results of work performed is concluded:

1. The most expedient method of disinfection of infected manure is burning it. This provides complete and reliable disinfection.

2. Burning of manure to it's disinfection purpose should be carried out in a rotary furnaces straight-flow type. Such furnace can provide a perfect complete combustion of manure and it's reliable disinfection. These stoves have advantages over other types of furnaces for their reliability in operation.

3. Residue weight after combustion is 2-18% by weight of the original litter. Along with a reliable decontamination that can significantly reduce the amount of job to remove litter from private holdings, as well as from poultry farms.

4. Together with the burning of manure in a rotary furnace incinerations it is nesessary to produce an additional flue gases combustion.

ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР В ОБЛАСТИ БИОТЕХНОЛОГИЙ

Иванов А.В.,
профессор, директор ФГБУ «Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных»,
Чернов А.Н.,
зам директора по науке и инновациям, канд. вет. Наук,
ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», 420075, РТ, Казань, Научный городок-2

Биотехнология одна из перспективных наук XXI века. В настоящее время биотехнология стремительно развивается, приобретая не только фундаментальные черты, но конкретное прикладное значение. Внедрение этой специальности в государственные образовательные стандарты профессионального высшего образования, а также в деятельность некоторых вузов нашей страны имеет важную стратегическую направленность. При этом инновационные продукты биотехнологии мощный фактор развития Российской Федерации.

В нашем Центре в результате проведенных исследований получены новые сведения по эффективности бактериологических, серологических и молекулярно-генетических методов для экспресс диагностики ООБ. Проведена работа по поддержанию и сохранению культур штаммов

возбудителей ООБ животных. Разработаны лабораторные технологии изготовления средств диагностики на основе иммуноферментного анализа для выявления возбудителей сибирской язвы, бруцеллеза, КЧС, бешенства, хламидиозов, сапа, ботулизма, БА, ИРТ, парагриппа-3, парвовирусной инфекции и др.

На основе биотехнологии разработана технология изготовления вакцин против бруцеллеза крупного и мелкого рогатого скота, сибирской язвы, КЧС, прошли производственные испытания, экспертизу и государственную регистрацию средства специфической профилактики хламидиоза, инфекционного кератоконъюнктивита, некробактериоза, парагриппа-3, инфекционного ринотрахеита. Вакцины при указанных инфекционных болезнях успешно применяются в РФ.

В настоящее время Центр используя методы биотехнологии разрабатывает и производит диагностические наборы, средства профилактики и лечения, востребованные производством.

THE FEDERAL CENTRE AND BIOTECHNOLOGIES

A.V. Ivanov,
Professor, director of Federal State Non-Profit Organization "Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety",
Chernov A.N.,
deputy director on science and innovations, PhD Veterinary Sciences,
Federal State Non-Profit Organization "Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety", 2-Nauchny gorodok, Kazan Tatarstan Russia 420075

Biotechnology is one of perspective sciences of the XXI century. Now Biotechnology is rapidly developing not only with fundamental features but concrete applied value. Introduction of this field into the state educational standards of higher professional education as well as into activity of some high schools in our country has an important strategic orientation. Additionally, biotechnological innovative products are a crucial factor in the Russian Federation development.

In our Center a new data on efficacy of bacteriological, serological, and molecular and genetic methods of particularly dangerous diseases rapid detection was obtained. Animal particularly dangerous diseases agent stains cultures are maintained and stored. The laboratory technologies of producing ELISA-based diagnostic kits to detect anthrax, brucellosis, classical swine fever, rabies, chlamydioses, glanders, botulism, pseudorabies, infectious bovine rhinotracheitis, parainfluenzaIII, parvovirus infections, etc. were developed.

Using biotechnology the methods of producing vaccines against cattle and ruminant brucellosis, anthrax, classical swine fever were developed, specific prevention means against infectious keratoconjunctivitis, necrobacteriosis, infectious bovine rhinotracheitis, parainfluenzaIII have passed field trials, evaluation, and State registration. The mentioned vaccines are successfully applied in the Russian Federation.

Now the Center develops and produces diagnostic kits, prevention and treatment means using biotechnology methods.

РАЗВИТИЕ ТЕХНОЛОГИИ РАЗРАБОТКИ И ПРОИЗВОДСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ — ОТ ИДЕИ ДО КОНЕЧНОГО ПРОДУКТА

Захарченко О.С.,
к.т.н., заместитель директора ОАО «Институт биотехнологий ветеринарной медицины», г. Москва

1. Стадия «Идея».

Поиск идеи. Получение идеи. Поиск результатов прошлых лет. Их опровержение или подтверждение.

Проведение маркетинговых исследований о целесообразности дальнейшего развития идеи. Оценка экономического результата, полученного от возможной реализации идеи.

Апробация идеи на реализуемость. Выступления на соответствующих конференциях и обсуждение идеи с компетентными оппонентами.

Принятие решения о переходе на дальнейшую стадию развития идеи или отказа от ее реализации.

Проведение патентного поиска. Сбор необходимых документов.

2. Стадия «Испытание».

Проведение лабораторных испытаний. Получение материалов, необходимых для проведения испытаний.

Поиск партнеров. Аутсорсинг необходимых бизнес-процессов.

Поиск площадок для проведения клинических испытаний. Проведение клинических испытаний. Поиск источников финансирования.

3. Стадия «регистрация».

Проведение регистрационных мероприятий. Формирование пакета документов, в соответствии с требованиями. Патентование опытного образца или технологии производства.

4. Стадия «производство».

Формирование рынка потребителей. Реклама продукта.

Масштабирование производственного процесса. Постановка контроля качества и соответствия произведенного препарата.

ПОСТЕРЫ
POSTERS

ВОССТАНОВЛЕНИЕ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ АКТИНОМИЦЕТОВ-ПРОДУЦЕНТОВ ПРЕПАРАТОВ ПАРАЗИТОЦИДНОГО, АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО И ФУНГИЦИДНОГО ДЕЙСТВИЯ, ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ВЕТЕРИНАРИИ.

Филиппова С.Н., Сургучева Н.А., Гальченко В.Ф.
ФГБУ Институт микробиологии им. С.Н.Виноградского РАН,
117312, г. Москва, Проспект 60-летия Октября, д.7, корп.2.

Сохранение жизнеспособности и поддержание генетической стабильности микроорганизмов-продуцентов биологически активных соединений является важной составляющей биотехнологических работ в производстве биофармпрепаратов. Целью данной работы явилось восстановление жизнеспособности после длительного хранения (20 лет) культур-продуцентов инсектицидного препарата виоцида, предназначенного для борьбы с личинками зоофильных мух в местах их массового расплода; акарицидного препарата саркоптоидина, эффективного для борьбы с саркоптоидозами (чесоткой) сельскохозяйственных животных, ферментного препарата стрептолитина, предназначенного для лечения эндометритов животных, фунгицидного препарата виридоцина — для боьбы с аскосферозом пчел, комплексного препарата литических ферментов — дрожжелитина для использования в кормопроизводстве сельскохозяйственных животных. Экологически безопасные, не токсичные, высокоэффективные препараты актиномицетного происхождения, разработанные в ИНМИ РАН, предлагаются для внедрения в практику. Использование различных приемов реактивации позволило восстановить жизнеспособность и биологическую активность культур-продуцентов. Применение антиокислителей позволило в 1,5-5 раз повысить уровень выживаемости и оказывало стабилизирующий эффект на культуры-продуценты.

В настоящее время в коллекции актинобактерий ИНМИ РАН восстановлены все основные продуценты биологически активных соединений, которые могут быть использованы в различных отраслях сельского хозяйства.

RESTORING OF THE VIABILITY OF ACTINOMYCETES PRODUCING PARASITICIDES, FUNGICIDES, AND ANTIBACTERIAL DRUGS APPLICABLE TO VETERINARY MEDICINE

Filippova S.N., Surgucheva N.A., Galchenko V.F.
Winogradsky Institute of Microbiology, Russian Academy of Sciences

The preservation of cell viability and maintenance of the genetic stability of microorganisms producing bioactive compounds is an important aspect of biotechnological processes involved in the production of biopharmaceuticals. The aim of this work was to restore viability after long-term storage (20 years) of cultures producing viocid (insecticide) designed for controlling zoophilous flies larvae in their places of brood, sarcoptoidine (acaricide) effective against sarcoptic mange (scabies) of farm animals, enzyme complex streptolitine for the treatment of endometritis animals, viridocine (fungicide) designed for controlling honeybee disease chalkbrood, a complex of lytic enzymes-drozhzhelitine- for use in feed production of farm animals. Environmentally safe, non-toxic, highly effective substances of actinomycete origin, developed in the Winogradsky Institute of Microbiology RAS and proposed for practical application. Using different methods of reactivation restored the viability and biological activity of producing cultures. The use of antioxidants allowed us to increase by 1.5-5 times the survival of producing cultures and provided a stabilizing effect. Today, all of the

major producers of biologically active compounds that can be used in various branches of agriculture are restored and deposites with the Collection of Actinobacteria of the Winogradsky Institute of Microbiology RAS.

ШРОТ ИЗ СЕМЯН ХЛОПЧАТНИКА С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ (+)-ГОССИПОЛА В КАЧЕСТВЕ КОРМА ДЛЯ БРОЙЛЕРНЫХ КУР

Голубенко З.[1], **Ахунов А.**[1], **Пшеничнов Е.**[1], **Вшивков С.**[1] , **Намазов Ш.**[2], **Хаитов В.**[3], **Стипановик Р.**[4]

[1]*Институт биоорганической химии АН РУз, Ташкент, ул. М. Улугбека, 83*
[2]*Научно-исследовательский институт селекции и семеноводства хлопчатника МСВХ РУз, Ташкент, ул. Университетская, 15*
[3]*Институт ветеринарии МСВХ РУз, Самаркандская область, пос. Тайляк*
[4]*Cotton Pathology Research Unit, College Station, TX 77845*

Семена хлопчатника содержат высококачественный белок, который может быть пригоден для кормления животных. Однако, долгое время его использование было ограничено из-за присутствия ядовитого вещества – госсипола. Госсипол состоит из двух оптически активных энантиомера. Один из них назван (+)-госсипол, а другой как (-)-госсипол. Энантиомеры показывают различную токсичность для животных.

Селекционерами Узбекистана выведен сорт хлопчатника, в котором содержится 93% (+)-госсипола, и он не токсичен. Исследование показало:

- созданный сорт хлопчатника с высоким содержанием (+)-госсипола в семенах обладает хорошими технологическими качествами волокна и пригоден для возделывания в Узбекистане;
- анализ содержания остаточного госсипола в тканях и органах кур показывает, что в течение 2-х недель госсипол выводится из организма;
- шрот, полученный из семян хлопчатника, содержащий 93% (+)-госсипола может быть использован как корм для бройлерных кур.

Таким образом, семена хлопчатника, содержащего высокий уровень (+)-госсипола может быть включен в рацион бройлерных цыплят.

COTTONSEED MEAL WITH HIGH LEVEL OF (+)- GOSSYPOL AS DIET FOR BROILERS

Golubenko Z[1]**., Akhunov A.**[1], **Pshenichnov E.**[1], **Vshivkov S.**[1], **Namazov Sh.**[2], **Khaitov V.**[3], **Stipanovic R.D.**[4]

[1]*Institute of Bioorganic Chemistry AS RUz, Tashkent, M. Ulugbek str., 83*
[2]*The Uzbek Scientific Institute of Selection and Seed-growing of Cotton, Tashkent, Universitetskaya str.,15*
[3]*The Uzbek Scientific Institute of Vetrinary, Samarkand, Taylyak*
[4]*Cotton Pathology Research Unit, College Station, TX 77845*

Cottonseed is composed of ~22.5% of a high quality protein. This represents 3.5 MMT of protein that could be available for human consumption. Cottonseed protein currently is underutilized because of the presence of a toxic compound called gossypol. Gossypol is biosynthesized by the free radical coupling of two molecules of hemigossypol. During this coupling reaction, two optically active enantiomers are formed. One of these is referred to as (+)-gossypol and the other as (-)-gossypol. The enantiomers exhibit different toxicity to non-ruminant animals.

Selectors of Uzbekistan have bred cotton specie containing 93% (+)-gossypol. Research has shown:

- The created cotton specie with the high contents of (+)-gossypol in seeds possesses good technological qualities of fiber and is suitable for cultivation in Uzbekistan;
- The analysis of the residual gossypol contents in tissues and organs of chickens shows that gossypol was removed from organism within 2 weeks;
- The meal received from cotton seeds containing 93% of (+)-gossypol can be used as diet for broilers.

Thus, cotton seeds containing high level of (+)-gossypol can be included in diet of broilers.

РАЗРАБОТКА БИОТЕХНОЛОГИИ ПРЕБИОТИКОВ НА ОСНОВЕ ФУКОЗОСОДЕРЖАЩИХ ГИДРОЛИЗАТОВ И ИССЛЕДОВАНИЕ ИХ БИФИДОГЕННЫХ СВОЙСТВ

Кирьянова С.В., Корнеева О.С.

Воронежский государственный университет инженерных технологий,
394000 г. Воронеж, пр. Революции 19

В последнее время все больше возрастает интерес к применению пребиотиков, относящихся к группе олигосахаридов, в качестве средств диетотерапии при различных заболеваниях. Пребиотическая активность фукозосодержащих олигосахаридов практически не изучена.

Нами была разработана биокаталитическая технология фукоолигосахаридов из биомассы водорослей рода Fucus, включающая выделение фукоидана из растительного сырья, культивирование микромицета – продуцента фукозидазы, ферментативный гидролиз фукоидана. Был выбран штамм микромицета с высокой фукозидазной активностью и определены оптимальные условия биосинтеза фукозидазы выбранным продуцентом и рациональные условия проведения гидролиза фукоидана полученным ферментным препаратом.

С целью установления пребиотических свойств фукоолигосахаридов осуществляли культивирование бактерий *Bifidobacterium bifidum in vitro* на средах с различными источниками углерода. Биохимическую активность бифидобактерий определяли по нарастанию активной кислотности (pH).

Из полученных данных следует, что изменение величины pH, характеризующее интенсивность метаболических процессов у бифидобактерий, коррелировало с накоплением биомассы клеток. Максимальное снижение pH наблюдалось на всех испытываемых средах к 42 часам культивирования, наиболее интенсивное накопление кислот и биомассы бактерий происходило на средах с фукозой и гидролизатом фукоидана.

Таким образом, было установлено, что введение в состав питательной среды фукоолигосахаридов оказывало выраженное стимулирующее влияние на биосинтез бифидобактерий, что свидетельствует о пребиотической активности фукозосодержащих гидролизатов.

THE DEVELOPMENT OF BIOTECHNOLOGY OF PREBIOTICS BASED ON FUCOSE-CONTAINED HYDROLIZATES AND THE RESEARCH INTO THEIR BIFIDOGENIC PROPERTIES

S.V. Kirianova and O.S. Korneeva
Voronezh State University of Engineering Technologies
394000, Voronezh, prospekt Revolutsii, 19

In recent years there has been an increasing interest in the use of prebiotics, relating to the group of oligosaccharides as the means of diet therapy in various diseases. Prebiotic activity of fucose-containing oligosaccharides is not practically studied.

We have developed a biocatalytic technology of obtaining fucooligosaccharides from algal Fucus biomass. It was selected a micromycete strain with high fucosidased activity and determined the optimal conditions for the biosynthesis of fucosidase by a chosen producer.

To determine the prebiotic properties of fucose it was realised the cultivation of bacteria Bifidobacterium bifidum in vitro in media with different carbon sources. Biochemical activity of bifidobacteria was identified from the increase in the active acidity (pH).

The obtained data indicate that the change of pH, characterising the intensity of metabolic processes in bifidobacteria, correlated with the accumulation of cellular biomass. The maximum decrease in pH was observed in all tested media to 42 hours of cultivation; the most intense accumulation of acids and bacterial biomass occurred in media containing fucose and hydrolizate of fucoidan.

Thus, it was revealed that the introduction into the nutrient medium fucose and fucooligosaccharides had a pronounced stimulating effect on the biosynthesis of bifidobacteria. It indicates the prebiotic activity of fucose and its polymers.

It can be inferred that including fucose-containing hydrolysates in dietary supplements, medicines and functional foods with prebiotic and immunostimulating effect is possible.

АНТАГОНИСТИЧЕСКАЯ СПОСОБНОСТЬ АКТИНОМИЦЕТА

Саттарова Р.К.[1], **Хамидова Х.М.**[2], **Ходжибаева С.М.**[2]
[1]*Ташкентский Государственный Аграрный Университет, Ташкент, Узбекистан*
[2]*Институт Микробиологии АН РУз, ул. А. Кадыри 7Б, Ташкент, Узбекистан*

Биосинтез ряда антибиотиков осуществляется на определенном этапе их развития. Известно, что максимальный биосинтез антибиотических веществ у многих микроорганизмов происходит в период общего замедленного роста микроорганизмов.

Нами проводились исследования по изучению антагонистической способности *Streptomyces sp.7* по отношению к *Verticillium dahliae*. Культуру *Streptomyces sp.7* выращивали на жидкой среде Чапека с сахарозой и среде Чапека, где сахароза заменена свекловичной мелассой (3%) в динамике роста при pH 7,3, температуре 30^0C. Антагонистическую способность изучали методом лунок. Контролем служила питательная среда без засева.

Проведенные исследования показали, что биосинтез антибиотических веществ происходит уже начиная с 24 часов роста культуры на обеих средах. При испытании 24 часовой культуральной жидкости *Streptomyces sp.7*, выращенной на среде Чапека, зона угнетения роста *Verticillium dahliae* составила 0,8 см, а на среде с 3% свекловичной мелассы 0,7 см. Максимальная антагонистическая активность культуры наблюдалась на обеих средах в 72 часовой культуре и практически не менялась до 96 часов роста, при дальнейшем культивировании наблюдалось снижение активности. В этот период же отмечено максимальное накопление биомассы. На рисунке показана зона угнетения патогена 72 часовой культурой *Streptomyces sp.7*.

Рис.1 Угнетение роста *Verticillium dahliae* 72-х часовой культуральной жидкостью *Streptomyces sp.7*.

Таким образом, показано, что культуральная жидкость *Streptomyces sp.7*, обладает достаточно высокой антагонистической активностью к *Verticillium dahliae* спустя 72 часа после начала развития, в момент интенсивного накопления биомассы до 96 часов, далее активность снижается.

ANTAGONISTIC ABILITY OF ACTINOMYCETE

R.K. Sattarova[1], Kh.M. Khamidova[2], S.M. Khodjibaeva[2]

[1]*Tashkent State Agricultural University, Tashkent, Uzbekistan*

[2]*Institute of Microbiology of Uzbek Academy of sciences, 7B, A. Kadyri str., Tashkent, Uzbekistan*

Biosynthesis of a number of antibiotics is realized at the definite stage of their development. It is known that maximum biosynthesis of antibiotic substances of a lot of microorganisms happens during general inhibited growth of the microorganisms.

We carried out some investigations on studies of antagonistic ability of *Streptomyces sp.7* with respect to *Verticillium dahliae*. The culture of *Streptomyces sp.7* was grown on the Chapek liquid medium where saccharose and Chapek medium where saccharose was substituted for beet molasses (3%) during growth dynamics at pH = 7,3 temperature = 7,3. Antagonistic ability was investigated while using hole-method. Nutrient medium without incubation was served as a control. The conducted investigations indicated that biosynthesis of antibiotic substances happened already beginning from the 24-hour period of the culture growth on both media. During experiments of 24-hour cultural liquid of *Streptomyces sp.7*, grown on Chapek medium, the zone of inhibited growth of *Verticillium dahliae* was 0,8 cm, and on the medium with 3% beet molasses – 0,7 cm. Maximum antagonistic activity of the culture was noticed on both media in 72-hour culture and it didn't changed practically up to 96-hour period of growth. During further cultivating a reduction of activity was noticed. At the same period the maximum accumulation of biomass was registered. The zone of inhibition of the pathogen by a 72-hour culture of *Streptomyces sp.7* is shown in the figure.

Figure 1. Growth inhibition of *Verticillium dahliae* by a 72-hour cultural liquid of *Streptomyces sp.7*.

Thus, it was shown that cultural liquid of *Streptomyces sp.7* possesses rather high antagonistic activity with respect to *Verticillium dahliae* after 72 hours of the development beginning, at the moment of intensive accumulation of biomass up to 96 hours and then its activity decreases.

КОМПОЗИЦИОННЫЙ ВЕТЕРИНАРНЫЙ ПРЕПАРАТ «БЕТУЛИН В УГЛЕРОДНОЙ МИКРОСФЕРЕ»

Седанова А.В., Пьянова Л.Г., Лавренов А.В., Лихолобов В.А.
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем переработки углеводородов Сибирского отделения Российской академии наук,
644040 г. Омск, ул. Нефтезаводская, 54, E-mail: medugli@rambler.ru

Лечение, профилактика заболеваний и поддержание поголовья животных — наиважнейшие задачи промышленного животноводства. В настоящее время широко используются различные ветеринарные препараты и в первую очередь эффективные сорбенты для детоксикации организма и повышение его устойчивости к заболеваниям.

Известно, что применение биологически активных веществ положительно влияет на физиологическое состояние организма и формирование иммунитета животных. К таким биологически активным веществам относится бетулин (3β,28-дигидрокси-20(29)-лупен) – тритерпеноид ряда лупана. Он обладает ценными фармакологическими свойствами: противовоспалительными, антиоксидантными, иммуномодулирующими, противовирусными и др.

Принципиальным фактором, сдерживающим практическое применение бетулина в ветеринарии, является его предельно низкая растворимость в воде. В обычном состоянии бетулин растворяется только в спирте, поэтому до настоящего времени непосредственное применение бетулина в ветеринарии не встречалось.

Разработанная в Институте проблем переработки углеводородов СО РАН технология получения ветеринарного препарата нового поколения заключается в импрегнировании водорастворимого нанодиспергированного биологически активного компонента, обеспечивающего проявление иммунокоррегирующих, иммуномоделирующих, антиоксидантных свойств препарата.

Наибольшую роль в технологической цепочке играет стадия растворения кристаллического бетулина с последующим диспергированием. Ноу-хау разрабатываемой технологии

основывается на установленном факте изменения растворимости бетулина при варьировании его дисперсности. При уменьшении размера частиц бетулина менее 30 нм не происходит образование кристаллов бетулина, так как при этом 5-10 молекул бетулина образуют аморфные ассоциаты, не формирующие кристаллическую решетку. Высокое состояние свободной энергии ассоциатов обеспечивает растворимость конформационного изомера бетулина в воде.

Основные характеристики разработанного композиционного ветеринарного препарата исследованы комплексом физико-химических методов. Проведены фарматоксикологические исследования препарата.

Согласно исследованиям хронической токсичности композиционных ветеринарных препаратов для лабораторных животных (крыс) при ежедневном скармливании им с кормом в дозах по 200 мг/кг массы тела в течение 14 суток, проведенных в лаборатории кафедры диагностики внутренних незаразных болезней и фармакологии Института ветеринарной медицины ФГОУ ВПО «Омский государственный аграрный университет» (г. Омск) установлено, что испытуемые композиционные ветеринарные препараты: не обладают хронической токсичностью; в терапевтических дозах не вызывают макроскопических изменений внутренних органов, гибели и острой интоксикации лабораторных животных (крыс); не влияют на их поведение, общее состояние; не нарушают функциональную активность органов и систем организма.

Морфологические исследования периферической крови лабораторных животных (крыс) при приеме ими углеродного носителя и разработанного композиционного ветеринарного препарата показали, что разработанный препарат обладает выраженной иммунокорригирующей активностью.

Бифункциональность препарата обеспечивают иммуннотерапевтические свойства биологически активного компонента и адсорбционные свойства нанопористой углеродной матрицы. Сочетание таких свойств обеспечивает его эффективность как препарата пролонгированного действия за счет постепенной миграции бетулина в данном фазовом состоянии. При контакте препарата с биологической жидкостью происходит вымывание из пор сорбента ассоциатов бетулина, оказывающего иммуномодулирующее, противовоспалительное, противовирусное действие. При этом заданная пористая структура углеродного материала препарата позволяет эффективно сорбировать из биологической жидкости средние и высокомолекулярные токсины, которые затем выводятся из организма.

Таким образом обеспечивается максимальный эффект в действии получаемого комплексного ветеринарного препарата «Бетулин в углеродной микросфере».

УМЕНЬШЕНИЕ РИСКОВ ЗАГРЯЗНЕНИЯ МИКОТОКСИНАМИ ПРОДОВОЛЬСТВЕННОГО СЫРЬЯ

Валиуллин Л.Р., Семенов Э.И., Тремасов М.Я., Иванов А.А.
ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», 420075, РТ, Казань, Научный городок-2

За последние годы потери мирового сельского хозяйства от поражения токсигенными микроскопическими грибами только зерновых культур и накопления в них метаболитов опасных для человека и животных составляют по разным данным от 2-х до 16 млрд. долларов в год. Однако представляя на первый взгляд большую угрозу, известно что микроскопические грибы, питаясь мертвыми остатками растений и животных, переваривая их, они участвуют в непрерывно совершающемся круговороте органического вещества почвы. Микроскопические грибы могут поражать вегетирующие растения, однако в процессе заготовки грубых кормов и продовольственного сырья, происходит дополнительное заспорение их за счет попадания частиц

почвы. Грибы могут попадать в продовольственные продукты в основном с первичным сырьём, частично и дополнительно загрязняется в процессе изготовления, транспортировки и хранения. Являясь мертвым субстратом и следовательно, весьма доступным для микроорганизмов, продовольственного сырьё скорее, чем зерно подвергается воздействию грибов и образования ими токсичных метаболитов. Этому могут способствовать также высокая относительная влажность воздуха, температура, аэрация, а также богатый запас питательных веществ.

Существует множество разработок по воздействию на микробные сообщества для улучшения микробиоценоза в растительном сырье. В настоящее время перспективным направлением в решении проблемы считается разработка безопасных и эффективных биологических препаратов для борьбы с токсигенными грибами. Для получения эффективных разработок приобретает важность изучение методов способов определяющих их способность ингибировать развитие фитопатогенов.

В связи с этим проведенные нами сравнительные исследования указывают на то, что множество микроорганизмов *(Staphylococcus aureus, Salmonella typhymurium, Bacillus subtillis и др.*), обладают антагонистическими свойствами против токсигенных микромицетов (*Penicillium, Fusarium, Aspergillus)* и препятствуют образованию ими токсичных метаболитов (*зеараленон, Т-2 токсин, афлатоксины, охратоксин А и др.*) и могут быть отобраны для улучшения микрофлоры продовольственного сырья.

REDUCTION OF FOOD CONTAMINATION WITH MYCOTOXINS

Valiullin L.R., Semenov E.I., Tremasov M.Ya., Ivanov A.A.
FGO"FCTRBS-ARRVI", 2-Nauchny gorodok Kazan the Russian Federation 420075

During the recent years agricultural losses only from grain crops contamination with toxicogenic microscopic fungi and accumulation of metabolites dangerous for human and animals is from 2 to 16 billion dollars a year. However, posing a big threat at first sight, the microscopic fungi are known to consume dead plant and animal remains and participate in continuous circulation of soil organic substances. Microscopic fungi can affect growing plants, however, additional spores containing in the soil particles can also enter during the preparation of rough forages and food raw materials. Basically, microscopic fungi can enter food products with primary raw materials, partially and additionally can be contaminated during forage production, transportation and storage. Being a dead substratum and rather accessible to microorganisms, food materials are exposed fungi affect more rapidly than grain crops and it results in toxic metabolites formations. It can also be promoted by air high relative humidity, temperature, aeration, and also a rich stock of nutrients.

There is a number of developments to control fungi aggregations to improve microbiocenosis in herb materials. Nowadays, a perspective trend in this field of study is development of safe and effective biological preparations to control toxicogenic fungi. Study of methods and means that are able to prevent plant pathogenic fungi development is of high importance in effective inventions.

In this regard our studies demonstrated that a wide range of microorganisms (*Staphylococcus aureus, Salmonella typhymurium, Bacillus subtillis*, etc.) have antagonistic properties against toxicogenic micromycytes (*Penicillium, Fusarium, Aspergillus*) and prevent toxic metabolites formation (zearalenon, T-2 toxin, aflatoxins, ochratoxin A and others) and can be selected to improve forage microflora.

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ УЛЬТРАЗВУКА ДЛЯ УПРАВЛЕНИЯ ПРОЦЕССАМИ РОСТА В БИОПЛЕНКАХ

Акопян В.Б.[1], **Загустина Н.А.**[2], **Филатова В.А.**[3]
[1]*ОАО «ГосНИИсинтезбелок». 109004, г. Москва, ул. Александра Солженицына, 27.*
[2]*Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, 119071 г. Москва, Ленинский проспект, 33.*
[3]*МГУ Инженерной Экологии, 105066, г. Москва, улица Старая Басманная, дом 21/4.*

Биопленки — особая форма хорошо организованного взаимодействующего сообщества микроорганизмов, образующегося на влажных поверхностях. Биопленки широко распространены в природе, в ряде случаев они небезвредны, но могут быть также и полезны в различных биотехнологических приложениях, реализация которых требует разработки подходов к управлению процессами роста и развития, как сообществ микроорганизмов, так и их отдельных представителей в приповерхностных сообществах.

Как показали специальные исследования, для управления процессами роста и развития в биопленках весьма перспективен ультразвук, способный, в зависимости от его параметров и условий применения, уничтожать биопленки, интегрально или выборочно подавлять рост и развитие культур микроорганизмов в биопленках, либо интегрально или выборочно стимулировать их.

PROSPECTS OF ULTRASOUND USING FOR TO CONTROL THE GROWTH OF BIOFILMS

Akopyan V.B.[1], **Zagustina N.A.**[2], **Filatova, V.A.**[3]
[1]*Ltd "GosNIIsintezbelok" 27, Alexander Solzhenitsyn str. Moscow 109004*
[2]*A.N. Bach Institute of Bochtmistry, 33, Leninsky prospekt, Moscow, 119071*
[3]*Moscow State University of Environmental Engineering. 21/4, Staraya Basmannaya str., Moscow, 105066*

Biofilms are a special form of good associated and organized microbial community which is formed on the wet surfaces. Biofilms are very widely distributed in the nature, they are not harmless in some cases, but they can be useful also in the different biotechnological supplements, which implementation is required designing approaches to control the growth and development as community of the microorganisms as their separated microorganism line in the near-surfaces communities.

As was shown by the special researches the ultrasound is very perspective to control the growth and development the biofilms, depending on its characteristics and conditions of use the ultrasound can to destroy the biofilms, integrality or selectively,

КОМПЛЕКС ПРЕПАРАТОВ РНК ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ПРОТИВОИНФЕКЦИОННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ЖИВОТНЫХ

Аликин Ю.С.

Институт медицинской биотехнологии ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»,
633010, г. Бердск, Новосибирской обл., ГУС, а/я 112;
ЗАО «Велепрес», 630128, г. Новосибирск

Исследованиями последних десятилетий в области биологически активных веществ (БАВ) выявлена чрезвычайно важная роль рибонуклеиновых кислот в регуляции резистентности организма животных, повышения неспецифической устойчивости его к неблагоприятным воздействиям внешней среды, коррекции иммунодефицитных состояний. Все препараты на основе РНК (вестин, полирибонат, провест) получены из пекарских дрожжей, специально разработанной биотехнологией, охарактеризованы по физико-химическим и биологическим показателям, утверждены в ВГНКИ и Россельхознадзоре. Это результат многолетних и тщательных исследований совместных и с ИЭВСиДВ, НГАУ и с другими институтами ветеринарного профиля. Каждому из этих препаратов отдано от 10 до 20 лет исследований по отработке технологии получения препаратов и изучения их безвредности и специфической активности. Препараты Вестин и Полирибонат начали исследовать для ветеринарного применения с 1994 года. Провест по времени исследования более поздний препарат (после 2000 года), чем Вестин и Полирибонат. Фактически — это препарат второго поколения на основе дсРНК. Возможности Вестина шире потому, что он разработан ранее и исследован более глубоко как у разных классов животных, так и по спектру заболеваний. Провест очень мало применяли у КРС, но широко у поросят.

По составу: Вестин и Провест содержат двуспиральные РНК (дсРНК), которые отвечают за синтез интерферонов и других цитокинов в организме почти всех животных, поэтому их называют индукторами интерферона. Как известно, самые лучшие индукторы интерферона — вирусы, но, к сожалению, они обладают способностью «расправляться» с организмом, в который они проникают. Созданные препараты на основе двуспиральных (дс)РНК, также как вирусы, способны при введении в организм индуцировать, вызывать синтез эндогенного интерферона, но при этом они абсолютно безвредны и обладают широким спектром противовирусных эффектов. В этом их достоинство и огромная перспектива. Кроме противовирусных эффектов они способны оказывать иммуномодулирующий эффект (это способность препарата стимулировать иммунную систему, если она дефицитна), или, наоборот, подавить её, если она сверхактивна, и в каждом из этих случаев привести иммунитет к норме. Полирибонат — препарат на основе однонитевой РНК является очень хорошим стимулятором гемопоэза, а также иммуномодулятором, но не обладает противовирусными свойствами. Как дсРНК (Вестин и Провест), так и Полирибонат способны усиливать эффективность вакцинации, т.е. они выступают в роли иммуноадъювантов, причем этот эффект наблюдается при использовании малых доз этих препаратов при совместном введении с вакцинами.

Очень важные наблюдения сделаны ранее д.в.н. Г.А.Ноздриным (НГАУ): если Полирибонат или Вестин вводить сухостойным коровам (примерно за месяц до отела), то новорожденные телята будут здоровыми и будут хорошо расти. Этот момент отражен в инструкции по применению Полирибоната и требует своего дальнейшего развития, как у других видов (поросята, овцы, лошади и др.), так и по дозам. Препараты на основе РНК не обладают видовой специфичностью, поэтому их можно применять как у наземных, так и водных позвоночных. Препараты хорошо совместимы с другими лекарственными средствами (ферментами, антибиотиками, гормонами и др.).

THE COMPLEX PREPARATIONS OF RNA FOR CREATION ANTIINFECTIOUS RESISTANCE OF THE ANIMALS

Alikin Yu. S.
State Scientific Sentre for Virology and Biotechnology "Vector",
Institute of Medical Biotechnology, Berdsk, Novosibirsk region, p/o 112
ZAO "Velepres", Novosibirsk

Immunostimulatory and protective effects of yeast-originated single-stranded and double-stranded RNAs were studied in animals infected with pathogenic bacteria or viruses. Prophylactic injection of RNAs increased both antibody production and protection of mammals (guinea pigs, rabbits, calves and pigs) and fish (carp, *Cyprinus carpio*) infected with tuberculosis and classical swine fever or spring viraemia of carp, respectively. RNA-based commercial drugs can be effectively used in veterinary and aquaculture for prevention and therapy of infectious diseases as well as for vaccine potentiation.

ДЕЙСТВУЮЩЕЕ НАЧАЛО ПРОТИВОМИКРОБНОГО ЭФФЕКТА УЛЬТРАЗВУКОВЫХ АЭРОЗОЛЕЙ ВОДНОЙ СУСПЕНЗИИ СМОЛЫ СОСНЫ

Бамбура М.В.[1], Браславец В.Р.[2], Пашинин А.Е.[1]
[1]*ОАО «ГосНИИсинтезбелок». 109004, г. Москва, ул. Александра Солженицына, 27.*
[2]*ООО «ЮниПроф», 129626, г. Москва,*
ул. 3-я Мытищинская, д.16, корп. 61, офис 303.

Смола, экстрагированная из древесины органическими растворителями представляет собой ценный продукт, обладающий бактерицидными свойствами. Эта смола, вместе с некоторыми другими смолоподобными веществами, нашла, в виде суспензий и растворов, применение в аэрозольных формах для обеззараживания промышленных и офисных помещений, для улучшения условий труда производственного персонала и офисных работников. Микроорганизмы даже при длительном контакте со смолой сосны практически не вырабатывают резистентности к ним. Но прямое применение смолы сосны весьма затруднительно, так как она, отличается высокой вязкостью и низкой растворимостью в воде, а растворы в органических растворителях в ряде случаев противопоказаны для применения, как в медицине, так и в парфюмерии или в товарах бытового назначения.

Смола сосны с помощью ультразвука может быть переведена в состояние суспензии с микронными размерами и эта суспензия обладает бактерицидным действием. Для определения действующего начала антимикробного действия смолы сосны, проверялось бактерицидное действие растворенных под влиянием ультразвука и нерастворимых в воде фракций смолы сосны на различные виды микроорганизмов.

Результаты исследований показали, что бактерицидное действие суспензии смолы сосны обусловлено растворенными в воде компонентами, такими как фенолы, летучие вещества и некоторые кислоты, а также позволили заключить, что водные суспензии смолы сосны оказывают явное антимикробное действие в течении длительного времени.

Проведенные исследования установили антимикробную дозу аэрозоля суспензий сосновой смолы которая составляет 10 мл суспензии на обработку $м^3$ объема, а минимальная антибактериальная доза смолы сосны в водной суспензии, составляла 2,5 г/л., таким образом, количество смолы сосны, перешедшие в аэрозоль и распыленное на единицу поверхности, составило 0,025 $г/м^3$.

ACTIVE PRINCIPLE OF THE ANTIMICROBIAL EFFECT OF PINE TAR AQUEOUS SUSPENSION ULTRASONIC AEROSOLS

Bambura M.V.[1], **Braslavets V.R.**[2], **Pashinin A.E.**[1]
[1]*Ltd "GosNIIsintezbelok" 109004, Moscow, st. Alexander Solzhenitsyn, 27.*
[2]*Ltd "YuniProf", 129626, Moscow, st. 3rd Mytischinskaya, 16, Bldg. 61, office 303.*

The resin extracted from wood with organic solvents is a valuable product with antibacterial properties. This resin, along with several other retinoid agents, transformed in the form of suspensions are useful in aerosol form for the decontamination of industrial and office space, improved working conditions for industrial personnel and office workers. Microorganisms even in prolonged contact with the pine tar do not get resistant to it. The direct application of pine tar is very difficult because it has high viscosity and low solubility in water. Pine tar organic solvents in some cases are contraindicated for use in medicine and in perfumery or in household goods.

Using ultrasound pine tar can be transformed into a micron-size suspension with bactericidal action. To determine the active principle of antimicrobial action of pine resin, was tested bactericidal action the fraction dissolved under the influence of ultrasound and insoluble fractions of pine tar.

The results showed that the bactericidal action of the suspension is due to pine tar dissolved fraction in water, including phenols, volatile substances and some acids.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА ВИРУСА ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Булгаков А.Д., Валихов А.Ф.
Московский Государственный Университет Пищевых Производств,
109316, г. Москва, ул. Талалихина, д.33

Степень доброкачественности животноводческой продукции напрямую зависит от состояния здоровья убойных животных, следовательно, любая патология будет снижать качество получаемого сырья. В связи с этим на данном этапе развития отечественной мясной и молочной промышленности необходимо иметь качественные и достоверные методы диагностики инфекционных заболеваний животных. Наибольшую проблему представляет диагностика скрытых, медленно протекающих, хронических инфекционных заболеваний из-за отсутствия каких-либо патологоанатомических признаков при предубойной и послеубойной диагностике на мясокомбинате. Одним из наиболее распространенных хронических заболеваний крупного рогатого скота в России, является лейкоз.

Лейкоз крупного рогатого скота (лат. – Bovine leucosis; англ. – Leukaemia in cattle) (ВЛКРС) – хроническая болезнь опухолевой природы, протекающая бессимптомно или характеризующаяся лимфоцитозом и злокачественным разрастанием кроветворных и лимфоидных клеток в различных органах. В настоящее время по разным данным количество инфицированных вирусом лейкоза крупного рогатого скота животных составляет 30-70%. Диагностические исследования ВЛКРС, в нашей стране, представлены реакцией иммунодиффузии в геле, и иммуноферментный анализ (ИФА). Существующие серологические тесты не дают абсолютно достоверных результатов, так как чувствительность их ограничена и зависит от уровня титров антител. В свою очередь, иммунологические показатели сильно варьируют в связи с индивидуальными, физиологическими, породными, возрастными и другими характеристиками животных. Некоторые инфицированные животные вследствие низких титров антител к ВЛКРС или их отсутствия могут остаться не выявленными. Так же эти тест-системы могут быть использованы только для исследования крови и, следовательно, для прижизненной диагностики, тогда как для исследования мяса и послеубойной ветеринарно-санитарной экспертизы (ВСЭ) они не пригодны. В особенности этот

вопрос актуален при проведении послеубойной ВСЭ на мясокомбинатах и экспертизе импортного сырья, поступающего на мясоперерабатывающие заводы в виде блоков. Сложность состоит в том, что для вскрытия лимфатических узлов рекомендованных соответствующими пунктами «Правил ветеринарного осмотра убойных животных и ветеринарно-санитарной экспертизы мяса и мясных продуктов» необходимы два условия: наличие обоснованного подозрения на инфекционную болезнь и сохранение целостности лимфатических узлов при обработке туши. Практика показывает, что послеубойная ВСЭ ярко выраженных форм лейкоза не представляет особой трудности для специалиста. Сложнее обстоит дело с диагностикой его скрытых форм. Предполагается, что значительная часть скрытых лейкозов не диагностируется вовсе. В связи с этим для индикации ВЛКРС необходимо использовать метод, позволяющий выявлять вирус из любых тканей животного с высокой степенью чувствительности и специфичности. Одним из подобных методов является полимеразная цепная реакция (ПЦР), позволяющая выявить возбудителя не только в крови, но и в другом биологическом материале, независимо от наличия антител. Однако ПЦР исследования мясного сырья на предмет обнаружения ВЛКРС не проводится, в связи с отсутствием адекватной адаптации данной методики.

Нами был создан, оптимизирован и апробирован вариант постановки ПЦР тест-системы для вируса лейкоза крупного рогатого скота. В процессе этого была подобрана пара праймеров:

5’- GTCTTCCCACATCCGTAACATCTACT -3’

5’- CCCCAGGTCCCATCAACATTCATCAG -3’

для выявления ампликона длиной 227 пар нуклеотидов, в гене GAG.

При помощи разработанной тест-системы было проверенно 260 образцов полученных от КРС из 8 различных хозяйств, из них 27 дали положительный результат на наличие вируса лейкоза. Эти исследования были полностью подтверждены серологическим методом диагностики ВЛКРС- реакцией иммунодиффузии.

MOLECULAR DIAGNOSIS OF LEUKEMIA VIRUS IN CATTLE

Bulgakov A.D., Valihov A.F.,
Professor,
Moscow State University of Food Production,
109316, Moscow, ul. Talalihina, 33

The degree of good quality animal products depends on the health status of slaughtered animals, therefore, any abnormality will reduce the quality of the raw material. Therefore, at this stage of development of domestic meat and dairy industry must have a quality and reliable methods for diagnosis of infectious animal diseases. The biggest problem is the diagnosis of latent, slowly occurring, chronic infectious diseases due to the absence of any pathological features in pre-slaughter and post-slaughter diagnosis of a meat factory. One of the most common chronic disease of cattle in Russia, is a leukemia.

Bovine leukemia (Latin — Bovine leucosis; English. — Leukaemia in cattle) (BLV) — a chronic disease of the tumor nature, asymptomatic or characterized by lymphocytosis and malignant growth of hematopoietic and lymphoid cells in various organs. Currently, according to various sources of virus-infected bovine leukemia animals is 30-70%. Diagnostic tests BLV in this country, presents a reaction in the gel immunodiffusion, and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Current serological tests do not give absolutely accurate results, since their sensitivity is limited and depends on the level of antibody titers. In turn, the immunological parameters vary greatly with regard to the individual, physiological, breed, age and other characteristics of animals. Some infected animals due to low antibody titers to BLV or lack of them may remain undetected. Thus, these test systems can only be

used for the study of blood and, consequently, for the *in vivo* diagnosis, whereas for the study of meat after slaughter and veterinary-sanitary examination (VSE), they are not suitable. In particular, this issue is relevant during the post-slaughter meat processing plants on the VSE and the examination of imported raw materials coming into the meat-processing plants in the form of blocks. The difficulty is that the opening of the lymph nodes recommended by the relevant paragraphs of "Rules of veterinary inspection of slaughtered animals and the veterinary-sanitary examination of meat and meat products" requires two conditions: the existence of reasonable suspicion for an infectious disease and preserve the integrity of the lymph nodes in the processing of carcasses. Practice shows that the Post slaughter VSE distinct forms of leukemia is not particularly difficult for the specialist. It's more complicated to diagnose its hidden forms. It is assumed that much of the hidden leukemia is not diagnosed at all. In this connection, to indicate the need to use BLV method to detect the virus from any tissue of an animal with a high degree of sensitivity and specificity. One of these methods is the polymerase chain reaction (PCR), which allows to identify the pathogen not only in blood but also in other biological material, regardless of the presence of antibodies. However, PCR studies of raw meat in order to detect BLV not conducted due to lack of adequate adaptation of this technique.

We have created, tested and optimized version of the PCR test systems for the leukemia virus in cattle. In the process, was selected pair of primers:

5'-GTCTTCCCACATCCGTAACATCTACT -3 '
5'-CCCCAGGTCCCATCAACATTCATCAG -3 '

to identify the amplicon length 227 bp in the gene GAG.

With the developed test system was checked up 260 samples obtained from cattle from 8 different farms, 27 of them tested positive for the virus leukemia. These studies have been fully confirmed by the serological method of diagnosis BLV-immunodiffusion reaction.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НАНОПОРОШКОВ МЕТАЛЛОВ ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ БРОЙЛЕРОВ

Фаткуллина Л.Д., Бурлакова Е.Б.
Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва;
119334, Москва, ул. Косыгина,4. E-mail: bcp-lfat@mail.ru

Важными добавками для питания цыплят-бройлеров являются микроэлементы, недостаток которых приводит к нарушениям роста, развития и размножения птицы, а также вызывает различные болезни, что ухудшает качество продукции. Введение микроэлементов в организм в виде солей металлов имеет некоторые недостатки, связанные с их низкой адсорбцией и высокой токсичностью. Мы использовали в рационе питания бройлеров металлы в виде нанокристаллических порошков. Нанопорошки железа, цинка, меди, полученные методом температурной конденсации в ИХФ РАН, представляют собой частицы заданной чистоты и степени дисперсности (50-90 нм). Ранее нами было показано, что наночастицы металлов являются биологически активными веществами. Они имеют низкую токсичность, образуют депо металлов в организме, что обеспечивает пролонгированный характер их действия. Внесение порошков в разных концентрациях в премиксы (витаминно-минеральные добавки) кормов для выращивания цыплят-бройлеров повышает продуктивность птиц на 7-15% и снижает затраты корма на единицу прироста живой массы на 3-9% при 100%-ной сохранности поголовья. Наибольший прирост живой массы бройлеров получен при добавлении в премиксы Fe:Zn:Cu в соотношении 12,5:6,0:1,7 г/тонну соответственно (в контрольной группе птиц источником микроэлементов служил естественный уровень элементов корма). Анализ содержания металлов в органах и тканях цыплят в процессе роста методом атомно-адсорбционной спектрофотометрии показал,

что происходят фазные колебания уровня Fe, Zn, Cu в крови, печени, селезенке и мышцах цыплят, однако избирательного накопления металлов не обнаружено. Усиление микроэлементного обмена у птиц при введении в премиксы нанометаллов происходит за счет повышенного в 1,1-2,3 раза усвоения всех трех металлов из корма, что и приводит к интенсификации роста цыплят. Полученные данные показывают, что нанопорошки могут быть использованы как биологически активные вещества для выращивания цыплят-бройлеров.

USING OF METAL NANOPOWDERS FOR RAISING OF BROILERS

Fatkullina L.D., Burlakova E.B.
Emanuel Institute of Biochemical Physics. RAS, Moscow;
4, Kosygin street, Moscow, 119334, Russia; E-mail: bcp-lfat@mail.ru

Among the food products, important in poultry nutrition, are mineral substances, necessary for growth and reproduction. The lack or microelements damages growth and fertility, causes bird's diseases, reduces the quality of poultry products. Existing methods of adding metals as brines to food have several defects connected with low adsorption and high toxicity. We suggest to use microelements (nanocrystalline powders) for feeding broilers. Nanodispersible metal powders Fe, Zn, Cu produced by thermal condensation method at Semenov Institute of Chemical Physics RAN, are particles of specified purity and dispersion (50-100 nm). Earlier, we showed that metals in nanocrystalline state are efficient and biologically active chemicals. They have low toxicity and make metal depots in organism, making sure prolonged influence. Introduction of iron, zinc, copper powders in different concentrations into premixes (vitamin-mineral additions) of food for broilers increases bird's mass by 7-15 percent and reduces feed cost by 3-9 percent without any loss of livestock. The largest augmentation of broiler growth was achieved with Fe:Zn:Cu supplement ratio 12,5:6,0:1,7 g/ton correspondingly (reference group had food with natural level of the same elements). The research of metal content in organs and tissues of poultry during the growth process on the basis of absorption spectrophotometry method showed phase oscillations of iron, zinc and copper level in blood, liver, spleen and muscles, but there was not any selective accumulation of metals in these organs. The improvement in element exchange in organism of poultry is the result of the 1.1-2.3 times increase of absorption of all three metals from food, that causes the intensification of poultry mass growth. These data confirm that nanodispersible metal may be used for poultry growth.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К НЕСТЕРОИДНЫМ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ PGH-СИНТАЗЫ РАЗНЫХ ОРГАНОВ ОВЕЦ

Карпенюк Т.А., Бейсембаева Р.У., Гончарова А.В., Табыс Д.
Казахский национальный университет им. Аль-Фараби,
050040,г. Алматы, пр.Аль-Фараби, 71, корп.6.

В клетках человека и животных функционирует биферментная простагландинсинтазная система, ответственная за биосинтез простагландинов (PG) — семейства внутри- и межклеточных медиаторов. Известны конституционные, (PGH-синтаза-1, -1a, и -3) и индуцируемые (PGH-синтаза-2) изоформы фермента. Конституционные PGH-синтазы экспрессируются почти во всех типах клеток и осуществляют регуляцию физиологических функций в норме. Индукция PGH-синтазы-2 связана в основном с возникновением патологических процессов. Экзогенными

ингибиторами PGH-синтазы являются нестероидные противовоспалительные препараты. Большинство из них являются неселективными агентами и имеют побочное действие, связанное с ингибированием PGH-синтазы-1. Снижение активности или концентрации PGH-синтазы-1 в клетке может привести к различным видам патологий (язве желудка, дисфункции почек, некоторым видам опухолей и т.д.). Нами в модельных экспериментах были изучены кинетические параметры и чувствительность PGH-синтазы разных органов к действию нестероидные противовоспалительных препаратов. Это позволит оценить степень селективности их действия для снижения побочных эффектов лекарственной терапии. Из тканей сердца, почек, мышц, клеток периферической крови овец были выделены мембраносвязанные простагландин-синтазные биферментные системы. Ингибиторным анализом, с использованием селективного ингибитора PGH-синтазы аспирина, показано, что изоформы PGH-синтазы ткани сердца и поперечно-полосатых мышц отличаются от изоформ PGH-синтазы, функционирующих в клетках почки и крови. По кинетическим параметрам PGH-синтаза из мышц, подобна ферменту сердца, а PGH-синтаза из клеток почки — PGH-синтазе клеток крови. Установлено, что после инкубации ферментного препарата с индометацином активность PGH-синтазы из поперечно-полосатых мышц и мышц сердца инактивируется, а из ткани почки и клеток крови не изменяется.

COMPARATIVE RESEARCH OF SENSITIVITY TO NON-STEROID ANTI-INFLAMMATORY PREPARATIONS OF PGH-SYNTHASE FROM DIFFERENT ORGANS OF SHEEP

Karpenyuk T.A., Bejsembaeva R.U, Goncharova A.V., Tabys D.
The Kazakh national university of Al-Farabi, 050040, Almaty, al-Farabi av. 71.

Bi-enzyme prostaglandin-synthase system functions in cells of human and animals. This enzyme system is responsible for biosynthesis of prostaglandins (PG) – families of intra- and intercellular mediators. There are constitutional (PGH-synthasa-1,-1a,and-3) and induced (PGH-synthasa-2) enzyme isoforms. Constitutional PGH-synthases are expressed almost in all types of cells and realized the regulation of physiological functions in norm. Induction of PGH-synthase-2 is connected basically with occurrence of pathological processes. Non-steroid anti-inflammatory preparations are an exogenic inhibitors of PGH-synthase. The majority of them are not selective agents and have the secondary action connected with inhibition of PGH-synthase-1. Decrease of the activity or concentration of PGH-synthase-1 in a cell can lead to various kinds of pathologies (a gastric ulcer, dysfunctions of the kidneys, to some kinds of tumors etc.). The kinetic parameters and sensitivity of PGH-synthase from different organs to action of non-steroid anti-inflammatory preparations have been studied in modeling experiments. It will allow to estimate the degree of selectivity of their action for decrease the secondary effects of medicinal therapy. Membrane-bounded prostaglandin-synthase bi-enzyme systems from various tissue of heart, kidneys, muscles, cells of peripheral blood of sheep have been allocated. By inhibitor analysis, with use of selective inhibitor of PGH-synthase – aspirin, it has been established that isoforms of PGH-synthase from heart tissue and striated muscles differs from isoforms of PGH-synthase functioning in cells of kidney and blood. On kinetic parameters PGH-synthase from muscles is similar to heart enzyme, but PGH-synthase from kidney cells is similar to PGH-synthase from blood cells. It was established that after incubation of enzyme with indometatcin the activity of PGH-synthase from striated muscles and heart muscles is inactivated, but the activity of enzyme separated from kidney tissue and blood cells doesn’t change.

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ УВЕЛИЧЕНИЯ БИОМАССЫ ПЕРЕВИВАЕМЫХ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ *IN VITRO*

Плотникова Э.М, Хамзина Е.Ю., Кириллова Ю.М., Глаголева И.С., Хусаенов Р.Х.
ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», 420075, РТ, Казань, Научный городок-2

Значительное место в ветеринарной биотехнологии занимает культивирование животных клеток in vitro для дальнейшей репродукции на них вирусов с целью производства вакцин сельскохозяйственного назначения. В связи с этим актуальна проблема разработки условий наиболее эффективного и экономически выгодного выращивания культур клеток животных в лабораторных условиях.

Через 72ч культивирования в термостате (контроль) без добавления серотонина индекс пролиферации (ИП) перевиваемой линии клеток MDBK был равен 2,4. Добавление серотонина при тех же условиях культивирования позволило увеличить ИП на 37% ($p \leq 0,05$).

При росте клеток в атмосфере 5% CO_2 через 72ч ИП составил 3,8, что на 58% ($p \leq 0,05$) больше контрольного значения. Введение серотонина в среду культивирования позволило увеличить ИП на 100% ($p \leq 0,05$) по сравнению с контролем.

Результаты исследований дают нам основание заключить, что серотонин и двуокись углерода в физиологических концентрациях по отдельности и вместе участвуют и тесно взаимодействуют в процессах роста и деления клеток перевиваемой линии MDBK, стимулируют их. При этом в их взаимодействии проявляется принцип синергизма.

SOME ASPECTS ON INCREASING THE BIOMASS OF *IN VITRO* PASSED CELL LINES

Plotnikova E.M., Khamzina E.J., Kirillova J.M., Glagoleva I.S., Husaenov R.H.
FGO"FCTRBS-ARRVI", 2-Nauchny gorodok Kazan the Russian Federation 420075

In-vitro cultivation of animal cell cultures plays a crucial role for further recovery of viruses to produce animal vaccines. In this regard, it is urgent to develop the conditions suitable for the most efficient and cheap animal cell cultures cultivation under laboratory conditions.

At 72 hours cultivation (control) serotonin-free conditions in thermostat the proliferation index in passed MDBK cell cultures was 2,4. The presence of serotonin at the same culture allowed to increase the proliferation index as high as 37% ($p \leq 0,05$).

At 72 hours the presence of 5% CO_2 in atmosphere resulted in proliferation index increase up to 3,8. that is for 58% ($p \leq 0,05$) more than the control value. Serotonin introduction into cultivation medium allowed to increase proliferation index by 100% ($p \leq 0,05$) comparing to the control.

The investigation results give us the grounds to conclude that the introduction of serotonin and carbon dioxide both separately and in combination react and promote passed MDBK cellular growth and fission processes. Their interaction shows the synergy principle.

ГРИБЫ РОДА CANDIDA ДЛЯ УТИЛИЗАЦИИ ОСАДКОВ СТОЧНЫХ ВОД

Матросова Л.Е., Иванов А.А., Тремасов М.Я.
ФГБУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» (ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, научный городок-2

В последние годы в связи с резким ухудшением экологической ситуации особый интерес представляет разработка и внедрение эффективных технологий утилизации органических отходов сельскохозяйственных и промышленных предприятий.

Нами, проведен скрининг микроорганизмов и грибов для утилизации осадков сточных вод, по удобрительной ценности не уступающих подстилочному навозу, но (содержание экотоксикантов и патогенных микроорганизмов) имеющих ограничения для непосредственного внесения в почву.

В результате исследований отобраны эффективные непатогенные и нетоксичные штаммы – грибы рода Candida (C. krusei и C. tropicalis); отработаны оптимальные дозы внесения биомассы. Исследование образцов субстрата, отобранных на 40 сут после обработки, показало эффективность использования грибов для биодеградации осадков сточных вод. После обработки улучшился внешний вид субстрата (обработанный субстрат представлял рассыпчатую массу темно-серого цвета), устранился неприятный специфический запах. В обработанном субстрате отсутствовали патогенные микроорганизмы, в том числе микроорганизмы рода Salmonella, личинки и куколки синатропных мух; яйца гельминтов, ооцисты простейших, при наличии их в исходном субстрате. Индекс бактерий группы кишечной палочки, энтерококков менее 10 кл/г. Обработанный субстрат безвреден для лабораторных животных. Содержание экотоксикантов не превышало ПДК.

Таким образом, результаты экспериментов свидетельствуют об эффективности использовании грибов рода Candida для утилизации осадков сточных вод, позволяющих устранить риск функционирования очистных сооружений и получить экологически чистое органическое удобрение.

FUNGI OF CANDIDA OF THE GENUS FOR SEWAGE UTILIZATION

Matrosova L.E., Ivanov A.A., Tremasov M. Ya.
Federal center of toxicological, radiation and biological safety, Kazan

Last years in connection with the sharp worsening of ecological situation development and introduction of effective technologies of utilization of organic wastes of agricultural and industrial enterprises are present particular interest.

We conducted screening of microorganisms and fungi for sewage utilization on fertilizer value not yielding to bedding manure, but (content ecotoxins and pathogenic germs) are having limitations for the direct bringing in soil.

As a result of researches effective nonpathogenic and untoxic strains – fungi of Candida of the genus (C. krusei and C. tropicalis) were selected; optimal doses of bringing biomasses were trained. Investigation of substrate pattern selected for a 40 day revealed efficiency of the applied fungi for biodegradation of sewage. After treatment substrate appearance became better (treating substrate is a friable substance of darkly-grey color), an odor specific nuisance was remove. In the treating substrate pathogenic germs including microorganisms of Salmonella family, larva's and chrysalises of houseflies, eggs of helminthes, oocystes of protozoa (at presence of in initial substrate) were absent. Index of bacteria's of colon bacillus group, enterococcuses is less 10 kl/g.

Content of ecotoxins not exceed of permissible concentration level. The treating substrate is harmless for laboratory animals.

Thus, results of experiments testify to efficiency of the use of fungi of Candida of the genus for sewage utilization allowing to remove the risk from work of treatment facilities and get a pure organic fertilizer ecologically.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРЕБИОТИКОВ В СОСТАВЕ КОМБИКОРМА ДЛЯ ОСЕТРОВЫХ РЫБ

Новикова Ю.С., Корнеева О.С., Кирьянова С.В., Щербакова К.С.
ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет инженерных технологий,
394000 г. Воронеж, пр. Революции 19

В последние годы сложилась катастрофическая ситуация с запасами осетровых рыб, что требует совершенствования технологий их выращивания в искусственных условиях с применением эффективных комбикормов. Доказана целесообразность использования пробиотических препаратов для повышения резистентности, профилактики и лечения осетровых рыб, связанных с микробным заражением комбикормов, а также повышения их продуктивности. Показана перспективность направленного формирования микрофлоры кишечника на ранних стадиях развития осетровых, наиболее важных для их дальнейшего роста.

В настоящее время накоплен обширный материал, свидетельствующий о важной роли пребиотиков, в частности, фукозы, в основных физиологических процессах млекопитающих. Современный интерес к производству фукозы вызван ее иммуностимулирующими свойствами. Необычайно важна роль молекул фукозы в репродуктивных процессах позвоночных.

Наиболее доступными природными источниками фукозосодержащих полисахаридов служат водоросли родов *Fucus* и *Laminaria*. Одним из перспективных способов получения фукозы является ферментативный гидролиз фукоиданов – матричных полисахаридов бурых водорослей. В связи с вышеизложенным, на кафедре микробиологии и биохимии ВГУИТ проведены работы по получению ферментного препарата фукозидазы, способного эффективно расщеплять фукоидан, и разработан способ получения фукозы путем ферментативного гидролиза фукоидана, а также исследовано влияние фукозы на репродуктивную функцию млекопитающих. Предполагается, что введение фукозы или фукозосодержащих гидролизатов в состав комбикорма для рыб ценных пород, во-первых, окажет позитивное воздействие на кишечную микрофлору и нормализует функции ЖКТ рыб, являясь пребиотиком, во-вторых, позволит улучшить их репродуктивные свойства, что положительно скажется на их искусственном воспроизводстве.

PROSPECTS OF USING OF PREBIOTICS IN THE MIXED FODDER FOR STURGEON

Yulia S. Novikova , Olga S. Korneyeva, Svetlana V. Kiryanova, Kristina S. Sherbakova.
Voronezh State University of Engineering Technologies
394000, Voronezh, prospekt Revolutsii, 19

There is a catastrophic situation with stocks of surgeon in recent years. That fact requires some improvements in technologies to grow them in vitro with using of effective feed. It is proved the expediency of prebiotic preparations to increase resistance, prevention and treatment of sturgeon related to cross-contamination of feed, as well as rise in their productivity. It is shown the prospects of directional formation of the intestinal microflora at early stages of the development of sturgeon which are the most important for their further growth.

Nowadays vast material has accumulated, indicating the important role of prebiotics, for example, fucose, in basic physiological processes of mammals. Present interest in the production of fucose is excited by its immunostimulating properties. The role of fucose molecules in reproductive processes in vertebrates is extremely important.

Algae *Fucus* and *Laminaria* are the most available source of fucose-containing polysaccharides. One of the prospective ways of obtaining of fucose is enzymatic fucoidan hydrolysis – matrix

polysaccharides of brown algae. In the connection with above-mentioned information, at Voronezh State University of Engineering Technologies at the Department of Microbiology and Biochemistry the works on obtaining of an enzyme preparation of fucosidase that can split fucoidan effectively were successfully carried out. It was developed a way of fucose obtaining by enzymatic fucoidan hydrolysis and also studied the effect of fucose on the reproductive function of mammals. It is assumed that the introduction of fucose or fucose-containing hydrolysates in the feed for fish of valuable species, being prebiotic, first of all, will have a positive effect on the intestinal microflora and normalise functions of the digestive tract of fish. Secondly, it will improve their reproductive properties and have a positive impact on the artificial reproduction.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ ДЛЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ РАЗЛИЧНЫХ ШТАММОВ БРУЦЕЛЛ

Панкова Е.В., Плотникова Э.М.

Федеральное Государственное Бюджетное Учреждение «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», 420075, г. Казань, Научный городок – 2 (тел.: (843) 239-53-34)

На фоне усиленного воздействия природных и антропогенных факторов на возбудителей инфекционных болезней, в том числе и на возбудителя бруцеллеза, возникают биотипы варианты микроорганизмов с резко измененными таксономическими признаками. Так, установлено, что в настоящее время в природе наряду с S- формами, нередко встречаются RS- и R -диссоцианты бруцелл, которые при применении общепринятых методов затрудняют их дифференциацию. Между тем из доступной литературы известно, что при диагностике ряда инфекционных болезней наиболее перспективным является применение высокоспецифичных диагностикумов на основе моноклональных антител.

Учитывая это, нами были проведены опыты по разработке технологии получения моноклональных антител (Мат). В качестве антигенов для иммунизации мышей линии Ba1в/с использовали штамм бруцелл B. rangiferi, который вводили животным 4-х кратно с использованием различных способов и доз антигенного материала. Скрининг и клонирование проводили по общепринятой методике (Kohier и Мильштейн и др., 1975). В процессе опытов нами были получены 14 клона, наиболее активными и специфичными из которых оказались 2, продуцирующие моноклональные антитела к антигену бруцелл из B. rangiferi.

Очистку и концентрирование полученных антител проводили методом осаждения и хроматографией на белок А — сефарозе. Из полученных Мат были изготовлены иммуноферментные коньюгаты (ИФК) с использованием разработанных нами ранее технологии.

Полученные иммуноферментные коньюгаты на основе моноклональных антител по разработанной нами технологии были использованы для идентификации и дифференциации различных вакцинных, вирулентных и измененных (диссоциированных) штаммов бруцелл.

Результаты опытов показали, что ИФК на основе Мат к антигену бруцелл из шт. B. rangiferi активен (рабочее разведение 1:1000) и не вступает в реакцию с S- формами бруцелл.

Таким образом, использование Мат к антигену B. rangiferi обеспечивает надежную идентификацию и дифференциацию бруцелл как со стабильными, так и измененными таксономическими признаками.

USE OF MONOCLONAL ANTIBODIES FOR BRUCELLA STRAINS DIFFERENTIATION

Pankova E.V., Plotnikova E.M.

Federal Non-Profit Organization «Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety», 420075, Kazan, 2-Nauchny gorodok (tel.: (843) 239-53-34)

The enhanced influence of natural and anthropogenic factors result in various biotypes of transmittable diseases pathogens including brucellosis pathogen with sharply altered taxonomic features. As such, it is established that currently, along with S-forms the RS — and R-brucella dissonants are often isolated in nature and conventional methods complicate their differentiation. Meanwhile the available references report that diagnostics of some infectious diseases involves highly sensitive diagnostic kits based on monoclonal antibodies.

In this regard, the investigations to develop monoclonal antibodies production technologies were carried out. B. rangiferi brucella strain was used as an antigen Balb/c mice immunization. The mice were introduced with the strain 4 times using various methods and dosage of antigen material. Screening and cloning were performed according to conventional procedure **(**Kohier and Milstein, et al., 1975). During the experiments 14 clones were produced. The most active and specific were 2 clones producing monoclonal antibodies against B. rangiferi brucella antigen.

The obtained antibodies purification and concentration was performed using sedimentation and A protein sepharose-based chromatography. Using the obtained monoclonal antibodies the ELISA conjugates were produced with the previously developed technologies.

The monoclonal antibodies-based ELISA conjugates were used for identification and differentiation of various vaccine virulent and altered (dissociated) brucella strains.

The experiment results showed that the monoclonal antibodies-based ELISA conjugates against B. rangiferi brucella monoclonal antigen is active (working delution 1:1000) and does not respond to brucella S-forms.

Therefore, using monoclonal antigen against B. rangiferi antigen provides brucella reliable identification and differentiation both with stable and altered taxonomic features.

РЕАКЦИЯ ПЕРЕВИВАЕМОЙ ЛИНИИ КЛЕТОК MDBK НА ИЗМЕНЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ CO_2

Плотникова Э.М., Хамзина Е.Ю., Кириллова Ю.М., Глаголева И.С.

ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», 420075, РТ, Казань, Научный городок-2

Введение. Развитие важнейших и наиболее перспективных современных направлений фундаментальных и прикладных исследований в области биологии, медицины и ветеринарной медицины, а так же создания новых биомедицинских технологий невозможно без широкого использования культур клеток человека, животных. CO_2 является компонентом воздуха и вовлечен в многочисленные биохимические реакции, происходящие в клетке. Изменение концентрации CO_2 может оказывать существенное воздействие на процессы роста клеточных линий. В процессе культивирования клеток животных in vitro в лабораторных условиях часто используют 5% содержание углекислого газа в атмосфере инкубатора. Некоторые исследователи отмечают благоприятное воздействие относительно высоких концентраций CO_2 (от 5 до 10%) на развитие 8- клеточного зародыша хомячка in vitro (Ocon M. et al. , 2003). В то же время показано, что 100% CO_2 уменьшает рост и стимулирует апоптоз клеток рака яичников человека линий HO8910 и SKOV3, как и других опухолевых клеток (Agostini A., et al. 2002; Schmidt A., et al. 2005).

Цель. Определить влияние 5 и 7% концентрации CO_2 на митотическую активность перевиваемой линии клеток MDBK.

Материалы и методы. Перевиваемую линию клеток MDBK культивировали монослойно в стандартных условиях (Дьяконов Л.П., 2009) в присутствии 5 и 7% концентрации CO_2. Контролем служила культура, выращенная в термостате без доступа CO_2. Размер клеток, индекс пролиферации (ИП) и количество митозов определяли через 72 ч культивирования. Статистическую обработку проводили по критерию Вилькоксона.

Результаты. В результате проведенных экспериментов установлено, что через 72ч роста ИП в контрольной культуре клеток равнялся 2,3 ± 0,3, при культивировании в условиях 5% CO, — 3,6 ± 0,3 ($p<0,001$), 7% CO_2 - 3,3 ± 0,3 ($p<0,001$). Количество митозов при культивировании MDBK в контрольных условиях и 5% CO_2 значительно не различалось, равнялось 23 ± 0,6 ‰ и 22 ± 1,2% соответственно. При культивировании в условиях 7% CO_2 количество митозов было достоверно больше и соответствовало 33 ± 1,0‰ ($p<0,05$). Размер клеток MDBK в контроле составил 17 мкм, при культивировании в 5% CO_2- 16 мкм, 7% CO_2- 16 мкм.

Выводы. Таким образом, 5% и 7% концентрации углекислого газа оказывают стимулирующее действие на рост перевиваемой линии клеток MDBK. Наибольшее количество митозов выявлено при культивировании MDBK в атмосфере с 7% CO_2. Вероятно, это связано с тем, что в условиях легкой гипоксии увеличивается длительность фазы логарифмического роста по сравнению с контролем и в присутствии 5% CO_2, в то же время достоверного различия размера клеток между контролем и опытом нет.

MDBK CELLS REACTION TO CHANGE OF CO_2 CONCENTRATION

Plotnikova E.M., Khamzina E.J., Kirillova J.M., Glagoleva I.S.
FGO"FCTRBS-ARRVI", 2-Nauchny gorodok Kazan the Russian Federation 420075

Introduction Development of the major and most perspective modern directions in fundamental and applied studies in Biology, Medicine, and Veterinary Medicine as well as creation of new biomedical technologies are impossible without wide usage of human and animal cell cultures. CO_2 is a component of air and it is involved in a number of biochemical reactions within a cell. Change in CO_2 concentration can significantly influence on cellular growth processes. The animal cells in-vitro cultivation process often involves 5% carbon dioxide presence in incubator atmosphere. Some researchers report the useful affect of CO_2 high concentration (from 5 to 10%) on in vitro development of 8-elemetary cellular hamster fetus (Ocon M et al., 2003). Meanwhile, 100% concentration of CO_2 is shown to reduce growth and promote apoptosis of HO8910 and SKOV3 human ovary cancer cell lines, as well as other tumor cells (Agostini A., et al. 2002; Schmidt A., et al. 2005).

Aim of the study was to define the influence of 5 and 7% CO_2 concentration on mitotic activity of passed MDBK cell lines.

Methods and materials The passed MDBK cell lines were cultivated in mololayer under standard conditions (Dyakonov L.P.et al., 2009) in presence of 5 and 7% of CO_2 concentration. The culture cultivated in thermostat without CO_2 access was used as control. The cellular size, proliferation index, and mitosis number was evaluated at 72 hours of postcultivation. Statistics was calculated according to Willkokson.

Results As a result the performed experiments showed that at 72 hours cellular growth proliferation index was 2,3 ± 0,3 in control cell cultures and cultivation in presence of 5% CO_2 resulted in proliferation index increase up to 3,6 ± 0,3 ($p <0,001$), and 7% CO_2 up to 3,3 ± 0,3 ($p <0,001$). The MDBK mitoses number did not differ considerably in controls and the group introduced 5% CO_2 and was 23 ± 0,6 ‰ and 22 ± 1,2% accordingly. Cultivation involving 7% CO_2 concentration resulted in

significant increase of mitoses number: 33 ± 1,0 ‰ (p <0,05). The MDBK cells size in control group was 17 microns, at cultivation in 5% CO_2 was 16 microns, 7% CO_2 was 16 microns.

Conclusion Therefore, 5% and 7% concentration of carbon dioxide has a promoting effect on MDBK cell lines passage. The mitosis largest number was at MDBK cultivation in atmosphere with 7% CO_2. Probably, the reason is the condition of slight hypoxia results in prolongation of logarithmic growth phase comparing to control and at the same time the 5% CO_2 concentration do not result in authentic difference between control and experience cells size.

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ПОЛУЧЕНИЯ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА

ПлотниковаЭ.М., Кириллова Ю.М., Хамзина Е.Ю, Глаголева И.С.
ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», 420075, РТ, Казань, Научный городок-2

Стволовая клетка — это незрелая клетка, способная к самообновлению и развитию в специализированные клетки организма. По своей сути стволовые клетки — это своеобразная «ремонтная бригада» организма, которая устремляется в проблемную зону и заменяет собой больные, поврежденные клетки того или иного органа. Благодаря своей способности превратиться в любую ткань, стволовые клетки могут применяться для лечения огромного количества заболеваний. Повреждение органов скелета, построенных из костной и хрящевой ткани у животных, а также проблема их реабилитации после таких травм в ветеринарной практике достаточно актуальна. Для получения стволовых клеток взрослого животного в работе использовали белых мышей Balb/c. Мышей усыпляли с помощью эфирного наркоза. Стерильно удаляли большую берцовую кость и струей физиологического раствора выдували костный мозг с помощью шприца с иглой 22-23 g. Дезагрегацию костного мозга из большеберцовых костей мелких грызунов проводили механической обработкой через иглу 22-23 g с последующей отмывкой при двукратном последовательном центрифугировании (200 g, 10 мин) в 5 мл физиологического раствора без Ca^{2+} и Mg^{2+} и высевом клеток в ростовой среде (Sanches-Ramos J., Song S. et. al., 2000; Кругляков П.В.и др., 2004).Очистку МСК костного мозга осуществляли за счет избирательной адгезии и последующей пролиферацией этого типа клеток в условиях культивирования (в ростовой среде определенного) состава. Во все среды добавляли глутамин (2mM), антибиотики (смесь пенициллина и стрептомицина по 100 мкг/мл). Оптимальный pH для роста клеток 7,2- 7,4 (недопустимо защелачивание среды), концентрация CO_2 в инкубаторе — 5%.

В результате исследований были получены мезенхимиальные стволовые клетки из костного мозга мышей линии Balb/c. Полученные МСК культивировались в течение 2 недель, однако дальнейшее их поддержание in vitro не представлялось целесообразным, т.к их частые пересевы ведут к старению и потере ими способности к направленной дифференцировке.

IMPROVEMENT OF CONDITIONS TO PRODUCE MARROW STEM CELLS

Plotnikova E.M., Kirillova J.M., Khamzina E.J., Glagoleva I.S.
FGO"FCTRBS-ARRVI", 2-Nauchny gorodok Kazan the Russian Federation 420075

A stem cell is an immature cell capable to renovation and regeneration into organism special cells.Basically, the stem cells are a kind of «a repair brigade» that targets into problem region and substitutes damaged or sick cells of a certain organ. Because of its capability to transform into any tissue the stem cells may be used for therapy of a number of diseases. Damage of animal skeletal

system that consists of osteal and cartilaginous tissue as well as its recovery such traumas is rather crucial in veterinary practice. Stem cells from adult animals were produced using Balb/c white mice. The mice were euthanized using ether anesthesia. In sterile conditions mice tibia was removed and marrow was streamed out using saline solution and syringe with needle of 22-23 g. Disaggregation of marrow from small rodents tibia was performed using mechanic handling with a needle of 22-23 g and with the subsequent washing at double consecutive centrifugation (200 g, 10 mines) in 5 ml normal saline solution free from $^{Ca2+}$ and $^{Mg2+}$ and further cell plating into growth media (Sanches-Ramos J., Song S. et. al., 2000; Kruglyakov P.V.et al., 2004). Marrow purification was performed using selective adhesion and cell subsequent proliferation in cultivation conditions (in growth media). All the media were introduced glutamine (2mM), antibiotics (Penicillin and streptomycin mixture 100 mkg/ml each). Optimal pH for cell growth was from 7,2 to 7,4 (media alkalization should be avoided), CO_2 concentration is 5% in incubator. The investigation resulted in production of mesenchyme stem cell from Balb/c mice marrow.The obtained mice marrow cells were cultivated for two weeks, however, their further in-vitro maintenance was not useful because their frequent passages promote cell ageing and losing their capability to target differentiation.

РАЗРАБОТКА АНТИМИКРОБНЫХ ПЛЕНОК НА ОСНОВЕ ПОЛИСАХАРИДОВ

Сдобникова О.А., Самойлова Л.Г., Панина Т.В.
Московский государственный университет пищевых производств, 109316, г. Москва, ул. Талалихина, дом 33

Ухудшение экологической ситуации стимулирует создание целого ряда новых материалов, в том числе, средств медицинского назначения, обеспечивающих защиту живых организмов от вредных воздействий.

Работа посвящена исследованию возможности повышения антимикробных свойств полисахаридных композитов (простых эфиров целлюлозы). Для придания таким материалам антимикробной активности использован метод структурной модификации добавками природного происхождения, играющих роль биологически активных соединений. Поставленная задача решалась путем введения в матрицу полимера биологически активной добавки на основе продуктов пчеловодства (БАД), содержащей биофлавоноиды. БАД обладает выраженным антимикробным и антиоксидантным действием. Для получения пленок и покрытий использовалась метилцеллюлоза различной концентрации, модифицированная водным раствором БАД.

Установлено, что полученные высоковязкие пленкообразующие растворы, модифицированные БАД, легко наносятся на любую подложку: ткань, бумагу, пористый нетканый материал. Модифицированные полисахаридные пленки и покрытия обладают выраженным антимикробным действием в отношении граммоположительных бактерий (стафилококки, стрептококки) и не оказывают местного раздражающего действия.

Материал, содержащий БАД, обладает выраженным антимикробным, противоспалительным, антиоксидантным действием и снижает вредное воздействие ионизирующего излучения.

Благодаря этому такие пленки, а также мази на основе метилцеллюлозы являются исходным материалом для получения перевязочных средств и могут быть рекомендованы для использования в фармации и ветеринарии с целью профилактики и лечения воспалительных процессов.

DEVELOPMENT OF ANTIMICROBIAL FILMS BASED ON POLYSACCHARIDES

O.A. Sdobnikova, PhD., L.G. Samoilova, T.V. Panina
Moscow State University of Food Technologies, 109316, Moscow, Talalihina str. 33

A negative environmental impact stimulates the development of different kinds of new materials, including medical devices that protect living organisms from harmful influences.

Research is devoted to investigate the possibility of increasing antimicrobial properties of composites of polysaccharide (simple cellulose ethers). To make such materials antimicrobial active used method of structural modification by natural origin additives aimed as biological active compounds. The task has been solved by means of a polymer of bioactive additive injection in matrix, based on bee products (BAA) containing bioflavonoids. BAA has a strong antimicrobial and antioxidant effects. To obtain films and coatings the different concentrations of methyl cellulose, modified with an aqueous solution of dietary supplements have been used.

It is found that the obtained highly viscous film-forming solutions modified by dietary supplements, is easily applied to any substrate: fabric, paper, porous nonwoven material. Modified polysaccharide films and coatings have demonstrated significant antimicrobial activity against gramm positive bacteria (staphylococci, streptococci) and do not have a local irritant.

The material containing BAA has a strong antimicrobial, anti inflammatory, antioxidant and reduces the harmful effects of ionizing radiation.

Thanks to these films, as well as an ointment on the basis of methylcellulose is the source material for dressings and can be recommended for use in pharmacy and veterinary medicine for the prevention and treatment of inflammatory processes.

СЕРИЯ СПРЕЕВ С АНТИМИКРОБНЫМИ СВОЙСТВАМИ НА ОСНОВЕ СМОЛЫ СОСНЫ, ПОЛУЧЕННОЙ МЕТОДОМ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ЭКСТРАКЦИИ

Ступин А.Ю.[1], Чубатова О.И.[2], Хаматаев Р.В.[3]
[1]*ОАО «ГосНИИсинтезбелок». 109004, г. Москва, ул. Александра Солженицына, 27.*
[2]*ООО «РЕБИОН», 125167, г. Москва, Авиационный пер. д.8/17.*
[3]*ОАО «ВСКБТ», 665250, г. Тулун Иркутской обл., ул. Гидролизная, д.1.*

Перспективный путь практического применения древесной смолы и других натуральных БАВ, имеющих смолоподобную консистенцию и плохо растворимых в воде, их УЗ трансформация в водные суспензии с размерами частиц 0,01 – 10 мкм. Общая поверхность частиц при этом возрастает, что обеспечивает интегральное повышение биологической активности суспендированной субстанции. Трансформации смолы сосны и других смолоподобных соединений в водные суспензии и их использование в составе спреев способствует решению проблем санитарной обработки воздуха помещений целевого назначения.

Серия спреев, в состав которых включена смола сосны создана исследователями ООО «РЕБИОН» и предназначена для снижения обсемененности воздуха и его освежения в жилых, учебных и офисных помещениях, в помещениях медицинского и ветеринарного назначения, в транспортных средствах и т.д. Использование этих спреев в закрытых помещениях в 2 и более раз снижает число бактерий, в том числе и патогенных, в единице объема воздуха и препятствует его быстрому нарастанию. Принцип действия гелевой формы в виде спрея обеспечивает связывание пыли, бактерий, вирусов и клеток грибов из воздуха, их сорбцию в микрокаплях геля, их осаждение и последующую инактивацию. Размеры частиц спреев подобраны так, что не проникают глубоко в дыхательные пути человека, что позволяет использовать спреи не удаляя из помещений людей и животных. Безвредность для слизистых оболочек человека

и животных, высокая эффективность и быстрый результат, обеспечили этим спреям высокую оценку потребителей.

A SERIES OF SPRAYS WITH ANTIMICROBIAL PROPERTIES BASED ON OBTAINED BY ULTRASONIC EXTRACTION PINE TAR

Stupin A.Yu[1], Chubatova O.I.[2], Khamataev R.V.[3]
[1]*Ltd "GosNIIsintezbelok" 109004, Moscow, st. Alexander Solzhenitsyn, 27.*
[2]*Company "REBION", 125167, Moscow, Aviacionniy line., 8/17.*
[3]*Ltd "VSKBT", 665 250, Tulun, Irkutsk Region, st. Hydrolysnya, 1*

Prospective way of practical application of wood resin and other natural active substances having retinoid consistency and poorly soluble in water, is their ultrasonic transformation into aqueous suspensions with particle sizes of 0.01 - 10 microns. The integral surface of the particles highly increases, which provides the integral improvement of biological activity of suspended substances. Transformation of pine tar in aqueous suspensions and their use in spray helps to indoor air decontamination. A series of sprays, with pine tar was created by researchers of Ltd "REBION" and is designed to reduce microbial contamination of the air in residential, educational and office, medical and veterinary areas, in vehicles etc. The use of these sprays reduces the number of bacteria, including pathogens in enclosed spaces in 2 or more time and prevents their rapid rise. The operating principle of a gel form spray provides a binding of dust, bacteria, viruses, fungi, and cells from the air, their sorption by micro droplets of the gel, their precipitation and subsequent inactivation. Because of special selected particle sizes of sprays they do not penetrate deeply into the human respiratory tract, which allows the use of sprays without removing humans and animals from rooms. Harmless for the mucous membranes of humans and animals, high efficiency and fast results, provided that sprays appreciation of consumers.

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК ЖИВОТНЫХ КАК СУБСТРАТА ДЛЯ РАЗМНОЖЕНИЯ ВИРУСОВ

Винаров А.Ю., Соколов Д.П., Ковальский Ю.В.
ОАО «ГосНИИсинтезбелок» 109004, г. Москва, ул. Александра Солженицына, 27

Известно, что мощным фактором борьбы с вирусными болезнями, в частности, сельскохозяйственных животных и птицы (ящур, чума свиней и крупного рогатого скота, гастроэнтерит свиней, грипп птиц и т.д.) является вакцинопрофилактика. При изготовлении вакцин используют выращенные на куриных эмбрионах или культурах клеток вирусы возбудителей зоонозов животных. Ослабленные или убитые микроорганизмы, продукты их жизнедеятельности и служат основой живой или инактивированной формы вакцины. Диплоидные клетки, зависимые от культуральной подложки, стандартно выращивают в пленочном монослое на различных поверхностях: полимеров (пластины, волокна), стекла или на микроносителях. После открепления клеток, например, с применением трипсина, их высевают на новые поверхности, для размножения достаточного количества клеток и наработки вакцин.

В связи с задачами масштабного и экономически рентабельного производства вирусов и вирусных вакцин актуальной является проблема интенсификации способа культивирования диплоидных, зависимых от подложки клеток животных и продуцирования вирусов в этих клетках. Нами на основе физической модели развития клеток в пленочном слое, с учетом кинетических и диффузионных эффектов, разработаны варианты математического моделирования и расчета

процесса роста клеток животных на горизонтальной подложке, на вертикальной орошаемой поверхности и на поверхностях микроносителей, находящихся в перемешиваемом биореакторе. На основе полученных математических моделей можно определять такие технологические параметры, как: достигаемую клеточную массу за время культивирования на заданной поверхности, необходимые габариты аппарата для достижения требуемой производительности, гидродинамический режим и расход дорогостоящей питательной среды, а также рекомендовать рациональный вариант биореакторного оформления процесса.

BIOTECHNOLOGICAL ASPECTS OF CULTURING ANIMAL CELLS AS SUBSTRATE FOR THE REPRODUCTION OF VIRUSES

Vinarov A.Yu., Sokolov, D.P., Kowalski, Yu.V.
«GosNIIsintezbelok» 109004, Moscow, UL. Alexander Solzhenitsyn, 27

It is known that a powerful factor in the fight against viral diseases, in particular agricultural animals and birds (foot-and-mouth disease, swine and cattle, pig, bird flu, gastroenteritis, etc.) is vaccination. In the manufacture of viruses vaccines are used chicken embryos and cell cultures. Weakened or dead microbial cells, products of their vital activity forms of the vaccine. Diploidnye cell, depending from culture substrate, typically grow in film (monolayer) on various surfaces: polymers (plates, fibres), glass or on microfilm of microparticles. After the detachment of cells, for example, using tripsina, they carry over on the new surface for the reproduction of a sufficient number of cells.

In connection with the large-scale and economically viable production of viruses and viral vaccines vital is the intensification of cultivation method, substrate-dependent diploid cells of animals and the production of the virus in these cells. On the basis of physical model of the development of cells in the film layer, taking into account the kinetic and diffusive effects, we have developed variants of mathematical modeling and calculation of the growth process of animal cells on a horizontal surface, on the vertical plate of irrigated surfaces and on micro-particles in the mixing bioreactor. Elaborated mathematical models can be used to determine such technological parameters as: attainable cell mass during cultivation on the specified surface, the necessary dimensions of the apparatus in order to achieve the required productivity, hydrodynamic mode and flow of expensive nutrient medium, as well as to recommend an optimal version of the bioreactor design for this process.

СЕКЦИЯ 7 «СОВРЕМЕННЫЕ ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ»
SECTION 7 "MODERN INSTRUMENTAL METHODS OF INVESTIGATION"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

СПОНСОР СЕКЦИИ

GE Healthcare

imagination at work

SPONSOR SECTION

НЕОБХОДИМОСТЬ МУЛЬТИ МОДАЛЬНЫХ И МНОГОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕРИТЕЛЬНЫХ СИСТЕМ В ИССЛЕДОВАНИЯХ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ И МАТРИЧНЫЙ АНАЛИЗ

L.Bachdasarian[1]; R.Bulthuis[1];E. Molenwijk[1]; S. Zhuchkov[2]
[1]*Metris B.V., The Netherlands,*
2132 NG Hoofddorp, Kruisweg 829c, www.metris.nl
[2]*University of Orel,*
Russia, www.univ-orel.ru

Современные тенденции в фармацевтической промышленности требуют не только коротких сроков, но и качественных результатов от доклинических испытаний. Для достижения этой цели в экспериментах над животными, необходимо собирать данные из различных областей одновременно, например, параметры от поведения животных, физиологии животных и животных вокализации. Чтобы сделать это практически возможным, автоматизация и интеграция различных технологий измерений становится важной в доклинических исследованиях.

Поведение животных является интерпретацией внутренних и внешних факторов (стимулов).

Поведение = {Функция динамического внутреннего стимула / эффект лекарства}; если внешние факторы/стимулы = константа}

• Постоянная и стабильная окружающая среда необходима для проведения надежных поведенческих исследований и анализов.

• Для повышения качества исследований и получения лучшей статистики, важно анализировать многие параметры из того же поведения (то есть группы параметров или матрицы)

Матричный метод для анализа поведения

Статистические данные и надлежащий анализ очень важны в доклинических исследованиях. Использование нескольких независимых параметров в процессе автоматического распознавания поведения является ключевым. Для того чтобы распознать поведение автоматически, система LABORAS использует так называемый матричный метод, который включает анализ нескольких параметров, которые получены из системы вычисления.

Ваше специфическое поведение = матрикс / X1, X2, X3 - - - - X; Y1, Y 2, Y 3 - - - - - Y п, E1, E2, E3 - - - - - En /

Вышеуказанный матрикс показывает пример различных параметров определенного поведения.

Где X1,X2, X3 - - - - - - - Xn, ; E1, E2, E3 - - - - - - - En функции от определенного поведения (например амплитуда, частота, полная энергия, энергия передвижения / энергия колебания, и т.д.)

При измерении полной матрицы и кинетической энергии в экспериментах in-vivo (лат. на живом организме) очень важно получить полную этограмму всех поведений, показанных лабораторным животным. Традиционные методы, основанные на наблюдении или видео анализе, слишком ограниченны для этого.

Система LABORAS от компании Metris делает возможным измерения всех видов кинетической энергии, в то время как другие автоматические системы для распознавания поведения могут измерять лишь только энергию передвижения ($mv^2/2$) от всей кинетической энергии. Вдобавок, матричный метод и технология, использованная в системе Laboras, предоставляют возможность измерять намного больше поведений, распознавая их более точно и полностью автоматически, нежели когда-либо прежде.

Благодаря сочетанию параметров из различных систем, матрица будет становиться лучше и улучшает качества результатов от исследований.

THE NEED FOR MULTI-MODAL AND MULTI-FUNCTIONAL MEASUREMENT SYSTEMS IN LABORATORY ANIMAL RESEARCH AND MATRIX ANALYSIS

L.Bachdasarian[1]; R.Bulthuis[1];E. Molenwijk[1]; S. Zhuchkov[2]

[1]*Metris B.V., The Netherlands,*
2132 NG Hoofddorp, Kruisweg 829c, www.metris.nl
[2]*University of Orel, Russia, www.univ-orel.ru*

Current trends in the Pharmaceutical industry are requiring not only shorter lead times but also better quality of pre-clinical test results. To achieve this animal experiments will have to collect data from different domains at the same time, for example animal behavior, animal physiology and animal vocalizations. To make this practically possibly automation and integration of different measurement technologies becomes is becoming crucial in preclinical research.

Animal behavior is an interpretation of internal and external factors (stimulus). Behavior = Function {Dynamic Internal Stimulus/Drugs effects}; if external factors /stimulus = constant}

- A constant environment is essential to build reliable behavioral study and analysis
- To enhance the quality of the study and have better statistical probability, It is important to analyze many parameters from the same behavior (i.e. group of parameters or matrix)

Matrix method for Behavior Analysis

Proper analysis and statistics of data is very important in in-vivo experiments. The use of many independent parameters in the automated recognition of a behavior of the animal is therefore crucial. To recognize a behavior automatically, LABORAS applies the 'Matrix Method' involving the analysis of several parameters that are derived from the measurement system.

Your specific behavior = matrix / X1, X2, X3 - - - - - Xn; Y1, Y 2, Y 3 - - - - - Y n; E1, E2, E3 - - - - - En/

The above matrix shows an example of the different parameters for a specific behavior. Where X1, X2, X3 - - - - - - Xn, ; E1, E2, E3 - - - - - - En are functions from the specific behavior (e.g. amplitude, frequency, total energy, locomotion energy, locomotion energy / oscillation energy, etc.).

Measuring matrix parameters and all kinetic energy in in-vivo experiments is very important to obtain a full ethogram of all behaviors that are shown by the laboratory animal. Traditional methods based on observation or video analysis offer only limited information.

The Metris Laboras system enables measurement of all types of kinetic/movement energy while other non-invasive automated systems for behavior detection can only measure the locomotion component of the kinetic energy (e.g. locomotion energy $mv^2/2$). In addition, the matrix method and technology used in Laboras provides a way to measure more behaviors and to recognize them completely automatic and more precisely than ever before. By combining parameters from different systems the matrix will get better and further improve the quality of the research results.

МЕТОД КРИОХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ОБРАЗОВАНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СОВРЕМЕННЫХ КРИОХИРУРГИЧЕСКИХ АППАРАТОВ

Бобрихин А.Ф.[1], **Гудков А.Г.**[1], **Цыганов Д.И.**[2], **Шафранов В.В.**[3]
ООО «НПИ ФИРМА «ГИПЕРИОН»,
121170, г. Москва, Кутузовский пр-т, д. 34

Достоинства криогенного метода оперативного вмешательства — простота, безболезненность, высокая точность, редкое рецидивирование, стойкий косметический эффект. При этом методика лечения патологических тканей жидким азотом в виде спрея или аппликаций с помощью ватного тампона не обеспечивают крионекроз тканей. Необходимую скорость охлаждения можно получить только с помощью специальных криогенных аппаратов.

Аппараты «КМ-01» и «КМ-02» предназначены для удаления патологически измененных тканей человека путем воздействия на них температурой жидкого азота: -196°С. Аппарат «КМ-01» предназначен для контактного метода криодеструкции, представляет собой сосуд для жидкого азота, покрытый теплоизоляционным материалом, с канюлей на дне для присоединения к ней сменных цельнометаллических наконечников различных форм и размеров. Аппарат «КМ-02» предназначен для контактного и бесконтактного методов криодеструкции, позволяет оперировать труднодоступные зоны за счет большой номенклатуры наконечников со сложной геометрической формой, дополнительных жестких и гибких трубок различной длины. Аппарат представляет собой сосуд из нержавеющей стали с вакуумом между его внутренней и внешней поверхностями. На горловину аппарата устанавливаются сменные головки с трубками для подвода жидкого азота из аппарата к наконечнику. В аппарате «КМ-02» используются полые наконечники и наконечники с отверстиями. При контактном методе охлаждаются сменный наконечник и область кожного покрова, с которой контактирует наконечник, при бесконтактном методе — только область кожного покрова, на который распыляется хладагент.

Области применения аппаратов: дерматология, косметология, стоматология, онкология, хирургия, гинекология, отоларингология. Исследования показали, что медицинские учреждения проявляют большую заинтересованность к аппаратам «КМ-01» и «КМ-02».

THE CRYO SURGICAL METHOD OF THE PATHOLOGIC MASS TREATMENT WITH THE USAGE OF MODERN CRYO SURGICAL DEVICES

Bobrikhin A.F., Gudkov A.G., Tsyganov D.I., Shafranov V.V.,
Hyperion Ltd., Moscow

The main advantage of the cryo surgical method is simplicity, painlessness, high precision, seldom relapse, persistent cosmetic effect. At the same time the pathologic mass treatment with the help of liquid nitrogen sprays or applications with the help of a cotton wool tampon don’t provide a tissue cryo necrosis. The necessary speed of cooling one can get only with the help of special cryo devices.

The devices of "KM-01" and "KM-02" are designed for a removal of pathologically changed tissues by the influence of a liquid nitrogen temperature: minus 196°C. The device of "KM-01" is designed for contact method of cryo destruction and looks like a vessel for liquid nitrogen, covered by heat insulated material with a cannula on the bottom for connecting with it changeable all metal tips of different forms and sizes. The device "KM-02" is designed for contact and non-contact method of cryo destruction which allows to operate hard-to-reach zones because of a large assortment of tips with complex geometric form, additional hard and flexible tubes of different length. The device "KM-02" looks like a vessel made of stainless steel with vacuum between its internal and external surfaces. On the neck of the device the removable cappings are set with tubes for liquid nitrogen supply from the device to a tip. In the device "KM-02" the hollow tip and tips with a hole are used. In the contact method only a removable tip and a tissue zone, which contacts with the tip, are cooled. In the non-contact method only a tissue zone where the coolant is spread is cooled.

The fields of devices' application are dermatology, cosmetology, dentistry, oncology, surgery, gynecology, and otolaryngology. The research is shown that medical institutions are very interested in the devices "KM-01", "KM-02".

УСТРОЙСТВО ДЛЯ ХРАНЕНИЯ КОМПОНЕНТОВ КРОВИ

Гудков А.Г., Леушин В.Ю., Поздин С.В.,
ООО «НПИ ФИРМА «ГИПЕРИОН»,
г. Москва, Кутузовский проспект, 34

Анализ современного научно-технического уровня и обобщение результатов исследований в области создания устройств для хранения и контроля качества компонентов и препаратов крови показал устойчивую тенденцию к ужесточению требований, предъявляемых к характеристикам изделий в процессе эксплуатации. Эритроцитсодержащие среды перед применением хранят при температуре плюс 4±2 ºС. Особенно важным является обеспечение режима хранения концентрата тромбоцитов, который предусматривает поддержание температуры 22±2 ºС при постоянном перемешивании концентрата тромбоцитов и обязательном контроле и протоколировании параметров процесса хранения.

Аппаратно-программный комплекс для хранения компонентов крови включает в себя теплоизолированную камеру, нагревательно-охлаждающую систему на основе полупроводниковых термоэлементов Пельтье, систему вентиляции, систему регулирования температуры, систему сигнализации и регистрации параметров процесса хранения (патент РФ на изобретение № 2228769). Предусмотрена также возможность размещения в теплоизолированной камере устройства для перемешивания концентрата тромбоцитов. Перемешивание осуществляется путем периодического возвратно-поступательного движения полок устройства, на которых располагаются полимерные контейнеры с концентратом тромбоцитов.

Аппаратно-программный комплекс для хранения компонентов крови сконструирован блочно-модульным методом, т.е. отдельные его элементы имеют законченную конструкцию, обеспечивающую высокую технологичность и ремонтопригодность.

Непрерывное протоколирование приведенных выше параметров обеспечивает надежное хранение концентрата тромбоцитов при сохранении их жизнеспособности и гемостатической активности.

BLOOD COMPONENTS STORAGE DEVICE

Gudkov A.G., Leushin V.Y., Posdin S.V.
Hyperion Ltd.,
Moscow, Russia

The analysis of the modern scientific and technical level and the generalization of research results in the industrial design of devices for blood components storage, blood components quality and blood preparation control has tended to the toughening of qualifying standards to product characteristics in the operational process. Erythrocyte medium before the application is stored at a temperature plus 4±2º C. The most important thing is the provision of the platelet concentrate storage regime which is envisaged to keep the temperature level at 22±2º C with constant stirring, compulsory control and filing of storage process parameters.

The blood components storage device consists of a heat-insulated chamber, a heat-cooling system on the base of semiconductor thermo elements, a ventilation system, a temperature regulation system, a warning system, and a registration system (RF Patent # 2228769). There is also a possibility of placement in a heat-insulated chamber a device for the platelet concentrate stirring. The stirring process is executed by cyclic reciprocal motions of device's racks where polymeric containers with the platelet concentrate are located.

The blood components storage device is designed by block-modular method, i.e. separate elements have complete construction providing high manufacturability and repairability.

The constant filing of above mentioned parameters provides a safe storage of the platelet concentrate while preserving its viability and hemostatic activity.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОПТИЧЕСКИХ БИОСЕНСОРОВ ТИПА BIACORE В ПОСТГЕНОМНЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Иванов А.С.[1], **Авилова Е.А.**[2]
[1]*НИИ Биомедицинской химии им. Ореховича,*
[2]*GE Healthcare Life Sciences*

Технология оптического биосенсора на эффекте поверхностного плазмонного резонанса (SPR) позволяет контролировать межмолекулярные взаимодействия в реальном времени без использования каких-либо меток или сопряженных процессов. Из полученных данных легко вычисляются кинетические, равновесные и термодинамические параметры взаимодействий. Поэтому SPR биосенсоры с успехом используются в разнообразных исследованиях межмолекулярных взаимодействий, например: (1) взаимодействий в любых сочетаниях молекул белков, нуклеиновых кислот; углеводов, липидов, практически любых низкомолекулярных соединений (лекарства, ксенобиотики, токсины, биорегуляторы, гормоны); (2) взаимодействий крупных объектов (вирусы, внутриклеточные частицы, клетки, бактерии, липосомы, мицеллы, наночастицы); (3) аффинное выделение целевых молекул и их комплексов из лизата биологических проб для идентификации с помощью LC-MS/MS анализа.

Оптические биосенсоры типа Biacore (GE Healthcare) являются рекордсменами по ряду крайне важных параметров, таких как: чувствительность; уровень шума и стабильность базового сигнала; порог минимального молекулярного веса аналита; экономичность; коммутируемая микро-жидкостная система с проточными нано-кюветами.

В ИБМХ РАМН имеется 4 биосенсора типа Biacore, которые интенсивно используются в различных постгеномных исследованиях: белок-белковые, белок-липидные и белок-лигандные взаимодействия; олигомеризация белков и пептидов; поиск ингибиторов ферментов и белок-

белковых взаимодействий; взаимодействия белков с аптамерами; интерактомика белков, кодированных в 18-й хромосоме человека; разработка высокочувствительных биосенсорных тест-систем для анализа целевых белков-биомаркеров.

Данная работа поддержана Министерством образования и науки РФ (госконтракт 16.552.11.7001) и РФФИ (грант 11-04-01163).

THE USING OF OPTICAL BIOSENSORS BIACORE IN THE POST-GENOMIC RESEARCH

Ivanov A.S.[1], **Avilova E.A.**[2]
[1]*Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry RAMS,*
[2]*GE Healthcare Life Sciences*

Technology of optical biosensor based on the effect of surface plasmon resonance (SPR) allows to control the intermolecular interactions in real time without using any labels or coupling processes. From the obtained data it is easy to calculate the kinetic, equilibrium and thermodynamic parameters of interactions. Therefore, SPR biosensors are used successfully in various research of intermolecular interactions, such as: (1) interactions in any combination of molecules of proteins, nucleic acids, carbohydrates, lipids, and almost any small molecules (drugs, xenobiotics, toxins, bioregulators, hormones), (2) interactions of large objects (such as viruses, intracellular particles, cells, bacteria, liposomes, micelles, nanoparticles), (3) affine purification of target molecules and their complexes from lysates of biological samples for identification using LC-MS/MS analysis.

Optical biosensors Biacore (GE Healthcare) are the champions in a number of critical parameters such as: sensitivity, noise level and stability of the base signal; threshold for the analyte minimal molecular weight, efficiency and switching the micro-fluid system with flow nano-cuvettes.

In IBMC RAMS there are 4 biosensors Biacore and they are extensively used in various post-genomic research: protein-protein, protein-lipid and protein-ligand interactions; oligomerization of proteins and peptides; discovery of enzymes and protein-protein interactions inhibitors; interactions of proteins with aptamers; interaktomics of proteins encoded in 18-th human chromosome; development of highly sensitive biosensor test systems for the analysis of target protein biomarkers.

This work was supported by the Ministry of Education and Science of Russian Federation (state contract 16.552.11.7001) and RFBR (grant 11-04-01163).

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ЯМР СПЕКТРОСКОПИЯ В АНАЛИЗЕ РОССИЙСКИХ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Абрамович Р.А., Ковалева С.С., Хучуа Н.Н., Хомяков Ю.Ю., Калабин Г.А.
ЦКП (НОЦ) РУДН,
117198, Москва, улица Миклухо-Маклая, дом 8/2

Спектроскопия ЯМР успешно используется при разработке фармацевтических биотехнологий ведущими странами мира (см., например, [1]). В Фармакопее РФ этот метод представлен, но его использование весьма ограничено. ЯМР – информативный количественный метод анализа любых сложных водно-органических объектов [2], так как интенсивности сигналов отдельных компонент прямо пропорциональны их мольному содержанию в объекте и легко могут быть преобразованы в массовые. Для большинства анализов не нужны стандарты и эталоны, а время затраты на 1-2 порядка меньше, чем, например, для хроматографии. Нанограммовая чувствительность и недеструктивность – дополнительные аргументы в пользу широкого применения метода ЯМР.

ЦКП РУДН, аккредитованный на право проведения контроля качества лекарственных средств, проводит системные исследования в области применения количественной спектроскопии ЯМР для фармацевтических и медицинских технологий с использованием мультиядерных спектрометров с рабочими частотами для ядер ^{1}H 400 и 600 МГц, которые внесены в Государственный реестр средств измерений. В области фармацевтических биотехнологий спектр интересов наиболее широк – входной контроль субстанций, валидация стандартных образцов, разработка новых и контроль существующих фармстатей, контроль стабильности лекарственных средств и т.д.

В докладе будет представлен ряд примеров из цикла работ по инновационным технологиям и новым лекарственным формам (трансбукальные, трансдермальные) имунофана, кип-интерферона, эритропоэтина, ПЭГ-интерферона, других биотехнологических и синтетических препаратов.

[1]. Holzgrabe, U., Wawer, I., Diehl, B (1999) NMR spectroscopy in Drug Development and Analysis, Wiley-VCH Verlag GmbH, 69469 Weinheim, Germany.

[2]. Калабин Г.А., Каницкая Л.В., Кушнарев Д.Ф.Количественная спектроскопия ЯМР природного органического сырья и продуктов его переработки. – М.: Химия, 2000. – 408 с.: ил.

QUANTITATIVE NMR SPECTROSCOPY IN ANALYSIS OF RUSSIAN BIOTECHNOLOGICAL DRUGS

Abramovich R.A., Kovaleva S.A., Khuchua N.S., Khomyakov Yu.Yu., Kalabin G.A.
SREC PFUR,
Mikhluho-Maklaya str.,
bldg. 8/2, Moscow, 117198

NMR spectroscopy has been successfully used by world's leading countries in the development of pharmaceutical biotechnology [1]. This method is represented in the Russian Pharmacopoeia, but its use is very limited.

NMR spectroscopy is informative quantitative method for the analysis of any complex aqueous organic objects [2]. Intensities of signals of the individual components are directly proportional to their molar content in the object and can be easily converted into a mass content. Most of the analysis do not need standards and etalons, and time which spend for analysis 1-2 times smaller than in chromatography. Nanogram sensitivity and non-destructivity are an additional arguments in favor of the widespread use of NMR spectroscopy.

SREC PFUR is accredited for conducting of drug quality control and carries out systemic researches on the use of quantitative NMR spectroscopy for pharmaceutical and medical technologies. For this purpose is using multinuclear spectrometers with operating frequencies for ^{1}H nuclei 400 and 600 MHz, which are included in the State register of measuring instruments. In the field of pharmaceutical biotechnology there is the widest spectrum of interests — the incoming control of substances, validation of the standards, development of new pharmaceutical articles and control of the exiting pharmaceutical articles, control of the drugs stability, etc.

The report will provide some examples from the works of the SREC in the field of innovative technologies for production and testing of new dosage forms (transdermal and transbuccal) of Imunofan, cip (complex immunoglobulin preparation) interferon, erythropoietin, Peginterferon, other biotechnological synthetic drugs.

[1]Holzgrabe, U., Wawer, I., Diehl, B (1999) NMR spectroscopy in Drug Development and Analysis, Wiley-VCH Verlag GmbH, 69469 Weinheim, Germany.

[2]Калабин Г.А., Каницкая Л.В., Кушнарев Д.Ф.Количественная спектроскопия ЯМР природного органического сырья и продуктов его переработки. – М.: Химия, 2000. – 408 с.: ил.

НОВЫЕ СИСТЕМЫ ДЛЯ ТЕСТИРОВАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Киселев С.Л.
НИЦ «Курчатовский институт»

На сегодняшний день примерно 33% новых лекарственных субстанций в клинических исследованиях показывают неудовлетворительную кардио и гепатотоксичности, что приводит к финасовым потерям до 8 млрд. долларов в год(Wilke et al, Nat Rev Drug Discov., 2007), а примерно 46% лекарственных средств оказываются неэффективными на человеке (там же). По расчетам FDA увеличение эффективности предклинической токсикологии только на 10% поможет сэкономить на каждом лекарственном препарате 100-150 млн. долларов, а использование in vitro тест систем более адекватных человеческому организму до 20% конечной стоимости разработки. В настоящее время в качестве модельных систем для скрининга лекарственных субстанций используются трансформированные клеточные линии человека или клетки млекопитающих, что приводит к некорректным результатам испытаний. Для повышения эффективности скрининга необходимо использование стабильных линий нормальных специализированных клеток человеческого происхождения, несущих ту или иную патологию, на которую направлено предполагаемое терапевтическое средство. Современные технологии клеточной инженерии позволяют из доступного материала каждого человека (например клеток кожи), получать тип клеток, в которых проявляются патологические процессы. На настоящий момент создан банк нормальных клеточных линий человека, которые получены от пациентов с заболеваниями, для которых сегодня нет медикаментозных средств лечения, таких как болезнь Паркинсона, хорея Гентингтона, макулодистрофия Штатгардта, диабет, миопатия и ряд других. На основе специализированных клеток, характерных для каждой из патологий разработаны репортерные системы, которые позволяют проводить скрининг лекарственных субстанций, а также определять кардио и гепатотоксичность новых лекарственных препаратов.

НОВЫЙ МЕТОД ИЗМЕРЕНИЯ МАСС-СПЕКТРОВ В МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ИОННОГО ЦИКЛОТРОННОГО РЕЗОНАНСА. ПРИМЕНЕНИЕ В МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ БИОМАКРОМОЛЕКУЛ

Николаев Евгений [1,2,3], **Йертз Роланд**[4], **Харыбин Олег**[1,2,3], **Попов Игорь**[1,2,3], **Фучсер Йенс** [4], **Криете Клаудиа**[4], **Витт Матиус**[4], **Фридрих Йохен**[4], **Байкут Гойхан** [4]
[1]*Институт энергетических проблем химической физики РАН;*
[2]*Институт Биохимической физики РАН;*
[3]*Институт биомедицинской химии РАМН;*
[4]*Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Germany*

Применение масс-спектрометрии сверхвысокого разрешения по массам при исследовании белков и пептидов с использованием подходов «по-восходящей» и «по-нисходящей» требует дальнейшего увеличение разрешающей способности для более точного определения масс молекул, идентификации аминокислотных замен и посттрансляционных модификаций. Недавно предложенная нами новая измерительная ионная ловушка для масс-спектрометра ионного циклотронного резонанса, основанная на ловушке Пеннинга с определенным образом профилированными электродами возбуждения и детектирования сигнала [1,2], позволяет предотвращить возмущение фаз циклотронного движения ионов, (обычно вызываемого неидеальностью удерживающего электрического поля), путем усреднения удерживающего поля при циклотронном движении ионов в ионной ловушке спектрометра ионного циклотронного резонанса. Эффект усреднения позволяет получить разрешающую способность

мо массам не достигнутую ранее не на одном из существующих типов масс-спектрометров. Возможности новой ионной ловушки для масс-спектрометров ионного циклотронного резонанса охарактеризованы демонстрацией возможности разрешения изотопных кластеров в масс-спектрах белков с массами близкими к 200 кило Дальтонов, а также демонстрацией разрешения тонкой структуры пиков пептидов и небольших белков в их масс-спектрах. Время детектирования сигнала от ионов резерпина с отношением массы к заряду 609 большее 5 минут достигнуто в экспериментах по измерению масс-спектров пептидов методом масс-спектрометрии ионного циклотронного резонанса на спектрометре с сверхпроводящим магнитом с полем 7 Тесла, что соответсвует разрешающей способности близкой к 40 000 000. Кроме того разрешена тонкая структура изотопного кластера $^{13}C_n$ для молекул с массами до 5,7 кило Дальтонов (инсулин) и продемонстрирована разрешающая способность 4 000 000 при магнитном поле 7 Тесла

На основе разрешенной тонкой структуры пиков в масс-спектрах может быть напрямую определен атомный состав пептидов и небольших белков с помощью нового алгоритма. Показана возможность изотопного разрешения для белков с массами до 186 кило Дальтон на примере тетрамера энолазы. Это самое большое разрешение по массом когда-либо достигнутое в масс-спектометрии столь больших молекул. Полученные результаты показывают, что в разработанном методе отсутствуют факторы, ограничивающие разрешающую способность, кроме вакуума.

Ссылки

1. Boldin, I.A.; Nikolaev, E.N. Fourier transform ion cyclotron resonance cell with dynamic harmonization of the electric field in the whole volume by shaping of the excitation and detection electrode assembly. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2011**, *25*, 122-126.

2. Nikolaev, E. N.; Boldin, I. A.; Jertz, R.; Baykut, G. Initial Experimental Characterization of a new ultra-high resolution FT-ICR Cell with Dynamic Harmonization, *J. Am. Soc. Mass Spectrom*. **2011**, *22*, 1125-1129

Благодарности

Гранты РФФИ 10-04-13306, 09-04-12130 и 09-04-12225, Гранты Миннауки 14.740.11.0755, 16.740.11.0369.

THE NEW METHOD OF MASS SPECTRA MEASUREMENTS IN FT-ICR. IMPLEMENTATION IN MASS SPECTROMETRY OF BIOMACROMOLECULES

Eugene Nikolaev[1,2,3], Roland Jertz[4], Anton Grigor'ev [1,2], Igor Popov [1,2,3], Jens Fuchser[4], Claudia Kriete[4], Matthias Witt[4], Jochen Friedrich[4], Gokhan Baykut[4]

[1]*Institute for Energy Problems of Chemical Physics, Moscow, Russian Federation;*
[2]*Institute of Biochemical Physics Russian Academy of Sciences Moscow, Russian Federation;* [3]*The Institute of Biomedical Chemistry RAMS, Moscow, Russian Federation;*
[4]*Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Germany*

Introduction

Application of FT-ICR MS in the field of top-down proteomics and protein modification analyses via accurate mass measurements is demanding for further increase of the mass resolution. The recently introduced novel FT-ICR cell [1,2] based on a Penning ion trap with specially shaped excitation and detection electrodes prevents distortion of ion cyclotron motion phases (normally caused by non-ideal electric trapping fields) by averaging the trapping DC electric field during the ion motion in the ICR cell. This effect results in mass resolving powers which exceed any values obtained up to now.

Methods

The performance of the novel FT-ICR cell with shaped electrodes has been characterized by isotopically resolved mass spectra of proteins close to 200kDa as well as fine structure of resolved isotopic peaks of peptides and small proteins.

Preliminary Data

The realistic modeling of ion cloud motion using the particle-in-cell approach shows that excited ion clouds in this new ICR cell are very stable and do not lose their integrity for a very long time. Accordingly, detection times of 5 minutes resulting in resolving power close to 40,000,000 have been reached for reserpine at m/z 609 at a magnetic field of only 7 Tesla. Furthermore, fine structures of resolved $^{13}C_n$ isotopic cluster groups could be measured for molecular masses up to 5.7 kDa (insulin) with resolving power of 4,000,000 at 7 Tesla. Based on resolved fine structure patterns atomic compositions can be directly determined using a new developed algorithm for fine structure processing. Extremely high mass accuracy below 100 ppb (RMS mass error) could be achieved in complex mixtures. As example for high mass species, proteins and multimers of proteins could be measured reaching masses up to 186 kDa (enolase tetramer) with isotopic resolution. For instance, at 7 Tesla resolving power of 800,000 was achieved for enolase dimer (96kDa) and 500,000 for molecular masses above 100 kDa. Experimental data indicate that there is practically no limit for the resolving power of this ICR cell except by collisional damping in the ultrahigh vacuum chamber.

Novel Aspect

Highest FTICR resolving power, determination of atomic compositions by isotopic fine structure evaluation, isotopically resolved highest mass.

Acknowledgements

This work was supported by Russian Foundation for Basic Research through grants Nos. 10-04-13306, 09-04-12130 and 09-04-12225, Russian Ministry of Education and Science contracts 14.740.11.0755, 16.740.11.0369.

References

1. Boldin, I.A.; Nikolaev, E.N. Fourier transform ion cyclotron resonance cell with dynamic harmonization of the electric field in the whole volume by shaping of the excitation and detection electrode assembly. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2011**, *25*, 122-126.

2. Nikolaev, E. N.; Boldin, I. A.; Jertz, R.; Baykut, G. Initial Experimental Characterization of a new ultra-high resolution FT-ICR Cell with Dynamic Harmonization, *J. Am. Soc. Mass Spectrom*. **2011**, *22*, 1125-1129

ПОСТЕРЫ
POSTERS

НОВЫЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ МАССЫ ПОЛИМЕРНЫХ ПЛЕНОК

Ерофеев А.С., Яминский И.В.
Физический факультет МГУ,
119991, Россия, Москва, Ленинские горы, д.1, стр. 2
ООО «Академия биосенсоров»,
119311, г. Москва, ул. Строителей, 4-5-47

Масса – это важнейшая характеристика, при изучении кинетики сорбции полимеров, для исследования технологии послойного нанесения полимера, которые применяются для создания биосенсоров, микрокапсул для адресной доставки лекарств, перспективных новых материалов [1-2]. На данный момент практически нет устоявшихся методов с чувствительностью определения массы адсорбировавшихся пленок не хуже 1 нг. В данной работе предложен высокочувствительный метод для измерения адсорбировавшейся массы полимера. По изменению резонансной частоты кантилевера, используемого в атомно-силовой микроскопии (АСМ) в качестве зонда, определяется присоединенная масса. Ранее, используя АСМ кантилевер, были определены массы одной раковой клетки *HeLa* и бактериальной клетки *E.coli* [3-4]. Авторами статьи [5], на основе изменения резонансной частоты кантилевера, был предложен сенсор на ДНК и антитела кролика.

При сорбции полимера на поверхности кантилевера может изменяться эффективный коэффициент жесткости, что может компенсировать вклад в резонансную частоту, вызванный изменением присоединенной массы. В данной работе была предложена модификация поверхности кантилевера, позволяющая избежать влияния адсорбировавшегося полимера на коэффициент жесткости кантилевера. Используя АСМ кантилевер, была определена масса полидиаллилдиметиламмоний хлорида (ПДДА), адсорбировавшегося на поверхности кантилевера с чувствительностью 0.01 нг.

Список литературы:

1. *Katsuhiko A., Jonathan P.H., Qingmin, J.* // Macromol. Biosci. 2008. **8**, N 11. P. 981.
2. *Tang Z., Wang Y., Podsiadlo P., Kotov N.A.*// Adv. Mater. 2006. **18**, N 24. P. 3203.
3. *Park K., Jang J., Irimia D. et al. //* Lab on a Chip 2008. **8,** N 7. P. 993.
4. *Ilic B., Czaplewski D.et al. //* J. Vac. Sci. Technol. B 2001. **19**, N 6. P. 2825.
5. *Oliviero G., Bergese P., Giancarlo C. et al. //* Analytica Chimica Acta 2008. **630**, P. 161.

NEW INSTRUMENT FOR DETERMINATION OF THE MASS OF POLYMER FILMS

A.S. Erofeev, I.V. Yaminskii
Faculty of Physics M.V.Lomonosov Moscow State University,
Leninskie Gory, Moscow 11999, Russia
Biosensor academy Ltd.,
119311, Russia,Moscow, Stroitelei 4-5-47

Mass is the most characteristic parameter when studying the kinetics of polymer sorption, the technology of layer-by-layer polymer deposition, which is used in the creation of biosensors, microcapsules for targeted drug delivery, and new promising materials [1, 2]. There are no established methods that have a sensitivity during the determination of an adsorbed polymer film mass that is not

worse than 1 ng. A highly sensitive method for measuring an adsorbed polymer is proposed in this work. The added mass was determined by the change of the resonance frequency of a cantilever used in atomic-force microscopy (AFM) as a probe. The masses of a single *HeLa* cancer cell and a bacterial *E. coli* cell were determined previously using an AFM cantilever [3, 4]. In [5], a sensor for DNA and rabbit antibodies was proposed on the basis of the shift of the cantilever resonance frequency.

The effective force constant may vary when polymer is adsorbed on the cantilever surface. The increase in the force constant can compensate for the contribution to the resonance frequency due to the change of the added mass. The cantilever resonance frequency may also increase.

A modification of the cantilever surface is proposed that allows one to avoid the affect of the adsorbed polymer on the cantilever force constant. The mass of poly(diallyldimethylammo-nium) (PDDA) chloride adsorbed on the cantilever surface was obtained with a sensitivity of 0/01 ng using an AFM cantilever.

References:

1. *Katsuhiko A., Jonathan P.H., Qingmin, J.* // Macromol. Biosci. 2008. **8**, N 11. P. 981.
2. *Tang Z., Wang Y., Podsiadlo P., Kotov N.A.*// Adv. Mater. 2006. **18**, N 24. P. 3203.
3. *Park K., Jang J., Irimia D. et al. //* Lab on a Chip 2008. **8,** N 7. P. 993.
4. *Ilic B., Czaplewski D.et al. //* J. Vac. Sci. Technol. B 2001. **19**, N 6. P. 2825.
5. *Oliviero G., Bergese P., Giancarlo C. et al. //* Analytica Chimica Acta 2008. **630**, P. 161.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА МНОГОУГЛОВОГО ЛАЗЕРНОГО СВЕТОРАССЕЯНИЯ ДЛЯ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Флегонтов П.А., Скоцеляс Е.Д., Карякин А.В.
ФГБУ ГНЦ Минздравсоцразвития России,
Москва, 125167, Новый Зыковский проезд, Россия

В последние 15 - 20 лет теория светорассеяния сталасравнительно широко использоваться вхимии полимеров и биохимии. Одним из основных достижений стало создание детектора многоуглового лазерного светорассеяния (МУЛС), представляющего собой проточную ячейку, окруженную 18 расположенными под различными углами фотодиодами, регистрирующими рассеяние веществом в ячейке монохроматического вертикально поляризованного света, сгенерированного лазером. Данный метод позволяет определить молекулярную массу (ММ) и в некоторых случаях размер молекул, а при дополнении метода эксклюзионной хроматографией – ещё и молекулярно-массовое распределение (ММР) [1].

Возможность быстро и с высокой точностью определять ММР, определяющее фармакокинетику кровезаменителей на основе полисахаридов, позволила рекомендовать использование детектора МУЛС для анализа кровезаменителей на основе гидроксиэтилированного крахмала [2] и декстрана. В Российской фармакопее данный раздел не предусмотрен.

При анализе ММР белковых препаратов крови процентное содержание отдельных фракций определяют по поглощению в УФ области. С помощью детектора МУЛС, обладающего большей чувствительностью к высокомолекулярным фракциям по сравнению с УФ-детектором, в препаратах альбумина и иммуноглобулинов выявлено наличие высокомолекулярных агрегатов (ММ свыше 2 МДа), с большей точностью определено их процентное содержание и размер молекул, а также показано увеличение их содержания при тепловой инактивации.

Таким образом, использование метода МУЛС позволяет повысить качество контроля лекарственных средств полисахаридной и полипептидной природы.

Литература:

1.E.Folta-Stogniew, K. Williams. Journal of Biomolecular Techniques.10:51-63.1999
2.European Pharmacopoeia 7.0, 2010

PERSPECTIVES OF APPLICATION MULTI-ANGLE LASER LIGHT SCATTERING METHOD FOR CONTROL QUALITY OF DRUGS

Flegontov P.A., Skotselyas E.D., Karyakin A.V.
Scientific Center of Hematology,
Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation,
Moscow, 125167, Novyi Zykovskyi 4, Russia

Application of light scattering theory has become quite widely used in the chemistry of polymers and biochemistry for the past 15-20 years. Development of the multi-angle laser light scattering detector (MALLS) was one of the breakthrough achievements in the former field. MALLS is constituted of a flow-through cell surrounded by 18 photodiodes at different angels that register vertically polarized monochromatic laser light scattering. Collected data are normaly used to calculate molecular mass (MM), sometimes size of the molecules, and, if combined with size-exclusion chromatography, molecular mass distribution (MMD) [1].

In pharmacokinetics of polysaccharide based plasma surrogates MALLS is used to quickly and accurately determine MMD. Although in European Pharmacopoeia [2] MALLS is also recommended for the analyses of hydroxylethyl starch and dextran products, there is no such recommendation provided in Russian Pharmacopoeia.

The percentage of individual fractions such as monomers, dimers, and polymers in blood protein preparation is generaly determined using UV absorption at 280 nm. MALLS has much greater sensitivity in the range of high-molecular fractions as compare with the UV detector and its application to the analysis allowed us to detect the persentage of macromolecular aggregates in preparations of albumin and immunoglobulins and their molecular mass (MM higher than 2 MDa) with high accuracy. We could also show an increase in the percentage of these macromolecular complexes as the result of thermal inactivation.

Thus, utilization of MALLS improves the quality control of polysaccharide and polypeptide based products.

Reference:

1. E. Folta-Stogniew, K. Williams. Journal of Biomolecular Techniques. 10:51-63.1999
2. European Pharmacopoeia 7.0, 2010

МНОГОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОЛИМЕРНЫЕ КОМПОЗИЦИИ НА ОСНОВЕ ПОЛИАНИЛИНА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ

Исакова А.А.[1], Райтман О.А[1], Иванов В.Ф[1], Иванова М.В.[2], Тверской В.А.[3], Ванников А.В.[1]
[1]*ИФХЭ РАН,*
119991, Москва, Ленинский проспект д.31,
Isakova_Aleks@list.ru,
[2]*НИИ вирусологии им.Д.И. Ивановского Минздравсоцразвития,*
123098, Москва, ул. Гамалеи д.16,
[3]*МИТХТ им. Ломоносова,*
119571 Москва, проспект Вернадского 86

В основе успешной диагностики биообъектов лежит создание принципиально новых подходов на основе использования современного оборудования и нанотехнологий. В связи с этим возникает необходимость синтеза многофункциональных наноматериалов, обладающих низкой токсичностью, заданными механическими свойствами, а также возможностью реагировать на

внешние воздействия. Недавно была продемонстрирована возможность создания чувствительных элементов сенсоров на основе поверхностного плазмонного резонанса (ППР) для определения вирусов гриппа с помощью пленок комплексов полианилина (ПАНи) с полисульфокислотой. Настоящая работа посвящена разработке новых перспективных материалов для диагностики биологических объектов и химического состава биожидкостей методом ППР, электрохимическими методами (ЦВА и потенциометрией), а также комбинацией этих методов. Была разработана методика синтеза ПАНи на сульфированных пленках полиэтилена методом встречной диффузии и методом матричной полимеризации. Установлена зависимость между степенью прививки сульфогрупп, скоростью полимеризации анилина и физико-химическими свойствами композитов. Показана возможность применения композитов ПАНи/ПЭ-ПССК для определения кДНК вирусов гриппа методом потенциометрии. Варьирование поликислот, входящих в состав композитов на основе ПАНи, потенциально расширяет возможности практического применения получаемых наноматериалов. Введение полиакриловой кислоты в ПАНи позволяет ковалентно пришивать нуклеотиды (напр. аминофлавинадениндинуклеотида) на композит с последующим реконструированием на них апоферментов (вставка нативного кофермента в структуру фермента). Показано, что такие многофункциональные композитные пленки, иммобилизованные на ППР-электроды, позволяют количественно определять такие жизненно важные соединения как глюкоза, лактат и др. с высокой селективностью. Совмещение электрохимических и ППР методов позволяет использовать биоэлектрокаталитические функции наноматериалов на основе ПАНи для оптического контроля биоэлектрокаталитического окисления моносахаридов. Полученные результаты открывают широкие перспективы использования композитов на основе ПАНи для усовершенствования лабораторных и инструментальных методов в клинической диагностике.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта МК-882.2011.3

MULTIFUNCTIONAL POLYMER COMPOSITIONS BASED ON POLYANILINE FOR BIOLOGICAL OBJECTS DETERMINATION

Isakova A.A.[1], **Raytman O.A.**[1], **Ivanov V.F.**[1], **Ivanova M.V.**[2], **Tverskoi V.A.**[3], **Vannikov A.V.**[1]
[1]*A.N. Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry of RAS, Leninskii prospect 31, Moscow, 119991, Russia, Isakova_Aleks@list.ru*
[2]*D.I. Ivanovsky Research Institute of Virology of RAMS, Gamaleya st 16, Moscow, 123098, Russia*
[3]*Lomonosov Moscow University of Fine Chemical Technology, Vernadskii prospect 86, Moscow, 119571, Russia*

The cornerstone of effective biological objects diagnostics is the development of new fundamental approach to usage of modern instrumentation and nanotechnologies. In connection with this the necessity to synthesize multifunctional nanomaterials possessing low toxicity, specified mechanical properties and possibility to respond to external actions. Recently the possibility to construct SPR-sensors based on polyaniline/polysulfonic acid complexes for influenza viruses determination was demonstrated. This work is devoted to the design of new perspective materials for biological objects diagnostics and biofluids chemical composition determination by Surface Plasmon Resonance spectroscopy, electrochemical methods, and combination of these techniques. The procedures of polyaniline synthesis on sulfated polyethylene films by interdiffusion and by matrix polymerization were developed. The relation between sulfonate group inoculation degree, polymerization speed and physic-chemical properties of composites was ascertained. Capability to apply PANi/PE-PSSA composites for influenza virus determination by potentiometry was demonstrated. Varying of polymeric acids in composition of polyaniline complexes potentially expands the opportunities of practical application

of developed nanomaterials. Introduction of polyacrilic acid into PANi allows to link covalently nucleotides to the composite followed by apoenzyme reconstitution onto them. It is shown that such polyfunctional composite films immobilized on SPR-electrodes allow to determine quantitatively and selectively such vital compounds as glucose, lactate etc. Combination of electrochemical and SPR methods enables to use bioelectrocatalitical properties of nanomaterials based on PANi for optical control of bioelectrocatalitical oxidation of monosaccharides. Obtained results open up new vistas of polyaniline composites usage for laboratory and instrumental methods development in clinical diagnostics.

This study is partially supported by МК-882.2011.3 grant.

МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕДАЧИ ОПТИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИМ ОБЪЕКТАМ

Плешкова Ю.А., Лихтер А.М.
Астраханский государственный университет,
г. Астрахань, ул. Татищева 20, 414056

Разработка и проектирование устройств для передачи оптической информации биологическим объектам в биокибернетических системах (БКС) обуславливает необходимость решения проблемы обоснования метода выбора параметров указанных систем, обеспечивающих эффективность процесса управления. К числу таких практически важных задач относится, в частности, структурная и параметрическая оптимизация элементов систем управления поведением насекомых различных классов: кровососущих, вредителей и др. В докладе рассматривается метод проектирования элементов БКС, основанный на применении информационных критериев качества оптико-электронных систем и моделировании зависимостей энергетических и информационных характеристик процесса передачи оптической информации в БКС от таких факторов, как геометрические параметры, время года и суток, тип излучателя, класс зрения объекта управления, оптические показатели ландшафта местности. Приведены расчеты, свидетельствующие о возможности повышения эффективности управления в результате использования метода внешней фильтрации сигнала.

THE METHOD OF INVESTIGATION OF THE OPTICAL INFORMATION TRANSMISSION TO THE BIOLOGICAL OBJECTS

U. Pleshkova, A.Likhter
Astrakhan State University, Russia

The development and projecting of the devices for optical information transmission to the biological objects in biocybernetic systems (BCS) determines the necessity of the decision of the problem of the selecting of the method of the indicated systems parameters choosing, providing the management process effectiveness. To this practically important tasks we can refer, in particular, the structural and parameter optimization of the elements of the system of the different classes of insects behavior management: sanguivorouses, depredators and others. In this paper we observe the BCS elements projecting method, based on the implementation of the information criteria of the optic-electronic systems quality and modeling of the dependence of energetic and information characteristics of the optical information transmission process in BCS from such factors as geometric parameters, time of the year and of the day, oscillator type, managing object vision type, optical data of the region landscape. There are calculations, certifying the possibility of the management effectiveness increasing as a result of the outdoor signal filtration method implementation.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ПЛАЗМЫ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

Сажина Н.Н.[1], **Мисин В.М.**[1], **Короткова Е.И.**[2]
[1]*Институт биохимической физики им. Н.М.Эмануэля РАН,*
119334, Москва, ул. Косыгина, 4.
[2]*Томский политехнический университет,*
634050, Томск, пр. Ленина, 30.

Определение антиоксидантной активности (АОА) плазмы крови человека является важной задачей для медико-биологических исследований, поскольку АОА определяет «антиоксидантный статус» человека, т.е. защитную систему организма для борьбы с окислительным стрессом. Кровь является сложной субстанцией для исследований. За суммарную АОА плазмы крови принимается интегральная величина, характеризующая потенциальную возможность АО действия всех ее компонентов с учетом потенциального синергизма их кооперативного действия.

В настоящей работе определялась суммарная АОА плазмы крови параллельно с измерением в ней содержания АО фенольного типа двумя электрохимическими методами: вольтамперометрическим и амперометрическим. Плазма крови была получена центрифугированием при 1500 об/мин крови 30 пациентов обычной поликлиники разного возраста, пола и разной патологии. В первом методе в качестве модельной реакции используется процесс электровосстановления кислорода на ртутно-пленочном электроде, а за критерий АОА принимается кинетический параметр, отражающий концентрацию кислорода и его активных радикалов, прореагировавших с АО за единицу времени. Второй метод позволяет определить в пробах плазмы крови суммарное содержание антиоксидантов фенольного типа. Оба эти метода оперативны и просты в исполнении. Анализ результатов измерений, полученных в работе, свидетельствуют о том, что в плазме крови большинства пациентов присутствует достаточное количество фенольных соединений, которые определяют доминирующие процессы взаимодействия компонентов плазмы крови с кислородом и его радикалами и характер полученных вольтамперограмм. Разброс значений АОА плазмы крови пациентов составил 3-4 раза, что свидетельствует об их различном «антиоксидантном статусе». Коэффициент корреляции между суммарным содержанием фенольных АО и значениями АОА составил r=0,8141. Данные методы могут использоваться для контроля «антиоксидантного статуса» пациентов в процессе диагностики и лечения их болезней.

USE OF ELECTROCHEMICAL METHODS FOR DEFINITION OF THE TOTAL ANTIOXIDANT ACTIVITY OF HUMAN BLOOD PLASMA

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

Definition of antioxidant activity (AOA) of human blood plasma is an important problem for medical and biological researches as AOA defines « antioxidant status» of the person, i.e. protective system of an organism for struggle against “oxidizing stress”. Human blood plasma is a difficult substance for researches. The total activity of blood plasma is integrated parameter characterizing potential possibility of the antioxidant action of all components of blood plasma, considering their

interactions with each other. The synergism phenomena of their cooperative action can be shown in this difficult system. In the present work the total activity with respect to oxygen and its radicals of blood plasma was measured in parallel with measurement of the total phenol type antioxidant content in plasma by two electrochemical methods: voltammetric and ammetric. Blood plasma has been received by centrifuging at 1500 r/min of blood of 30 patients from usual polyclinic with different age, sex and pathology. The voltammetric method uses the process of oxygen electro-reduction at the mercury film electrode as modeling reaction. This process is similar to oxygen reduction in live tissues and cells. Kinetics parameter is used as an antioxidant activity criterion of investigated samples of blood plasma. It reflects concentration of oxygen and its active radicals which have reacted with antioxidants (or their mixes) in a time unit. The ammetric method of measurement allows defining the total phenol type antioxidant content in tests of blood plasma. Both these methods are operative and simple performed by. Measurement times of the specified parameters are 15-20 minutes. The analysis of received results testify that in blood plasma of many patients there is enough of classical phenolic compounds which define dominating processes of interaction of blood plasma components with oxygen and its radicals and character of received VA-gramms. The difference of blood plasma AOA values for various patients has made 3-4 times that testifies about their different «antioxidant status». The correlation factor between the total phenolic antioxidant content of blood plasma and values of AOA has made r = 0, 8141. The given methods can be used for «antioxidant status» control of patients in the course of diagnostics and treatment of their illnesses.

РАЗРАБОТКА ПОЛЯРИЗАЦИОННОГО ФЛЮОРОИММУНОАНАЛИЗА ФТОРХИНОЛОНОВ

Шанин И.А.[1], **Еремин С.А.**[1,2], **Дзантиев Б.Б.**[2], **Лей Хонгтао**[3], **Сан Гуанминг**[3]

[1]*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Химический факультет, Ленинские горы, дом 1,стр.3, Москва, Россия, 119991*

[2]*Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Ленинский Проспект, дом 33-2, Москва, Россия, 119071*

[3]*Институт Безопасности Пищи, Южнокитайский Сельскохозяйственный Университет, Гуанджоу, Китай, 510642*

E-mail: numenor-08@mail.ru

Фторхинолоны – группа синтетических антимикробных средств широко применяемых в медицине. Вещества хинолоновой природы подразделяются на 4 поколения, первое – нефторированное, остальные, фторированные, делятся в зависимости от своей активности в отношении микроорганизмов. Всего, на данный момент времени, насчитывается более 20 соединений хинолоновой структуры, и список постоянно пополняется. В виду того, что фторхинолоны широко применяются и при лечении животных, актуальна разработка быстрых и надежных методов их определения в продуктах питания животного происхождения, таких как молоко, мясо крупного и мелкого рогатого скота, рыба, печень, почки. Следует отметить, что законодательством РФ установлены предельно допустимые концентрации на сумму следующих веществ: ципрофлоксацин, энрофлоксацин, пефлоксацин, офлоксацин, норфлоксацин, кроме того индивидуально необходимо контролировать содержание флумеквина, сарафлоксацина, данофлоксацина, дифлоксацина и марбофлоксацина.

Одним из наиболее перспективных, с точки зрения экспрессности, высокой специфичности, низкой стоимости и простоты проведения анализа, является иммунохимический метод поляризационного флюороиммуноанализа (ПФИА).

В ходе разработки методики ПФИА основным этапом является получение специфичных

антител. Фторхинолоны – низкомолекулярные вещества (гаптены), что обуславливает дополнительный этап – синтез конъюгатов с бычьим сывороточным альбумином (БСА) для повышения иммуногенности антигена. В виду наличия свободной карбоксильной группы у фторхинолонов этап активации чаще всего проводится с помощью EDC-метода (1-этил-3-(диметиламинопропил)карбодиимид).

Интерес представляет группоспецифический анализ и анализ индивидуальных фторхинолонов. В результате того, что хинолоновые структуры чрезвычайно схожи, очень часто получаемые антитела обладают широкой перекрестной специфичностью, что является серьезной проблемой при создании иммунохимических систем для определения индивидуальных фторхинолонов. Поэтому, для повышения специфичности антител, при синтезе конъюгатов был использован БСА, активированный этилендиамином.

В данной работе для получения поликлональных антител на офлоксацин, левофлоксацин, энрофлоксацин и пефлоксацин используются кролики калифорнийской породы. Иммунизации проводятся в район позвоночника в 15-20 мест еженедельно свежеприготовленной эмульсией следующего состава: 1 мг конъюгата (200-400 мкл раствора), 0,5 мл полного адъюванта Фрейнда, 0,5 мл воды для инъекций. Мониторинг титра антител проводится по возрастанию поляризации флюоресценции с помощью прибора TDx фирмы Abbott Diagnostics, позволяющего одновременно проводить 10 измерений аналитического сигнала.

Для нескольких фторхинолонов синтезирован ряд трейсеров с различными флуоресцентными метками (EDF, FITC), с которыми проверяются получаемые антитела и разрабатываются методики ПФИА для определения фторхинолонов. На данный момент времени интерес представляет тот факт, что антитела, использующиеся для определения этих соединений другими методами, не работают в ПФИА. Так же отсутствие публикаций по определению фторхинолонов методом ПФИА характеризует данную проблему как непростую задачу иммунохимического анализа.

Работа выполнена при поддержке грантов ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 гг. (государственный контракт № 16.740.11.0158 от 2 сентября 2010 г.) и РФФИ «Изучение механизма энантио-селективного распознавания хиральных гаптенов молекулами антител с использованием офлоксацина в качестве модели» (11-04-91189-ГФЕН_а).

DEVELOPMENT OF FLUORESCENCE POLARIZATION IMMUNOASSAY FOR DETECTION OF FLUOROQUINOLONES

Ilya A. Shanin[1], Sergei A. Eremin[1,2], Boris B. Dzantiev[2], Hongtao LEI[3], Yuanming SUN[3]

[1]*Department of Chemical Enzymology, Faculty of Chemistry, M.V.Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

[2]*A.N.Bakh Institute of Biochemistry of Russian Academy of Science, Leninskii pr. 33-2, 119071 Moscow, Russia*

[3]*Institute of Food Safety, South China Agricultural University, 510642, Guangzhou, China*

Fluoroquinolones (FQ) are family of synthetic broad-spectrum antimicrobial compounds which widely used in medicine. The compounds of quinolones family could be divided in 4 generations: the first generation of the quinolones is non-fluoroquinolones and next generations are fluoroquinolones, which have fluorine atom and divided in depends from its activity against bacterial infections. Totally at this moment more than 20 FQ compounds are used and its quantity is growing. The FQ also widely applied for animal treatment and the simple and precise methods must be used for detection of FQ in food samples like milk, meet, fish and etc.

The Fluorescence Polarization Immunoassay (FPIA) is one of the more perspective method for

quick, specific, cheep and simple detection. The production of specific antibodies is key step for development of FPIA. The FQ are low molecular-weight compounds (haptens) and must be specially conjugated with bovine serum albumin (BSA) for increasing of immunogenecy of haptens. The detection of FQs must be as group-specific and as individual hapten specific. But produced antibodies as usually are broad-specific because the structures for FQ are very similar. It is serious problem for development of specific immunoassay for each FQ. For this reason the conjugates of FQ with ethylenediamine activated BSA were used. The California rabbits were used for immunization and production of polyclonal antibodies against Ofloxacin, Levofloxacin, Enrofloxacin and Pefloxacin. The monitoring of titres were made by detection of Fluorescence Polarization using Abbott TDx instrument, which could simultaneously measured up to 10 samples. The Fluorescein-labeled analytes (tracers) were synthesized for several FQ using different Fluorescein-markers (EDF, FITC). These tracers were used for antibodies assessment and for development of FPIAs.

Acknowledgement: This research was supported by the Federal Target Program "Scientific and scientific-pedagogical personnel of innovative Russia in 2009-2013" (State Contract № 16.740.11.0158, September 2, 2010) and Russian Foundation for Basic Research grant 11-04-91189_NSFC_a «Mechanism of the enantio-selective molecular recognition between chiral hapten and antibody: ofloxacin as model».

ИССЛЕДОВАНИЕ ФОСФОЛИПИДНЫХ ФРАКЦИЙ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН АКТИНОБАКТЕРИЙ МЕТОДОМ ДИФРАКЦИИ РЕНТГЕНОВСКИХ ЛУЧЕЙ

Синева О.Н.[1], **Филиппова С.Н.**[2], **Сургучева Н.А.**[2], **Ермакова Е.В.**[3], **Киселев М.А.**[3], **Галатенко О.А.**[1], **Терехова Л.П.**[1], **Забелин А.В.**[4], **Гальченко В.Ф.**[2]

[1]*ФГБУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе» РАМН,*
119021, г. Москва, ул. Б.Пироговская, д. 11.
[2]*Учреждение Российской академии наук Институт микробиологии им. С.Н.Виноградского РАН,*
117312, г. Москва, Проспект 60-летия Октября, д. 7, корп. 2.
[3]*Объединенный институт ядерных исследований,*
141980, Московская область, г. Дубна, ул. Жолио-Кюри, д. 6.
[4]*Курчатовский центр синхротронного излучения и нанотехнологий, Российский научный центр «Курчатовский институт»,*
123182, г. Москва, пл. Курчатова, д.1.

Методы дифракции нейтронов и рентгеновских лучей являются эффективными методами изучения структурной организации липидной компонеты биомембран при фазовых переходах. Целью данной работы явилось изучение организации и стабильности основных структурных параметров при хранении липидных фракций актинобактерий. Измерение дифракционных спектров проводили на установке Дикси синхротронного источника Сибирь-2 РНЦ «Курчатовский институт», которая позволяет получать информацию одновременно о структуре и фазовом состоянии липидных слоев. Расположение пиков спектра дифракции в области малоуглового рассеяния от образцов фосфолипидной фракции, частично гидратированных парами воды из воздуха, показало, что липиды *Streptomyces hygroscopicus* RIA 1433 находятся в ламеллярной конфигурации, образуя достаточно плотную упаковку. Липиды *Nonomuraea roseoviolaceae subsp. carminata* INA 4281 и *Nonomuraea* sp. INA 34-06 находятся в двух фазах – ламеллярной и инвертированной гексагональной, данная структура не стабильна. Измерение спектров дифракции после 10 месяцев хранения при 4^0C, показало существенное изменение фазово-структурной организации фракций мембранных липидов нономурий, в то время как у *S.*

hygroscopicus структура оставалась стабильной. Полученные данные позволяют предположить, что клеточные мембраны *S. hygroscopicus* более устойчивы к повреждающим факторам, чем мембраны культур р. *Nonomuraea*.

PHOSPHOLIPID COMPONENT OF ACTINOBACTERIA CELL MEMBRANES STUDIED BY NEUTRON DIFFRACTION METHOD

Sineva O.N[1]**., Filippova S.N.**[2]**, Surgucheva N.A.**[2]**, Ermakova E.V.**[3]**, Kiselev M.A.**[3]**, Galatenko O.A.**[1]**, Terekhova L.P.**[1]**, Zabelin A.V.**[4]**, Galchenko V.F.**[2]

[1]*Gause Institute of New Antibiotics Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, 119021, str Bolshaya Pirogovskaya 1.*

[2]*Winogradsky Institute of Microbiology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 117312, str 60th Anniversary of October 7, Bldg 2.*

[3]*Joint Institute for Nuclear Research, Dubna,*
Moscow Region, 141980, str Joliot-Curie 6.

[4]*Kurchatov Center for Synchrotron Radiation and Nanotechnology, Russian Research Center "Kurchatov Institute",*
Moscow, 123182, pl. Kurchatov 1

The methods of neutron diffraction and X-rays are effective methods for studying the structural organization of the biomembrane lipid component at phase transitions. The aim of this work was to study the organization and stability of the basic structural parameters at the storage of lipid fractions of actinobacteria. Measurement of diffraction spectra were performed on the installation Dixie synchrotron source Siberia-2 RRC "Kurchatov Institute", which provides information simultaneously on the structure and phase state of lipid layers. The location of the spectrum peaks in the diffraction angle scattering from the phospholipid fraction samples partially hydrated by water vapor from the air showed that the lipids *Streptomyces hygroscopicus* RIA 1433 are of lamellar configuration forming a rather dense packing. Lipids of *Nonomuraea roseoviolaceae* subsp. *carminata* INA 4281 and *Nonomuraea* sp. INA 34-06 are in two phases — lamellar and inverted hexagonal, the structure being not stable. Measurement of the diffraction spectra after 10 months storage at 40 ° C revealed a significant change in the phase-structural organization of membrane lipids fractions of *Nonomuraea* spp., whereas that of *S. hygroscopicus* remained stable. The data suggest that the cell membranes of *S. hygroscopicus* are more resistant to damaging factors than the membranes of *Nonomurae* spp.

ИЗУЧЕНИЕ ИСТОЧНИКОВ СЕРЫ В МЕХАНИЗМЕ РЕКОНСТРУКЦИИ [Fe-S]-КЛАСТЕРОВ БЕЛКОВ — ГЛАВНОЙ МИШЕНИ ДЛЯ НОВЫХ NO-СОДЕРЖАЩИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Стрельцова Д.А., Васильева С.В.

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

Происхождение и эволюция ряда структур клетки млекопитающих, принимающих непосредственное участие в развитие апоптоза, указывает на их связь с бактериальными предшественниками [Koonin, 2002]. Это, прежде всего, митохондрии – бактериальные эндосимбионты. Microarray-исследования выявили вклад в развитие апоптоза – при доминировании программируемой клеточной гибели (PCD) – и других механизмов, в т.ч.

репарации ДНК.

Наши работы связаны с изучением фундаментальных механизмов регуляции ДНК-репарационных процессов NO и его донорами, что в значительной степени обусловлено позитивными результатами исследований по направленной доставке лекарств к главным NO-мишеням — SH-группам и [Fe-S]-кластерам белков. Нами впервые описан механизм обратимой регуляции ДНК-репарационного гена aidB Ada-регулона E.coli железо-серным белком Fnr[4Fe-4S]$^{2+}$ в анаэробных условиях культивирования [Васильева и др., 2010]. В присутствии NO процесс экспрессии ингибируется, что связано с распадом кластера-димера белка Fnr с его последующей реконструкцией. In vitro этот процесс осуществляется мультиферментным комплексом [Dean et al., 1993]; in vivo он практически не изучен. При этом существенно, что белок AidB E.coli является аналогом ацил-КоА-дегидрогеназы млекопитающих, осуществляющих β-окисление в митохондриях, для которых бактерии являются эволюционными эндосимбионтами, и связанных с индукцией апоптоза в клетках толстого кишечника [Augenlicht et al., 1999]. Наиболее значимые результаты получены нами в вариантах с использованием сульфида натрия Na_2S как источника неорганической серы для реконструкции железо -серного кластера белка Fnr[4Fe-4S]$^{2+}$. В этих экспериментах восстановление экспрессии гена aidB и формирование в E. coli ДНКЖ с персульфидными лигандами (по результатам ЭПР-спектроскопии) были наиболее выраженными. Полученные результаты могут указывать на отсутствие промежуточной ферментативной стадии десульфуризации цистеина специфическим белком IscS. *In vitro* этот этап приводит к образованию неорганической серы и ее последующему использованию в процессе реконструкции Fe-S кластеров.

SULFUR SOURCES FOR THE RECONSTRUCTION OF IRON-SULFUR CLUSTER PROTEINS *IN VIVO* — AS THE MAIN TARGETS FOR THE NEWLY DEVELOPED NO-DONATING DRUGS

Streltsova D.A., Vasilieva S.V.
N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics, RAS
119334, Moscow, Kosygin st., 4

An emerging scenario of the origin of the eukaryotic apoptotic system involves the bacterial connection [Koonin et al., 2002]. Microarray studies showed up the other mechanisms, besides programmed cell death (PCD), that influence strongly the normal apoptosis development. These are the DNA-repairing systems.

Our aim is to study the fundamental mechanisms of DNA-repair pathways induced by NO molecule and its donors which are known to act in the proapoptotic as well as antiapoptotic ways. Nowadays NO-donating drugs present a great interest in the development of newest chemotherapy strategies which involve directed drug delivery to the main cell NO-targets: SH-groups and Fe-S clusters of proteins.

Previously we've firstly described the new mechanism of the aidB gene (Ada-regulon, E.coli) reversible regulation by Fnr[4Fe-4S]$^{2+}$protein in anaerobic conditions [Vasilieva et al., 2010]. NO inhibited the aidB expression due to Fnr[4Fe-4S]$^{2+}$cluster decomposition. This process is under the control of multienzyme complex *in vitro* [Dean et al., 1993]; however *in vivo* its features are not detailed. It is important that the E.coli AidB protein is analogous to the mammalian Acyl-CoA dehydrogenase that functions during β-oxidation in the mitochondria and linked with the apoptosis induction in colonic cell lines [Augenlicht et al., 1999]. Therefore knowledge of cluster assembly *in vivo* is intimately related to the ability to rationally manipulate apoptosis for therapeutic gain.

The most remarkable results were achieved in our experiments with Na_2S as a source of inorganic

sulfur for the Fe-S cluster reconstruction in E.coli Fnr[4Fe-4S]$^{2+}$protein. The aidB gene reversible activation was correlated with the dinytrosyl iron complexes with persulfide ligands formation inside the cells (according to the EPR-spectroscopy findings). The results obtained allow us to suggest the absence of intermediate enzymatic stage connected with the cysteine desulphurization by specific IscS protein in E.coli. *In vitro* this stage leads to the inorganic sulfur formation for the following using in Fe-S cluster reconstruction.

АДСОРБЦИОННАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ БЕЛКОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФЛУОРИМЕТРИЧЕСКОГО ДЕТЕКТИРОВАНИЯ

Томах М.А[1]**., Севрюков И.Ю.**[2]

[1]*Харьковская специализированная школа I-III ступеней № 155 Харьковского городского совета Харьковской области;*

[2]*НИИ химии ХНУ имени В.Н. Каразина, Украина; г. Харьков*

Проблема которую решает наше исследование: Технологический процесс во время индустриальной революции улучшил качество жизни, но также прямо или косвенно привёл к дополнительным нагрузкам на человеческое здоровье. Изменения в производстве на молекулярном уровне могут вызывать как положительные, так и отрицательные воздействия на здоровье и окружающую среду. Для диагностики целенаправленной доставки лекарств противоопухолевой и генной терапии в медицине и биологии широко используются флуоресцентные биологические зонды. Создание флуоресцентных зондов и меток для медицины и биологии, исследования их эффективности — одно из направлений работы Научно-исследовательского института химии при Харьковском Национальном университете имени В.Н. Каразина.

Методы исследования: разделение белков сыворотки крови человека и использованием хроматографической колонки, коллектора фракций; анализ фракций элюента на хроматографе; составление и анализ профиля элюций.

Объекты исследования: кровь здорового человека, сыворотка крови людей больных на рак яичников и аденому простаты.

Результаты исследований: методом хроматографии с помощью сефадекса были получены хроматограммы с предложенными флуоресцентными соединениями, которые были синтезированы в отделе физической органической химии ХНУ имени В.Н. Каразина, как проявляющих красителей белков сыворотки крови здорового человека и людей с такими болезнями: рак яичников и аденома простаты.

Практическая ценность проведённых исследований — разработать в будущем на основе полученных данных более эффективные флуоресцентные зонды для биофизически направленных исследований и новых сцинтилляционных материалов.

ADSORBTION CHROMATOGRAPHY OF SERUM PROTEINS USING FLUORIMETRIC DETECTION

M. Tomah, I. Sevrukov

Kharkiv National University named after VN Karazin

Terms of study September 2012-January 2011

The problem is solved by our research: The process during the Industrial Revolution improved the quality of life, but also directly or indirectly led to additional stress on human

health. Changes in production at the molecular level can cause both positive and negative effects on health and the environment. For the diagnosis of targeted anticancer drug delivery and gene therapy in medicine and biology are widely used fluorescent biological probes. Establishment of fluorescent probes and labels for medicine and biology, the study of their effectiveness — one of the directions of the Research Institute for Chemistry at Kharkov National University Karazin. Methods: separation of blood serum proteins of man and using a chromatography column, fractions collector, and analysis on the fractions of the eluent chromatography, the compilation and analysis of the elution profile. Objects of research: the blood of healthy human blood serum of patients on human ovarian cancer and BPH.

Research results: by chromatography using Sephadex chromatograms were obtained with the proposed fluorescent compounds that were synthesized at the Department of Physical Organic Chemistry, Kharkiv National University named after VN Karazin as dyes exhibit serum proteins of healthy people and people with such diseases: cancer, ovarian and prostate adenoma. The practical value of studies — to develop in the future on the basis of data more efficient fluorescent probes for biophysical studies and directed the new scintillation materials.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СУПЕРКОМПЬЮТЕРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНАЛИТИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ПРИ ПРОЕКТИРОВАНИИ МАСС-АНАЛИЗАТОРОВ С ПРЕОБРАЗОВАНИЕМ ФУРЬЕ ДЛЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРИМЕНЕНИЙ

Владимиров Г.Н.[1], **Николаев Е.Н.**[1,2,3]

[1]*Институт энергетических проблем химической физики РАН, г. Москва*
[2]*Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, г. Москва*
[3]*Институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАМН, г. Москва*

Для анализа биологических объектов различного происхождения и сложности в последнее время широко используется масс-спектрометрия. Причем, во многих случаях – например в подходах по нисходящей в протеомике, или при работе со сложными смесями биологических молекул, такими как физиологические жидкости человека предъявляются высокие требования к аналитическим характеристикам используемых масс-спектрометров: разрешению, динамическому диапазону и точности измерения масс. В настоящее время максимальное разрешение и точность достигаются в масс-анализаторах с преобразованием Фурье — ионный циклотронный резонанс (ИЦР-ПФ) [1], орбитальная ловушка[2], ловушка Кассини[3]). Для обеспечения высокой разрешающей способности эти масс-анализаторы нуждаются в как можно более продолжительных сигналах от токов, наводимых движением ионов в детектирующей электрической цепи. В таких ловушках ионы совершают миллионы колебаний в ограниченном пространстве ионной ловушки-детектора, а пробег внутри таких масс-анализаторов составляет десятки километров. При этом происходит многократное пересечение траекторий ионных облаков разных m/z, поэтому кулоновское взаимодействие существенно влияет на их поведение, и, как следствие, на аналитические характеристики масс-спектрометров. Исследование поведения ионных ансамблей с помощью численного моделирования, учитывающего кулоновское взаимодействие, позволяет наблюдать многие из эффектов, определяющих разрешение, динамический диапазон и точность измерения масс, которые необходимо учитывать при конструировании новых приборов.

В данной работе с помощью компьютерного моделирования основанного на методе “частица в ячейке” [1], рассматривается поведение ионных ансамблей, на основании которого определяются аналитические характеристики масс анализаторов. Были рассмотрены масс-анализаторы орбитальная ловушка, ловушка Кассини и ИЦР ловушка различной геометрии.

Рассматривались явления, ограничивающие аналитические характеристики и конструктивные решения, минимизирующие соответсвующие ограничений.

[1]G. Vladimirov, CL. Hendrickson, GT. Blakney, AG. Marshall, R.M.A Heeren, E. Nikolaev, Fourier transform ion cyclotron resonance mass resolution and dynamic range limits calculated by computer modeling of ion cloud motion // J. Am. Soc. Mass Spectrom. ,Volume 23, Number 2, 375-384, 2012

[2]A.Kharchenko, G.Vladimirov, R.M.A.Heeren, E.Nikolaev Performance of Orbitrap mass analyzer at various space charge and non-ideal field conditions: simulation approach // J. Am. Soc. Mass Spectrom., DOI 10.1007/s13361-011-0325-3, 2012

[3]Claus Koster, The concept of electrostatic non-orbital harmonic ion trapping // International journal of mass spectrometry, 287, 114-118, 2009

ANALYTICAL PERFORMANCE OF FOURIER TRANSFORM MASS ANALYZERS DESIGNED FOR BIOLOGICAL APPLICATIONS: SIMULATION APPROACH

G.N. Vladimirov[1], **E.N. Nikolaev**[1,2,3]

[1]*The Institute for Energy Problems of Chemical Phys, Moscow, Russia;*

[2]*Emanuel Institute of Biochemical Physics, Moscow, Russia;*

[3]*The Institute of biomedical chemistry RAMS, Moscow, Russia;*

Nowadays, mass-spectrometry is a broadly accepted technique for analysis of biological objects of different origin and complexity. Many applications of mass-spectrometry in biology such as top-down proteomics or analysis of complex mixtures of biological origin present high demands to analytical performance of mass analyzers being used. The analyzers are typically required to provide high resolution, dynamic range and accuracy of mass measurements. Currently, the most commonly applicable analyzers providing maximum resolution and accuracy are the Fourier transform ion cyclotron resonance (FT-ICR) [1], the orbital trap [2], and cassinian traps [3].To reach the high performance, each of the analyzer types needs to be optimized in trap geometry and injection ion beam parameters. Also, mass analyzers are extremely critical to the quality of electrostatic and magnetic fields in their measurement zone, as well as to the influence of uncompensated space charge effects. Further improvement of mass accuracy, sensitivity, dynamic range, and rate of spectrum acquisition requires deeper understanding of ion motion dynamics in ion traps. Such an understanding is impossible without high-precision realistic computer simulation of ion behavior. Simulation is an essential technique in solving the most challenging problem – accounting for the ion-ion interactions and their interaction with analyzer electrodes. This problem is getting especially pronounced after transition to the high dynamic range mass spectrometry where the number of confined ions approaches millions and their mutual interaction is getting comparable to the interaction with external fields.

We used the 3-dimensional particle in cell method [2] to calculate the net field of the ion trap perturbed by the field from a large ion population and to integrate motion of individual charged particles. The effective electric field was calculated as a superposition of the analytic trapping field and ion fields calculated via the 3-dimensional Poisson equation. We examined the ion motion dynamics in a number of analyzer designs including the FT-ICR trap, orbital traps of different geometries, and cassinian traps. As a result, we described the phenomena limiting analytical characteristics of above mentioned methods and proposed design solutions increasing the performance of the corresponding mass-analysers.

[1]G. Vladimirov, CL. Hendrickson, GT. Blakney, AG. Marshall, R.M.A Heeren, E. Nikolaev, Fourier transform ion cyclotron resonance mass resolution and dynamic range limits calculated by computer

modeling of ion cloud motion // J. Am. Soc. Mass Spectrom. ,Volume 23, Number 2, 375-384, 2012

[2]A.Kharchenko, G.Vladimirov, R.M.A.Heeren, E.Nikolaev Performance of Orbitrap mass analyzer at various space charge and non-ideal field conditions: simulation approach // J. Am. Soc. Mass Spectrom., DOI 10.1007/s13361-011-0325-3, 2012

[3]Claus Koster, The concept of electrostatic non-orbital harmonic ion trapping // International journal of mass spectrometry, 287, 114-118, 2009

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БУФЕРА «Д-БРОЙ» ДЛЯ АНАЛИЗА ЙОДА В ПРОДУКТАХ И МОЧЕ

Щепоткина Ю.В.[1], **Фурсова А.В.**[1], **Шорин С.В.**[2], **Тихонов В.П.**[2], **Офицеров Е.Н.**[1]

[1]*РХТУ им. Д.И.Менделеева,*
Москва, Миусская площадь, д.9,
[2]*ОАО «ДИОД»*
Москва, Дербеневская ул., д. 11

Диагностика йодной недостаточности в продуктах питания и воде является региональной и по ряду причин не подлежит персонифицированию, что затрудняет лечение конкретного больного из-за отсутствия быстрой обратной связи. Проблема может быть решена при использовании йодселективных электродов (йсэ). При этом основным недостатком является использование готового буфера с малыми сроками хранения, транспортировка которого в зимнее время затруднена. Нами предложен состав буфера на основе твердых компонентов, приготовление которого возможно по мере необходимости в условиях лаборатории. Использование буфера обеспечивает линейность отклика йсэ Элит-281 в диапазоне 80-1000 мкг/л и позволяет осуществлять измерение концентрации йода в диапазоне 20-80 мкг/л (погрешность 28%), что существенно ниже рекомендованного ВОЗ содержания йода в моче. Нами найдены условия, при которых возможен индивидуальный контроль поступления и выведения йода с мочой, позволяющий наблюдать картину метаболизма йода в организме. При традиционном подходе наблюдается следующая картина выведения йода с мочой у конкретного больного (рис.1). В то же время при соблюдении некоторых условий можно наблюдать измененную картину (рис.2), на которой участок 1 соответствует рекомендованной диете, а участок 2 изменению концентрации йода в моче при приеме биологически активной добавки «ЙодАктив».

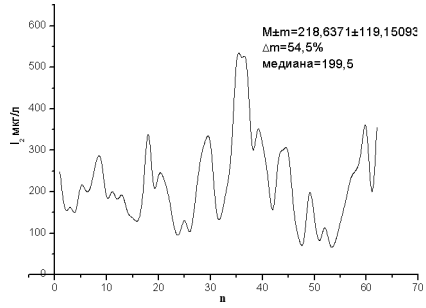


Рис. 1. Изменение концентрации йода при неконтролируемой диете (Пациент 25 лет. Гипертиреоз)

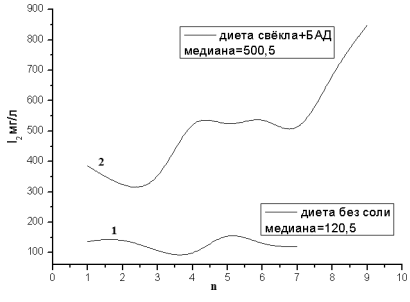


Рис.2. Изменение концентрации йода при контролируемой диете и влияние БАД «ЙодАктив» на содеожание йода

Определение йода проводилось с использованием лабораторного комплекса Микон-йод и

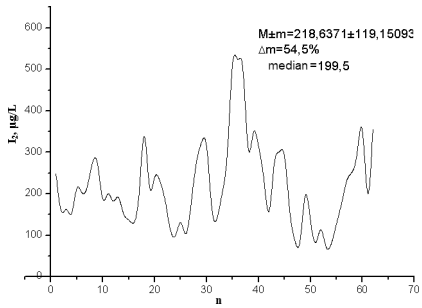
йсэ Элит-281 производства фирмы ЭкспертЭконикс (г. Москва).

THE EMPLOYMENT OF THE BUFFER "D-BROY" FOR THE MEASUREMENT OF IODINE CONTENT IN FOOD AND URINE

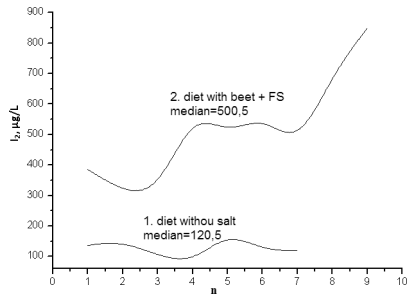
Schepotkina Yu.V.[1], Fursova A.V.[1], Shorin S.V.[2], Tihonov V.P.[2], Ofitserov E.N.[1]

[1]*D. Mendeleev MUCTR Moscow,*
Miusskaya sq. 9,
[2]*ОАО «ДИОД»*
Moscow, Derbenyovskaya str. 11

Diagnostics of iodine deficiency in food and water is regional and have some difficulties on the way of being personified. It makes a personal therapy very complicated because the efficient feedback is absent. The problem is solved by the method of analysis of iodine with iodine selective electrode (ISE). The use of ready form of the buffer which has a very short retention cycle and need special conditions for the transportation is a very important disadvantage of this method. We have proposed a new composition of the buffer on the basis of solid components which can be prepared in laboratory in case of need. The use of this buffer ensures the linearity of the response of ISE EL-281 in the range from 80 to 1000 μg/L and makes it possible to measure iodine concentration in the range from 20 to 80 μg/L (measurement uncertainty is 28%) which is much more lower then iodine content in urine recommended by the WHO. We are the first who found the conditions that make the personal control of the intake and elimination with urine of iodine possible. Due to this we can see the picture of iodine metabolism in the human body. Thus the traditional approach to measurement iodine content gives the diagram of iodine elimination with urine of a concrete patient on the Picture 1. At the same time the observance of some necessary conditions gives the different diagram (Picture 2). The section 1 on this diagram represents the results with the recommended diet and the section 2 represents the changes in iodine concentration in urine which occur when dietary supplements «IodActive» is taken.



Picture 1. The changes in iodine concentration in urine without recommended diet (Patient, 25 years old. Hyperthyrosis)



Picture 2. The changes in iodine content in urine with diet and the influence of diet supplement «IodActive» on it

The determination of iodine was carried out by means of laboratory set Meekon-Iod and iodine selective electrode EL-281 (ExpertEconics, Moscow).

ТЕХНОЛОГИИ ТРАНСФУЗИОЛОГИИ

Гудков А.Г., Леушин В.Ю.,
«НПИ Фирма «Гиперион»,
г. Москва, Кутузовский проспект, 34;
Лазаренко М.И.,
36-ая городская клиническая больница
Департамента Здравоохранения г. Москвы,
г. Москва, ул. Фортунатовская, д. 1.
Чечеткин А.В.,
профессор Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова,
г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6

Книга "Технологии трансфузиологии" представляет собой обширный научно-практический материал, широко охватывающий проблемные и базовые вопросы трансфузиологической службы. В книге обоснована необходимость и сформулированы научные принципы создания автономной самостоятельной трансфузиологической службы крупного многопрофильного лечебного учреждения. На основании обобщенного опыта работы представлена новая структура организации трансфузиологического обеспечения в многопрофильном лечебном учреждении, что позволит оптимизировать обеспечение пациентов высококачественными, вирусбезопасными компонентами крови. Подробно изложены принципы создания высокотехнологичного оборудования для нужд трансфузиологии. Также рассмотрены сравнительные характеристики, принципы работы, этапы разработки, конструирования, возникающие при этом проблемы, связанные с практической технической реализацией идей создания устройств для инактивирования вирусов, для стерильной обработки полимерных изделий, для герметизации полимерных контейнеров, для стерильного соединения магистралей из термопластичных материалов. Рассмотрены вопросы обеспечения точности процесса термообработки, размораживания криоконсервированных продуктов крови, комплексной технологической оптимизации при проектировании и производстве холодильного и теплового оборудования. изложены медико-технические особенности использования оборудования для заготовки, лабораторной апробации и хранения донорской крови и ее компонентов в учреждениях и подразделениях службы крови. Показаны возможности определения содержания гемоглобина в периферической крови доноров с помощью портативных анализаторов, использования автоматических гематологических анализаторов при обследовании активных (кадровых) доноров крови, выполнения экспресс–исследований у доноров на маркеры гемотрансмиссивных инфекций.

На основании анализа многолетнего опыта работы представлены оптимизированные методики замораживания и хранения эритроцитов при сверхнизкой температуре с использованием отечественных и зарубежных криоконтейнеров. Книга будет издана издательством «Сайнс-Пресс» в 2012 году.

TRANSFUSION TECHNOLOGIES

Gudkov A.G., Leushin V.Y., Lazarenko M.I., Chechetkin A.V.

The presented book "Transfusion technologies" contains the extensive scientific and practical material, broadly covering challenging and basic issues of transfusiology service. In the book the necessity is based and there are formulated scientific principles of establishing autonomous transfusiology service of a large diversified medical institution. On the base of the generalized experience there is described a new organizational structure of transfusiology provision that allows to optimize the

provision of high qualitative, the virus safe blood components. There are also detailed described the principles of high technology equipment for transfusiology service. The comparative characteristics, work principles, development phases, design, problems connected with the technical realization of devices for virus inactivation, sterile processing of polymeric items, devices for polymeric containers sealing, for sterile tubes connecting made of thermo plastic materials are also considered. The issues of precise thermo processing, defrosting of cryo preserved blood components, complex technological optimization in design and manufacturing cold storage and thermal equipment are also taken into consideration. The presented book contains also issues of medical and technical peculiarities of using equipment for purveyance, laboratory use and storage donor blood and its components in medical institutions or Blood Service departments. The possibilities of the hemoglobin content determination in peripheral donors' blood with the help of portable analyzers, the use of automatic hematologic analyzers while investigating active blood donors, the fulfillment of donors' express tests of hemo transmissible infections are shown.

On the base of the profound work experience the optimized methods of frosting and storing erythrocytes in terms of extremely low temperatures with the use of domestic and foreign cryo containers. The book will be issued in "Science Press" in 2012.

СЕКЦИЯ 8 «ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КЛАСТЕРЫ И РАЗВИТИЕ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ. ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНАЯ СОБСТВЕННОСТЬ» SECTION 8 “PHARMACEUTICALS AND THE DEVELOPMENT OF CLUSTERS OF PHARMACEUTICAL INDUSTRY. INTELLECTUAL PROPERTY“

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ ORAL REPORTS

СТАНДАРТИЗАЦИЯ ОБЩИХ МЕТОДОВ ФАРМАКОПЕЙНОГО АНАЛИЗА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Рудакова И.П.
НИИ фармации ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М.Сеченова Минздравсоцразвития РФ,117418 г. Москва, Нахимовский проспект, 45

Стандартизация лекарственных средств (ЛС) является основой обеспечения населения качественными, эффективными и безопасными ЛС. Однако, контроль качества ЛП может быть обеспечен только при условии наличия фармакопейных методик анализа ЛС. Государственная фармакопея РФ (ГФ) — основа отечественной системы стандартизации ЛС и инструмент реализации государственной политики в области качества ЛС. Государственным стандартом качества являются общие (ОФС) и частные фармакопейные статьи (ФС), составляющие основу ГФ. Основным направлением деятельности лаборатории фармакопеи, созданной в НИИ фармации в 2003 году, является проведение информационно-аналитических, экспериментальных исследований и разработка на их основе проектов ОФС. При разработке проектов ОФС осуществляется гармонизация фармакопейных методов и норм показателей с ведущими зарубежными фармакопеями. Однако, на современном этапе полного соответствия требований к качеству ЛС и методам их испытания невозможно достичь в силу особенностей отечественной фармацевтической промышленности. Процесс гармонизации очень сложный и длительный, о чем можно судить по разработке нормативной базы Европейского Союза и деятельности Фармакопейной дискуссионной группы, созданной в 1989 году, и объединяющей работу по гармонизации трех фармакопей – Европы, Соединенных Штатов и Японии, которой за 20 лет гармонизировано ~ 10% от общего количества общих фармакопейных статей. Всего за период 2003-2011 г.г для ГФ XII издания в лаборатории фармакопеи разработано более 60 проектов ОФС: — для 1й, 2й, 3 и 4й части, соответственно, по разделам: «Физические и физико-химические методы анализа», «Химические методы анализа», «Биологические методы контроля», «Общие методы анализа», «Общие статьи на лекарственные формы», «Методы анализа лекарственного растительного сырья и препаратов из лекарственного растительного сырья». 19 общих фармакопейных статей утверждены, остальные — на стадии согласования в ФГБУ НЦЭСМП. Впервые разработано 13 ОФС.

STANDARDIZATION OF COMMON METHODS OF ANALYSIS OF OFFICINAL MEDICINES

Rudakova I.P.
Institute of Pharmacy GBOU VPO first MGMU them. Sechenov
Health Ministry of Russian Federation,
Moscow, Nakhimovsky prospect, 45

The standardization of medicines (drugs) is the basis of providing the population with high-quality, effective and safe drugs. However, the quality control of the LP can be achieved only when there are the pharmacopoeial methods of analyzing drugs. State Pharmacopoeia of the Russian Federation (GF) — the basis of the national system of standardization of medicines and an instrument of state policy in the field of drug quality. State standard of quality are common (FFS) and private pharmacopoeial articles (FS), forming the basis of the GF. The main activity of the laboratory pharmacopoeia established in the Research Institute of Pharmacy in 2003, is an information-analytical and experimental research and development projects FFS on their base. In the development of the FFS project is carried out pharmacopoeial harmonization of methods and standards of performance with the leading foreign pharmacopoeias. However, at the present stage of full compliance with the quality requirements of drugs and their testing methods can not be achieved due to the peculiarities of the domestic pharmaceutical industry. Harmonization process is very complex and lengthy, as judged by the development of the regulatory framework of the European Union and of the Pharmacopoeial Discussion Group, established in 1989, and unifying the work on harmonization of the three pharmacopoeias — Europe, the United States and Japan, which for 20 years harmonized ~ 10% of total general pharmacopoeial article. During the period 2003-2011 for the GF XII edition of Pharmacopoeia Laboratory has developed over 60 projects in the FFS for: — 1st, 2nd, 3rd and 4th parts, respectively, in sections: “Physical and physico-chemical methods of analysis”, “Chemical methods of analysis “,” Biological control methods “,” General methods of analysis, “” Common questions on dosage forms, “” Methods of analysis of medicinal plants and drugs from medicinal plants. “ 19 common pharmacopoeia articles approved, the rest — under negotiation in FGBU NTSESMP. First developed 13 FFS.

РАЗРАБОТКА МЕТОДОЛОГИЧЕСКОГО ПОДХОДА К ОЦЕНКЕ БЕЗОПАСНОСТИ СОСТАВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Терёшкина О.И.
НИИ фармации ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М.Сеченова
Минздравсоцразвития РФ, 117418 г. Москва, Нахимовский проспект, 45

Широкий интерес к лекарственным растительным препаратам (ЛРП) обусловлен и высокой безопасностью их медицинского применения. Однако такие фармацевтические факторы как технология изготовления, вспомогательные вещества, а также иные экологические условия могут влиять на изменение профиля безопасности современных ЛРП.. Особенности медицинского применения ЛРП, в том числе в детском и пожилом возрасте, определяют высокий уровень оценки безопасности ЛРП. Необходимость гармонизированных требований и нормативов к ЛРП научно обоснована результатами их изучения, выполненного на современном уровне. На основании проведенных исследований рекомендаций и требований, включенных в фармакопеи, правовые и нормативно-методические документы не только по оценке безопасности ЛРП, но и пищевых продуктов и БАД на растительной основе, разработан методологический подход к оценке безопасности состава ЛРП. В соответствии с разработанным подходом оценка потенциального риска ЛРП должна базироваться на сумме научных знаний о возможных аспектах опасности каждого из компонентов их состава. В связи с особенностями состава ЛРП в разработанном

подходе учитываются не только общие, но и специфичные для данной группы лекарственных средств факторы риска их медицинского применения. Так, например, учтена возможность мутагенных и канцерогенных свойств биологически активных веществ, входящих в состав некоторых видов официнального лекарственного растительного сырья, предлагается научно обоснованный алгоритм нормирования таких контаминантов и остаточных загрязнителей как остаточные пестициды, радионуклиды, тяжелые металлы, мышьяк. При оценке безопасности состава ЛРП должен учитываться и потенциальный риск медицинского применения определенных вспомогательных веществ в составе лекарственных форм в зависимости от дозы и курса применения ЛРП, возраста и индивидуальной чувствительности пациента.

DEVELOPMENT METHODOLOGICAL APPROACH TO ASSESSING THE SAFETY OF THE MEDICINAL PLANT PREPARATIONS

Tereshkina O.I.
Institute of Pharmacy GBOU VPO first MGMU them. I.M.Sechenov
Health Ministry of Russian Federation, Moscow, Nakhimovsky prospect, 45

Broad interest to the medicinal plant preparations (MHP) due to high safety of their medical use. However, such factors as the pharmaceutical manufacturing process, excipients, and other environmental conditions may affect the change in the safety profile of modern due to MHP. Features medical use of MHP, including in childhood and old age, determine the high level of safety assessment of MHP . The need for harmonized requirements and standards for scientifically valid results MHP their study, carried out to date. Based on the studies of recommendations and requirements included in the pharmacopoeia, legal and regulatory guidance documents, not only for the safety assessment of MHP, but also food and plant-based dietary supplement, developed a methodological approach for assessing the safety of the MHP . In accordance with the approach developed by assessing the potential risk must be based on the MHP amount of scientific knowledge about the possible hazards of each component of their composition. Due to the nature of the MHP in the developed approach takes into account not only general but also specific to this group of drugs risk factors for their medical use. For example, take into account the possibility of mutagenic and carcinogenic properties of biologically active substances which are present in some species officinal medicinal plants, science-based algorithm is proposed valuation of such contaminants and residual contaminants like pesticide residues, radionuclides, heavy metals and arsenic. In assessing the safety of the MHP should be taken into account the potential risk of medical use of certain excipients in the dosage forms depending on the dose and rate of MHP, age and individual sensitivity of the patient.

ОЦЕНКА РИСКОВ ИНВЕСТИЦИЙ В БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЕКТЫ

Шпуров И.Ю.
ООО «НИИ Прикладной биологии»,
105118, г.Москва, ул. Буракова, д.27, корп.3

1. Ожидания и мотивации инвестиций в программы биотехнологий

1.1 . Социальный лифт

1.2. Личные ожидания от применения продуктов разработок

1.3. Надежды на значительный рост капитализации проекта или ожидания высоких доходов проекта

1.4. Модное паблисити — теперь модно быть инновационным, как раньше модно было быть крутым

2. Сравнение инноваций в области информационных технологии и в программах биологических исследований. Существует фундаментальное отличие между этими рынками. Первый — это инновации внутри искусственных языков (гаджеты, компьютеры и программы), и они не тождественны инновациям в технологии изменения реального мира, так как реальный мир, в отличие от социума, нельзя убедить согласиться использовать ваш продукт для желаемых изменений.

С точки зрения сегодняшнего научного знания вполне возможно убедить или уговорить социум измениться (силой мысли, доводов логики, воли и убеждения). Но реальный мир можно уговорить только до определенной степени (эффект «плацебо»). Примеров много. Один из самых ярких и показательных — неудачное вложение государств в пилотируемую космонавтику. Расходы совершенно не оправдались, так как текущая технология фундаментально не успевает за полетом нашей фантазии (печально было смотреть фильм «космическая одиссея 2001 года» в 2001 году). Хотя, конечно, нельзя отрицать и «коллективное убеждение» — ходьба по углям проще практикуется в группе.

3. Харизма и объективность в процессе научного поиска. Часты случаи подмены личной харизмой исследователя его научной компетентности. Надо отметить, что для оценок риска крайне важны объективные критерии компетентности: количество научных публикаций (возможно, индекс цитируемости).

4. Способы оценки рисков инвестиций в научные исследования. В оценке риска инвестиций в инновационные проекты и в оценке проектов должны участвовать следующие критерии:

4.1.1. *Психологическая оценка* личности разработчика (или группы разработчиков) как человека, обладающего взвешенным и адекватным взглядом на реальность, склонного к завершению начатых действий, способного к систематизации и анализу данных и т.д.

4.1.2. *Оценки успешности* разработчика в случае успеха и неуспеха его разработок.

4.1.3. *Количество публикаций* разработчика (общее и по теме проекта), его индекс цитируемости.

4.2.1.Оценка психологической компетентности топ-менеджера проекта и его команды, *оценка деловой компетентности команды* и ее членов, наличие эффективных социальных связей внутри команды

4.2.2. Оценка топ-менеджера-получателя инвестиций на *наличие опыта успешной реализации инновационных проектов* в прошлом.

4.2.3. *Оценка уровня отвлечения* менеджмента и разработчиков от анализируемого проекта на иные виды деятельности в ходе его реализации.

4.2.4. *Оценка уровня индивидуальной мотивации* участников проекта, их текущего уровня доходов, профессиональной и социальной стратификации и оценки их изменений в случае успеха проекта.

4.3. Необходима *оценка патентопригодности* разработки и возможных прав на нее со стороны третьих лиц (особенно важно со стороны бюджетных учреждений, где работали и получали заработную плату разработчики в момент публикации ключевых материалов).

4.4. *Соотношение инвестиций* в лабораторное оборудование для реализации проекта с размером затрат на исследования (фактически, это непроизводственные инвестиции) и учет возможности аутосорсинга анализа и услуг оборудования.

5. Подходы к классификации и стратификации венчурных инвестиционных проектов в биотехнологии, фармакологию и медицинские технологии. Необходимо определить текущее количество технологических платформ в биотехнологических исследованиях, их научные перспективы (сильные и слабые стороны), отнести исследуемый проект к той или иной

платформе, задать рейтинг реализуемости, что позволит стратифицировать проекты в целом по их теоретическим подходам.

6. Наличие фальсификаторов в проектах, как критерий управления рисками. Нужно отметить, что научный подход к проекту обязывает исследователя изначально указывать границы применимости его гипотезы и условия опытов, при которых он должен признать, что его посылки неверны. Отсутствие таковых границ и условий в изначальной гипотезе проекта, очевидно, снижает уровень добросовестности исследователя и повышает риск инвестиций в такой проект.

ИССЛЕДОВАНИЯ ЛАБОРАТОРИИ БИОТЕХНОЛОГИЙ АСТРАХАНСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА В ОБЛАСТИ ВЫДЕЛЕНИЯ И ИЗУЧЕНИЯ СВОЙСТВ БИОАКТИВНЫХ ПРИРОДНЫХ КОМПОНЕНТОВ ИЗ РАСТЕНИЙ АСТРАХАНСКОЙ ОБЛАСТИ

Сухенко Л.Т., Егоров М.А.
Астраханский государственный университет
414056, г. Астрахань, ул. Татищева 20а

Научная и производственная работа лаборатории биотехнологий Астраханского государственного университета и двух научно-производственных предприятий (ООО НПП «ГЛИЦИРФИТ» и ООО НПП «АСТКОСМЕТИКС»), размещенных на ее площадях и возглавляемых сотрудниками лаборатории, осуществляется на широко распространенных в Астраханской области дикорастущих и культивируемых растениях. Перспективными для выделения и изучения биокомпонентов и возможности их практического использования являются растения Астраханской области (семейства Asteraceae: тысячелистник мелкоцветковый Achillea micranta, цикорий Cichorium intybus L., девясил британский, одуванчик лекарственный и семейства Fabaceae: солодка голая, робиния ложноакация, верблюжья колючка, астрагалы). Это направление получило развитие в связи с изучением механизмов действия и физиологических свойств ценных компонентов выделенных из солодки — лектиноподобных белков (Сухенко, 2010). В комплексе с рядом других ценных биокомпонентов получены экстракты, обладающие выраженным противомикробным действием и, что особенно ценно противотуберкулезным и противолепрозным действием (Sukhenko, 2011). Поэтому особый интерес представляют исследования, осуществляемые на солодке голой, большие запасы которой в регионе и высокое содержание ценных природных биокомпонентов подтверждены комплексными многолетними научными работами коллектива и партнеров (Егоров, 2011; Сухенко 2011). В результате изучения противомикробной активности субстанций полученных разными способами фитокомпозиций в отношении культивируемых штаммов Mycobacterium tuberculosis $H_{37}Rv$ (Sukhenko, Egorov, 2011) был получен патент на изобретение «Экстракт солодки, обладающий противотуберкулезной активностью». В патенте «Способ получения экстракта, обладающего противолепрозной активностью» активные вещества солодки голой были использованы для оценки противолепрозного действия на экспериментальных животных, зараженных Mycobacterium leprae. Наш препарат — «фитокапли «ГЛИЦИРФИТ» наряду с известными препаратами пробиотического действия «Колибактерин» и «Лактусан», применяли при исследовании микрофлоры кишечника в эксперименте на крысах в качестве фитобиотика, который подавлял рост патогенной микрофлоры и вместе с препаратами-пробиотиками стимулировал рост нормальной кишечной микрофлоры. На основании запатентованного способа выделения активных компонентов из корня солодки голой получен препарат «Экстракт солодки «ГЛИЦИРФИТ». Данный препарат может применяться

в виде капель или добавок к пищевым продуктам диетического и диабетического питания. Препарат «экстракт солодки «ГЛИЦИРФИТ» входит в состав разработанной оригинальной рецептуры запатентованных косметических «фитобальзамов «ИНСОФИТ» для регенерации и защиты кожных покровов.

THE RESEARCH OF LABORATORY OF BIOTECHNOLOGIES OF ASTRAKHAN STATE UNIVERSITY IN THE FIELD OF THE EXTRACTION OF BIOACTIVE NATURAL AND PLANT COMPONENTS OF THE ASTRAKHAN REGION

L.T. Sukhenko, M.A. Egorov
Astrakhan State University
20a Tatishchev Street Astrakhan 414056

The scientific and production work of Laboratory of Biotechnology of Astrakhan State University with two scientific and production enterprises “GLITSIRFIT” and “ASTCOSMETICS” working on the basis of the laboratory and headed by the members of the laboratory staff is carried out on the wild and cultivated plants widely spread in the Astrakhan Region. Important place in the research is given to studying properties of biologically active substances extracted from the plants growing in the territory of the Astrakhan Region. (aster families (Asteraceae): Achillea micranta, chicory Cichorium intybus L., British inula, common dandelion and the pea families (Fabaceae): common licorice, locust, camel’s thorn, astragalus). This trend has been developed in order to study the mechanisms and physiological properties of the valuable components extracted from licorice – lektin proteins (Sukhenko, 2010). Together with several other valuable biological components, the extracts have a pronounced antimicrobial and antileprotic action that is particularly valuable (Sukhenko, 2011). Therefore, a research of licorice is of special scientific interest. Its large reserves in the region and a high content of valuable natural biological components are proved by a comprehensive long-term scientific work of the team and their partners (Egorov, 2011; Sukhenko 2011). A patent for the invention of «Licorice essence that has an anti-tuberculosis activity» was received due to the study of the antimicrobial activity of substances obtained by different phytocomposition methods for cultivated strains of Mycobacterium tuberculosis H37Rv. In the following patent «Method of obtaining the extract that has an antileprotic activity» active ingredients of the licorice were used for estimation of antileprotic action on experimental animals infected with Mycobacterium leprae. Our medical product «phytodrops «GLITSIRFIT» was used in the study of intestinal microflora in experimental rats as a phytobiotic that decreases the growth of pathogenic microorganisms and with probiotic medical products stimulated the growth of normal intestinal microflora along with well-known probiotic products such as «Kolibacterin» and «Laktusan» in Russia. A medical product «Licorice essence «GLITSIRFIT» was obtained on the base of the patented method of active components extraction from the licorice root. This medical product can be used in the form of drops or admixtures to drinks, juices, dairy products, dietetic and diabetic food additive. The medical product «Licorice essence «GLITSIRFIT» is a part of the original formula of cosmetic «phytobalms «INSOFIT» for skin regeneration and protection.

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

ВОПРОСЫ ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ ПРИ ОЦЕНКЕ НАУКОЕМКИХ ТЕХНОЛОГИЙ

Горлачева Е.Н., доц., Гудков А.Г., д.т.н, Омельченко И.Н., д.э.н., д.т.н.
МГТУ им. Н.Э. Баумана,
ул. 2-я Бауманская, 7

В условиях современной экономики конкурентные преимущества высокотехнологичных предприятий определяются не только наличием адекватной ресурсной базы и отлаженных процессов производства, снабжения и сбыта, но и возможностями создания стоимостных инноваций и их реализации потребителям в форме высокотехнологичной продукции.

В настоящее время объем продаж на мировом рынке наукоемкой продукции гражданского назначения составляет около 2 трлн. 300 млрд. долл. Доля РФ составляет всего 0,3%, что примерно в 100 раз меньше долей США и Японии.

Под нематериальными активами (НМА) понимаются результаты интеллектуальной деятельности предприятия, возникающие в процессе создания наукоемкой продукции. Основным сегментом рынка в инновационной экономике выступают права на охраняемые результаты интеллектуальной деятельности (в соответствии с 4-ой частью ГК РФ – интеллектуальные права). В российской практике результаты интеллектуальной собственности мало учитываются как по причине несовершенства нормативно-правовой базы, так и вследствие отсутствия опыта управления этим специфическим видом имущества предприятия.

Управление правами на объекты интеллектуальной собственности предполагает, закрепление прав на РИД: при этом закрепление прав на результаты научно-технической деятельности (РНТД) возможно через патентование, через установление режима коммерческой тайны для ноу-хау, не охраняемых патентом; постановку на баланс НМА, где сдерживающим моментом является непомерное налогообложение (необходима дифференциация налоговых ставок в отношении НМА и установлении срока налоговых платежей с начала получения доходов от включения этих активов в коммерческий оборот); включение в коммерческий оборот: лицензирование, выкуп патента и т.д.

Таким образом, результаты оценки НМА являются важными для анализа текущей деятельности высокотехнологичных предприятий, повышения эффективности использования технологий и других активов, а также для выработки общей стратегии развития предприятия.

INTELLECTUAL PROPERTY ISSUES IN THE EVALUATION OF SCIENCE INTENSIVE TECHNOLOGIES

Gorlacheva E.N., Gudkov A.G., Omelchenko I.N.,
Bauman Moscow State Technical University

In terms of modern economy the competitive advantages of high tech enterprises are determined not only by the presence of resources and efficient production, supply and distribution processes, but mostly by the possibility of creating valued innovations and their realization to customers in the form of high tech products.

Currently sales volume on the international market of high tech production averages about 2,5 billions dollars. The share of the Russian Federation is about 0.3% that is in 100 times less than the shares of the United States and Japan.

Under the intangible assets are understood the results of enterprise's R&D emerging in process of high tech production. The basic segment in intellectual economy is the rights on the intellectual property protected by law (in coincidence with the 4th part of the Russian Civil Code). In Russia the intellectual property results are merely taken into account because of imperfection of legal base and because of lack of experience in the sphere of this specific property management.

The management of intellectual property is proposed the assignment of rights on the intellectual property. This process is possible in different ways: by the mechanism of patenting, by the mechanism of commercial classified information, not protected by a patent; by the mechanism of account registration of intangible assets (where the constraint is the high rates of taxes); inclusion into commercial activity: licensing, patent redemption.

Thus the results of intangible assets are important for the economic analysis of a high tech enterprise, the increase of efficient technologies usage and other assets, and also for the development of the general strategy of an enterprise.

OPTIMISING HAIRY ROOT PRODUCTION IN ARTEMISIA ABSINTHIUM

Bahareh Hedayati, Ramin Hosseini and Nasrin Hedayati
Agricutural Biotechnology Department,
Imam Khomeini Internathional University, Qazvin, Iran

Abstract

Artemisia absinthium is an annual and aromatic plant containing the anti malaria, artemisinin. One method for increasing production level of artemisinin in this plant is the use of the hairy root system. To introduce hairy roots *in vitro* leaf discs of *A. absinthium* the effect of *Agrobacterium rhizogenes* (15834 and GMI534 strains), acetosyringon (at 0.0 and 50mM) and carbon source (sucrose, sorbitol, glucose each at 30mg/L) and the media free of a carbon source (as control) were studied. Results indicated that, the GMI534 strain was more predominant compared to strain 15834 in producing hairy root percentage (64.06%), the mean number of hairy roots (8.83) and the mean of hairy root length (4.95). Besides, to induce hairy roots, the presence of carbon source was necessary and compared to the other carbon sources. Glucose increased hairy root percentage up to 92%. Results also revealed that acetosyringon alone had not a significant effect on the above traits. However its interaction with strain was significant.

РАЗВИТИЕ СТРАТЕГИЧЕСКОГО МАРКЕТИНГА В ПРОИЗВОДСТВЕ И РЕАЛИЗАЦИИ БИОПРЕПАРАТОВ

Иванов А.А., Степанов В.И., Тремасов Ю.М., Валиуллин Л.Р.
ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»,
420075, РФ, Казань, Научный городок-2

При переходе государственной экономической системы из одних отношений в другие (от рыночной экономики к плановой и т.д.), неизменно происходят социально-экономические преобразования во всех сферах экономики. Перед современным биопромышленным производством в результате этих изменений возникают сложные проблемы, требующие научно-обоснованных решений. Наиболее сложными и специфичными они являются в производственной сфере.

Для производителя это не только угроза банкротства и потеря денег, но и утрата имени, круга потребителей и т.п. Неверно принятые маркетинговые решения в бизнесе наносят серьезный

ущерб коллективу, появляется недоверие к административным структурам, выражается недовольство, усиливается социальная напряженность в производстве. Однако основная тяжесть и самые серьезные проблемы связаны с кадровым потенциалом. Снижается уровень благосостояния, появляется неуверенность в потребности своих идей.

Более эффективную разработку стратегии биопромышленного предприятия надо проводить на основе исследований и прогнозирования конъюнктуры товарного рынка, изучения потребителей, конкурентов и других элементов рыночного хозяйства.

Одной из базовых теорий развития стратегического маркетинга является сегментация рынка по основным признакам:

Размеры (емкость) сегмента. Емкость сегмента может быть определена с помощью таких показателей, как общее количество изделий в натуральном выражении, которое будет, или реализуются за определенный период времени;

Таким образом, анализируя приведенные данные по разработке стратегии маркетинга для эффективного использования ресурса предприятия в биопромышленном производстве важно учесть соответствие избранного сегмента и целей предприятия.

DEVELOPMENT OF STRATEGIC MARKETING IN MANUFACTURE AND REALIZATION OF BIOLOGICAL PRODUCTS

Ivanov A.A., Stepanov V.I., Tremasov M.J., Valiullin L.R.
FGO"FCTRBS-ARRVI",
2-Nauchny gorodok, Kazan, Russian Federation 420075

At transition of the state economic system from one relations in others (from market economy to planned etc.), invariably there are social and economic transformations to all spheres of economy. Before modern bioindustrial production as a result of these changes there are the challenges demanding scientifically-proved decisions. The most difficult and specific they are in industrial sphere. Here consequences of incorrectly accepted decisions and the error price have multidirection character and extremely serious consequences.

For the manufacturer it not only threat of bankruptcy and loss of money, but also loss of a name, a circle of consumers, etc. incorrectly made marketing decisions in business cause a serious damage to collective, there is a mistrust to administrative structures, the discontent is shown, social intensity in manufacture amplifies. However the basic weight and the most serious problems are connected with personnel potential. The standard of well-being decreases, there is an uncertainty in requirement of the ideas.

Biomanufacture development in Russia has still spasmodic character and is accompanied by certain difficulties. It is connected with defective formation of the purposes, their achievement and the decision of problems of the enterprise-manufacturer for each separate goods, on each separate market for the certain period. The marketing strategy is formed with a view of realization of industrial-commercial activity in full conformity with a market situation and enterprise possibilities.

More effective working out of strategy of the bioindustrial enterprise should be spent on the basis of researches and forecasting of a conjuncture of the commodity market, studying of consumers, competitors and other elements of a market economy.

The sizes (capacity) of a segment. The segment capacity can be defined by means of such indicators as total of products in natural expression which will be or are realized for the certain period of time;

Thus, analyzing the cited data on a marketing strategy development for an effective utilization of a resource of the enterprise in bioindustrial production it is important to consider conformity of the selected segment and the enterprise purposes.

CALLOGENESIS IN ARTEMISIA ABSINTHIUM, THE EFFECT OF HORMONAL CONCENTRATION

Bita Ghasemi, Ramin Hosseini and Fateme Dehghan Nayeri
Agricutural Biotechnology Department, Imam Khomeini Internathional University, Qazvin, Iran

Abstract

Artemisia absinthium seeds were cultured in a complete randomized design with three replicates in media containing various amounts of NAA and BAP. Callus cultures were induced from leaf, stem and root explants. The effect of NAA (0, 0.1, 0.5 and 2 mg/L) and BAP (0, 0.5 and 2 mg/L) callogenesis, organogenesis and rhizogenesis were assessed. Results indicated that the presence of both BAP and NAA was necessary for adventitious shoot regeneration (ASR). The best regeneration occurred in the presence of 0.5 mg/L BAP and 0.1 mg/L NAA. Moreover, by increasing BAP and NAA concentrations, the ratio of ASR decreased significantly. The highest shoot regeneration (55%) obtained by using 0.1 mg/L NAA and 0.5 mgL BAP. The highest mean number of shoot regeneration (3.15) observed in the presence of 2 mg/L BAP and 0.1 mg/L NAA. In addition, the highest mean number of rooting (7.7) was observed when 2mg/L NAA was used.

КВАНТОВАЯ СТЕГАНОГРАФИЯ ДЛЯ ПРОЕКТИРОВАНИЯ КОМПОНЕНТОВ ИНФРАСТРУКТУРЫ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ КЛАСТЕРОВ

Раткин Л.С.
ООО «АРГМ», 119049,
г. Москва, Ленинский проспект, д. 4, стр. 1А

Автором разработан способ, позволяющий применять методы квантовой стеганографии при проектировании инфраструктурных компонентов, в т.ч., фармацевтических кластеров. На способ получен патент на изобретение РФ без соавторов. Согласно данным Федерального института промышленной собственности РФ, аналогами разработки признаны разработки ряда фирм, в т.ч., Sun Microsystems и Microsoft Corporation. У всех аналогичных разработок уровень релевантности “А”. Проведено зарубежное патентование разработки без соавторов.

QUANTUM STEGANOGRAPY FOR PROJECTING OF INFRASTRUCTURE COMPONENTS OF PHARMACEUTICAL CLUSTERS

Rathkeen L.S.
«ARGM»,
119049, Moscow, Leninskyi prospect, 4, bldg 1A

Author designed solution for projecting of infrastructure components with the help of quantum staganography. Solution was protected by Russian patent without coauthors. According the report of Federal institute of industrial property of Russian Federation, among analogies exists products of Sun Microsystems and Microsoft Corporation. All analogies have relevant level “A”. Solution was protected by foreign patent without coauthors.

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ДРОЖЖЕЙ PHAFFIA RHODOZYMA НА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ, ПРИГОТОВЛЕННОЙ ИЗ КОМПОНЕНТОВ БАРДЫ, И МОДЕЛЬНОЙ СРЕДЕ, АНАЛОГИЧНОЙ КИСЛОТНОМУ ГИДРОЛИЗАТУ ДРЕВЕСИНЫ

Захаров З.В., Мельникова Е.В., Герман Л.С.
Московский Государственный Университет Инженерной Экологии,
105066, г. Москва, ул. Старая Басманная, д. 21/4

Одним из перспективных направлений в решении проблемы несбалансированности корма сельскохозяйственных животных является добавление белково-витаминных добавок, основой которых может являться биомасса дрожжей Phaffia rhodozyma – продуцента каротиноида астаксантина.

Целью представленной работы явилась оптимизация питательной среды, приготовленной из компонентов барды, и модельной среды, аналогичной кислотному гидролизату древесины.

В первом случае произведена замена кукурузного экстракта на кислотный гидролизат биомассы спиртовых дрожжей. Источником углерода являлся ферментолизат крахмала. Для определения оптимальной степени гидролиза белка для продуцента астаксантина использовалось математическое планирование эксперимента – план второго порядка (эксперимент для четырех факторов на четырех уровнях). Полученные результаты показали, что продуцент астаксантина способен употреблять в качестве органического азота гидролизаты спиртовой биомассы. При этом достаточно проводить гидролиз белка спиртовых дрожжей до пептидов, содержащих 3-5 аминокислот.

Во втором случае объектом исследования явилась модельная среда, аналогичная кислотному гидролизату древесины, содержащая ксилозу, арабинозу и глюкозу в качестве источника углерода. Источником органического азота являлся кукурузный экстракт. Эксперименты на колбах показали, что наибольший выход биомассы и астаксантина наблюдается при добавлении к смеси ксилозы и арабинозы 2% глюкозы.

Таким образом, полученные результаты могут являться предпосылкой для создания производства биомассы астаксантинсинтезирующих дрожжей Phaffia rhodozyma на основе отходов спиртового производства и отходов деревообрабатывающей промышленности.

YEAST PHAFFIA RHODOZYMA FERMENTATION USING DISTILLERY WASTE AND MODEL MEDIUM AS ANALOGUE OF ACID WOOD HYDROLYZATE

Zakharov Z.V., Melnikova E.V., German L.S.
Moscow State University of Environmental Engineering
105066, Moscow, Old Basmannaya str., 21/4

Protein-vitamin additives use in farming is one of the most perspective direction in unbalanced feed problem solution. Yeast Phaffia rhodozyma biomass – carotenoid astaxanthin producer – could be base of similar feed.

This study is directed to optimize nutrient medium contained distillery waste and model medium as analogue of acid wood hydrolyzate components.

First there was used distillers' yeast acid hydrolyzate as a source of growth factor. Starch fermentolyzate was a source of carbon. Optimal protein hydrolysis degree was detected by mathematic experimental design – experiment for four factors on four levels. Results showed that astaxanthin producer is able to utilize distillers' yeast hydrolyzate as source of organic nitrogen. Besides hydrolysis of distillers' yeast protein down to peptides, contained 3-5 amino acids, was proved to be enough.

In the second case there was used model medium as analogue of acid wood hydrolyzate contained xylose, arabinose and glucose. Maize extract was a source of organic nitrogen. The experiments in flasks showed that the largest biomass and astaxanthin yield was observed in 2% glucose presence in xylose and arabinose mixture.

Thereby results of the study could be precondition for foundation astaxanthin-synthesis yeast Phaffia rhodozyma biomass production on medium included ethanol production wastes and woodworking industry wastes.

СЕКЦИЯ 9 «НОВЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ В ТЕХНОЛОГИИ И АППАРАТУРНОМ ОФОРМЛЕНИИ В БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ» SECTION 9 "NEW DIRECTIONS IN THE TECHNOLOGY AND INSTRUMENTAL APPEARANCE IN BIOPHARMACEUTICAL PROCESS"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ ORAL REPORTS

ОСОБЕННОСТИ АППАРАТУРНОГО ОФОРМЛЕНИЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ РАЗЛИЧНЫХ БИООБЪЕКТОВ

Алексинцева О.А., Топкова О.В.
ГБОУ ВПО Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия, СПб, ул. Профессора Попова, д.14

Основной стадией производства микробиологических препаратов является культивирование продуцентов в биореакторах, обеспечивающих синтез субстанции. Известны различные конструкции отечественных и зарубежных биореакторов, которые группируются по конструктивным признакам, способам подвода энергии, перемешивания, аэрации и т.д.

Особую значимость для процессов биосинтеза имеют системы термостабилизации и аэрации в биореакторах. Инновационные разработки в этом направлении привели к созданию новых типов высокоэффективных систем охлаждения и термостабилизации, основанных на применении теплообменных аппаратов с фазовыми переходами.

Эффективность массообменных процессов напрямую зависит от конструкции аэрирующих устройств и гидродинамической обстановки в биореакторе. Работы по увеличению массообменных характеристик биореакторов позволили создать принципиально новый тип аэратора со вставками специального профиля, выполненного на базе патентов А.Д.Корнеева. Данное устройство превосходит по массообменным характеристикам отечественные и зарубежные аналоги.

Клетки животных отличаются большей, по сравнению с микроорганизмами, чувствительностью к механическому повреждению. Это оказывает влияние на конструкцию биореакторов, в особенности системы перемешивания и аэрации, которые при работе не должны создавать стрессовых условий для культуры.

Компания Bioengineering предлагает большой ассортимент реакторов для обеспечения наилучших условий культивирования различных типов клеток – клеточный ферментер – биореактор с лопастной мешалкой морского типа; эрлифтный ферментер; биореактор с взвешенной и фиксированной твердой фазой.

PARTICULAR HARDWARE DESIGN OF CULTIVATION OF VARIOUS BIOLOGICAL OBJECTS

Aleksinceva O.A., Topkova O.V.
SBI (State building institution) Saint-Petersburg Chemical-Pharmaceutical Academy, SPb, Professor Popov street building 14

The main stage production of microbial agents is cultivation in bioreactors that provide a synthesis of substance. It is known a variety of domestic and foreign designs of bioreactors, which are grouped by constructive features, methods of energy supply, mixing, aeration, etc.

The special significance for the biosynthesis has the systems of thermostabilization and aeration in bioreactors. The innovation in this direction led to the creation of new types of high-temperature stabilization and cooling systems based on the use of heat exchangers with phase transitions.

The efficiency of mass transfer processes depends on the design of aerating device and hydrodynamic conditions in the bioreactor. The works to increase the mass transfer characteristics of the bioreactor allowed to create a fundamentally new type of aerator with inserts of a special profile, performed on the basis of patents, A.D. Korneev. This device is superior to mass-transfer characteristics of domestic and foreign analogues.

Animal cells are more sensitive to mechanical damage as compared to micro-organisms. This has an impact on the design of bioreactors, in particular the mixing and aeration systems, which should not create stressful conditions for culture at work.

The company Bioengineering offers a wide range of reactors that provide the best conditions for cultivation of different types of cells — cellular fermenter — bioreactor with a marine type paddle stirrer, air lift fermenter, bioreactor with suspended and fixed solid phase.

АКТУАЛЬНЫЕ РЕШЕНИЯ В ТЕХНОЛОГИИ И АППАРАТУРНОМ ОФОРМЛЕНИИ ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК ЭУКАРИОТ В БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ

Дмитриенко Д.В.
Диаэм, 127299, г. Москва, а/я 100

1. « Biolevitator “, Hamilton (Швейцария) — культивирование адгезивных клеток в 3Д на магнитных микроносителях.
2. “Multitron Cell”, Infors (Швейцария) — один аппарат для культивирования суспензионных клеток эукариот в пробирках, чашках, флаконах, колбах и пластиковых мешках.
3. “Hyperflask”, Corning (США) — площадь роста адгезивных клеток в гиперфлаконе до 6 м^2 . формата А4.

NEW INSTRUMENTS AND INNOVATIVE SOLUTIONS FOR OPTIMIZATION OF EUKARYOTIC CELL CULTIVATION IN BIOPHARMACEUTICS PROCESSES

Dmitrienko D.V.
Dia-M, 127299, Moscow, p.b. 100

1. “Biolevitator”, Hamilton (Switzerland) — cultivation of adhesive eukaryotic cells in 3D on magnet microcarriers.

2. "Multitron Cell", Infors (Switzerland) — one instrument for cultivation of suspension eukaryotic cells in tubes, Petri dishes, flasks and plastc bags.

3. "Hyperflask", Corning (USA) — cultivation square for adhesive eukaryotic cells up to 6 m^2in A4 format.

ОБОРУДОВАНИЕ КОМПАНИИ MAJOR SCIENCE ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК

Дубинин Е.В.
ООО «Элемент»
620075, г. Екатеринбург,
ул. Бажова, 68

Компания **Major Science** (www.majorsci.com) – один из ведущих производителей биореакторов для выращивания культур клеток.

Биореакторы Winpact предназначены для культивирования клеток различного типа, включают стеклянный реакционный сосуд, в котором обеспечиваются оптимальные условия для выращивания клеточных культур, и управляющий модуль (контроллер).

В зависимости от задач предлагаются установки с емкостью от 3 до 20 л с различными способами термостатирования и перемешивания раствора.

По способу нагрева реакционного сосуда реакторы подразделяются на группы:

- нагреваемые от водяной рубашки (от внешнего термостата);
- с электрическим нагревом;

Расположенный в крышке сосуда электрический мотор обеспечивает непрерывное перемешивание раствора. Для выращивания клеток, чувствительных к механическим воздействиям (например, растительных) возможно применение эрлифтных реакторов, перемешивание в которых обеспечивается пузырьками газа, подаваемого в нижнюю часть реактора.

Помимо температурного режима, в сосуде автоматически контролируются и поддерживаются заданные программой значения pH, концентрации растворенного кислорода, уровень пены.

Контроллер содержит цветной графический дисплей «тачскрин», с которого ведется программирование параметров процесса, управление и мониторинг текущих значений. Кроме того, на управляющем блоке размещены четыре перистальтических насоса, которые в автоматическом режиме подают в реакционный сосуд закисляющий и защелчивающий растворы, пеногаситель, питательный раствор.

В России интересы Major Science представляет компания «Элемент» (www.element.ur.ru) которая является также официальным представителем нескольких ведущих производителей аналитического и биотехнологического оборудования.

CELL CULTIVATION TECHNOLOGY BY MAJOR SCIENCE

Evgeny Dubinin
"Element" company,
Bazhova st., 68, Ekaterinburg, 620075, Russia

Winpact is a product brand under Major Science (www.majorsci.com), an innovative, R&D-based manufacturer supplying a broad product portfolio to the life science market.

Fermentors are designed for different cell types cultivation, include a borosilicate glass vessel and a controller. There are reaction vessel types ranged from 3 to 20 l and divided into two groups according to heating method:

1. The thermostat system covers 3 kinds of vessel, including
- Double Jacketed Dish Bottom Vessel
- Single Wall Dish Bottom Vessel
- Air Lifter Vessel

2. The dry heating system covers 2 kinds of vessel, including
- Single Wall Dish Bottom Vessel with Heating Blanket
- Single Wall Plain Bottom Vessel with Heating Base Unit.

The system may include an electric motor for agitation or air-lifting design (for plant cells cultivation).

The fermenter optimizes cell growth process with programmable temperature, pH value, dissolved oxygen and foam level. The controller contains color touchscreen to set and control all the process parameters and four peristaltic pumps for acid, base, feeding solutions and antifoam agent.

"Element" company (www.element.ur.ru) is authorized distributor of Winpact bioreactors in Russian Federation.

АППАРАТУРНОЕ ОФОРМЛЕНИЕ ПРОЦЕССА НАНЕСЕНИЯ ПЛЕНОЧНЫХ ПОКРЫТИЙ НА ТВЕРДЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ФОРМЫ

Флисюк Е.В.
ГБОУ СПХФА,
197376, Санкт-Петербург,
ул. проф. Попова, 14., flissiyk@mail.ru

В производстве таблеток нанесение покрытий является заключительной технологической операцией, поэтому качество выпускаемых таблеток во многом зависит от организации этого процесса.

В процессе нанесения покрытия на поверхности твердой лекарственной формы формируется оболочка из материала покрытия заданной толщины, которая и обеспечивает защитные или пролонгированные функции. Учитывая, что толщина оболочки влияет на распадаемость и время высвобождения действующего вещества, то очень важным является обеспечение равномерности покрытия — то есть равномерности распределения материала покрытия по поверхности всех твердых лекарственных форм в пределах одной технологической партии. На современном фармацевтическом предприятии для нанесения покрытия на таблетки используются аппараты псевдоожиженного слоя и обволакивающие установки барабанного типа, так называемые "coaters". В данной работе

процесс нанесения покрытий на таблетки рассмотрен как сложный, комплексный процесс, сопровождающийся различными побочными явлениями. Сложность процесса нанесения покрытий состоит в том, что при протекании этого процесса возникают и такие побочные процессы, как истирание таблеток при прогреве слоя, образование дефектов на поверхности в результате соударения и унос материала покрытия в течение процесса. Кроме того, нанесение покрытий на таблетки совмещается с процессом сушки и, следовательно, сопровождается внешним тепломассопереносом. Таким образом, для получения высокого качества покрытия таблеток и определения оптимальных технологических параметров этот процесс необходимо изучать в комплексе, как единую систему, с учетом всех сопутствующих явлений и конструктивных особенностей используемой аппаратуры.

В настоящей работе приведены результаты теоретического и экспериментального исследования нанесения пленочных покрытий на таблетки, как в аппаратах с псевдоожиженным слоем, так и в аппаратах барабанного типа.

HARDWARE REGISTRATION OF PROCESS OF DRAWING OF FILM COVERINGS ON FIRM MEDICINAL FORMS

Flisjuk E.V.
St.-Petersburg State Chemical-Pharmaceutical Academy,
197376, St.-Petersburg, street prof. Popova, 14., flissiyk@mail.ru

Coating is final technological operation in the manufacturing the tablets, therefore the quality of tablets in many respects depends on the organization of this process.

During this process on a surface of tablets thick coating is formed which provides the protective or prolonged functions. Considering that thickness of coating influences on the tablet disintegration and time of evaluation of active substance from the tablet the maintenance of uniformity of a covering (it means the uniformity of distribution of a material of a covering on a tablet surface within one technological batch) is very important. In the modern pharmaceutical industry such tablet coating devices as fluid bed and enveloping installations of drum-type type (so-called "coaters") are used. In this work the process of tablet coating is considered to be a complex process, accompanied by various by-effects. Complexity of process of tablet coating consists of the fact that there are also such collateral processes as tablet's abrasion at drying up of fluid bed, appearance of defects on a surface as a result of impact and ablation of a material of a covering during the process. Besides tablet coating is combined with the process of drying and, hence, is accompanied by external heat-mass transport. Thus, to obtain tablet coatings of high quality and the optimum technological parameters of this process it is necessary to study this process in the complex, as uniform system, in the view of all accompanying phenomena and design features of the used equipment.

In the present work the results of theoretical and experimental research of tablet coating process, both in fluid bed and drum-type devices are shown.

МЕТОДЫ ИНТЕНСИФИКАЦИИ МАССООБМЕННЫХ ПРОЦЕССОВ В ГЕТЕРОФАЗНЫХ СРЕДАХ

Иванов Е.В.
ГБОУ ВПО Санкт-Петербургская химико-фармацевтическая академия,
197376, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14

В биофармацевтических процессах широко используются массообменные процессы в гетерофазных средах, которые характеризуются общим признаком – переносом распределяемого компонента через границу раздела фаз. Традиционные способы проведения гетерофазных процессов не всегда эффективны, т. к. не обеспечивают достаточную полноту выхода целевых компонентов, характеризуются высокой продолжительностью и непродуктивными затратами подведенной энергии.

В СПХФА проводятся экспериментальные и теоретические исследования, направленные на интенсификацию массообменных процессов в гетерофазных средах путем замены диффузионного механизма массопереноса через границу раздела фаз на диффузионно-конвективный механизм. Установлено, что применение планетарных аппаратов, методов вакуумного кипения при высоких температурных напорах и вакуумного осциллирующего кипения, метода дискретного перераспределения целевого компонента в объемах фаз и других методов позволяет значительно сократить продолжительность процессов, расходы энергии на их проведение и увеличить выходы целевых компонентов. К примеру, при экстрагировании растительного сырья в планетарном аппарате выход биологически активных веществ достигает 85% через 10 минут от начала процесса.

METHODS OF INTENSIFICATION OF MASS- TRANSFER PROCESSES IN HETEROPHASE MEDIA

Ivanov E.V.
Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical Academy,
14, Professor Popov., 14, Saint Petersburg, 197376

Mass-transfer processes in heterophase media are widely used in biopharmaceutical processes, and are characterized by a common feature, i.e. transfer of a distributive component through the phase interface. Traditional methods of performing heterophase processes are not always effective as they do not provide sufficient yield of target components, and are characterized by high duration and non-productive expenditure of supplied energy.

Experimental and theoretical investigations directed to intensification of mass-transfer processes in heterophase media by the substitution of the diffuse mass-transfer mechanism through the phase interface for the diffuse-convective mechanism are being carried on in Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical Academy. It has been found that the use of planetary apparatuses, methods of vacuum boiling at high temperature head and vacuum oscillating boiling, method of discrete redistribution of the target component in the volumes of phases, and other methods allows to significantly minimize the duration of the processes, energy expenditure for their performance, and to increase the yields of the target components. For example, in extracting plant raw material in planetary apparatus the yield of biologically active substances amounts to 85% in 10 minutes after the start of the process.

ВЫСОКОСШИТЫЙ ПОЛИДИВИНИЛБЕНЗОЛЬНЫЙ СОРБЕНТ В ВЭЖХ ДЛЯ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И КОНТРОЛЯ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

Хабаров В.Б.[1], **Буряк А.К.**[1], **Ермаков В.В.**[2]
[1]*Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН,*
119071 Москва ГСП-1, Ленинский проспект, 31, корп. 4.
E-mail: Khabarov@phyche.ac.ru;
[2]*Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского,*
119991 , Москва, ул. Косыгина, 19

При анализе методом ВЭЖХ реакционных соединений предъявляется ряд требований к конструкции насосов, инжектору, креплению кварцевой кюветы детекторов, что связано с необходимостью отсутствия контакта реакционноспособных соединений и элюента с металлическими поверхностями хроматографического тракта. Использование прибора с хроматографическим трактом в безметаллическом исполнении [1-3], УФ и рефрактометрического детекторов с жидкостным трактом из фторопласта [4] и высокоэффективных колонок из стекла или полимера (150 х 3 мм) с ВПДВБ-сорбентом (фр. 5 и 10 мкм), приготовленные в соответствии с [5], позволяют определять:

Молекулярно-массовое распределение (ММР) полимерных молекул хитозана и содержания хитозан-хитина и хитозан-белкового комплекса в хитозане для контроля технологического процесса производства хитозана [1, 2, 6];

ММР олигомеров этоксисилоксанов в гидролизованном этилсиликате для контроля производства керамических форм для точного литья металлов по выплавляемым моделям [3, 7];

ММР полимеров кремниевой кислоты в геотермальных водных растворах [1, 8];

Биомаркеры (белки металлотионеины, МТ) в плазме крови человека и животных для оценки территорий загрязнения тяжёлыми металлами [5, 9].

Применение высокоэффективных колонок с ВПДВБ-сорбентом позволяет достичь:

– элюирования из колонки в водном растворе уксусной кислоты (4, 6%) полимерных молекул хитозана и хитозан-хитина, протекающего в режиме критической ВЭЖХ по эксклюзионному и смешанному сорбционно-эксклюзионному механизму, а полимеров декстрана с ММ 0,504-2000 кДа – по эксклюзионному механизму [10];

– элюирования из колонки в абсолютном этаноле олигомеров этоксисилоксанов в режиме критической ВЭЖХ по эксклюзионному механизму [3, 4];

– элюирования из колонки в дистиллированной воде поликремниевой кислоты, протекающего по эксклюзионному, а мономерной кремниевой кислоты – по сорбционному механизму [5];

– элюирования из колонки в водном растворе ацетонитрила (80%) гидратированных молекул сульфата натрия по смешанному сорбционно-эксклюзионному механизму [5];

– элюирования из колонки в 35% этаноле и 0,05 М фосфатном буфере (pH=6,5) SH-содержащих соединений (МТ плазмы крови) в форме флюоресцирующих комплексов после реакции с N-(9-акридинил)малеимидом, протекающего по сорбционному механизму [5, 9].

Литература

1. Хабаров В.Б., Пронин А.Я., Буряк А.К., Самуйленко А.Я.Возможности молекулярного химического анализа методом ВЭЖХ при использовании полимерного сорбента на основе высокосшитого полидивинилбензола // ДАН, 2009. Т. 427. № 1. С. 57-60.

2. Хабаров В.Б., Пронин А.Я., Буряк А.К.Исследование хитозана и примесных соединений методом ВЭЖХ при использовании хроматографического тракта жидкостного хроматографа в металлическом и безметаллическом исполнении // Сорбционные и хроматографические процессы. 2011. Т. 11. Вып. 3. С. 292-298.

3. Хабаров В.Б., Пронин А.Я., Буряк А.К., Оспенникова О.Г., Пикулина Л.В.Молекулярный химический анализ методом ВЭЖХ олигомеров этоксисилоксанов, получаемых при кислотном гидролизе этилсиликата // ДАН, 2009. Т. 429. № 4 . С. 1-4.

4. Пат. РФ № 2362143. МПК^7 G01N 21/05. Бюл. 2009. № 20. **5. Пат. РФ** № 2278379. МПК^7 G01N 30/56. Бюл. 2006. № 17. **6. Пат.** РФ № 2295127. МПК^7 G01N 30/02. Бюл. 2007. № 7. **7. Пат. РФ** № 2296645. МПК^7 B22C 1/20. Бюл. 2007. № 10. **8. Пат. РФ** № 2330280. МПК^7 G01N 30/26. Бюл. 2008. № 21.

9. Ермаков В.В., Хабаров В.Б.Применение ВЭЖХ-НАМ спектрофлуориметрии для определения металлотионеинов// Питание и обмен веществ, 2008. Вып. 3. Минск: «Белорусская наука». С. 42-53.

10. Хабаров В.Б., Пронин А.Я., Пыцкий И.С., Буряк А.К.Механизм разделения полимерных молекул хитозана и хитозан-хитина методом ВЭЖХ на колонке с высокосшитым ПДВБ-сорбебнтом // Сб. XIII Международной конференции «Физико-химические основы ионообменных и хроматографических процессов». Воронеж, 16-22 октября 2011. Воронеж. Изд. «Научная книга», 2011, с. 159-161.

HIGH-MENDED POLYDIVINYLBENZENE SORBENT IN HPLC FOR RESEARCH AND CONTROL OF TECHNOLOGICAL PROCESSES

Khabarov V.B.[1], **Buriak A.K.**[1], **Ermakov V.V.**[2]
[1]*A.N. Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry of Russian Academy of Sciences, 119071 Moscow GSP-1, Leninsky Prospect 31, Bldg. 4.*
E-mail: Khabarov@phyche.ac.ru
[2]*V.I. Vernadsky Institute of Geochemistry and Analytical Chemistry, Moscow 119991, Kosigin Str., 19*

In the analysis by HPLC of reaction of compounds presented a number of requirements for the design of pumps, injector, fastening a quartz cell of detector, due to the lack of need to contact the reactive compounds and an eluent with metal surfaces of chromatographic tract of chromatograph. Using the device with metal-free chromatographic tract in performance [1-3], UV and refractometric detectors with liquid teflon tract [4] and high columns made of glass or polymer (150 x 3 mm) with VPDVB-sorbent (fr. 5 and 10 microns) prepared in accordance with [5], allows to determine:

Molecular weight distribution (MWD) of polymer molecules of chitosan and chitosan-content of chitin and chitosan-protein complex in chitosan for control of the process of production of chitosan [1, 2, 6];

MMP of oligomers of etoxysilocsanes in hydrolyzed ethyl silicate to control the production of ceramic molds for metal casting precision investment casting [3, 7];

MWD polymers of silicic acid in the geothermal water solutions [1, 8];

Biomarkers (proteins – metallothioneins, MT) in the blood plasma of humans and animals to assess the areas of contamination by heavy metals [5, 9].

The use of high-performance columns with VPDVB-sorbent can achieve:

- elution from the column in an aqueous solution of acetic acid (4.6 per cent) of polymer molecules of chitosan and chitosan-chitin, which takes place in the critical regime of exclusion HPLC and the mixed sorption mechanism of exclusion, and dextran polymers with MM 0.504-2000 kDa – by size exclusion mechanism [10];

- elution from the column with distilled water polysilicic acid flowing through the exclusion and the monomeric silicic acid — on sorption mechanism [5];

- elution from the column in an aqueous solution of acetonitrile (80 per cent) of hydrated molecules of sodium sulphate in the mixed sorption mechanism of exclusion [5];

- elution from the column in 35 per cent ethanol and 0.05 M phosphate buffer (pH = 6.5) SH-containing compounds (MT of blood plasma) to form fluorescent complexes after reaction with N-(9-acridinyl) maleimides flowing through the sorption mechanism [5, 9].

References

1. Khabarov V.B., Pronin A.Ja., Buriak A.K., Samuylenko A.J.Features of the molecular chemical analysis by HPLC using a polymeric sorbent on basic of high-mended polydivinylbenzene// DAN, 2009. Vol. 427. No. 1. P. 57-60.

2. Khabarov V.B., Pronin A.J., Buriak A.K.The study of chitosan and trace compounds by HPLC using the chromatographic path liquid chromatography in metal and metal-free performance// Sorption and chromat. processes. 2011.Vol. 11. No. 3. P. 292-298.

3. Khabarov V.B., Pronin A.J., Buriak A.K., Ospennikova O.G., Pikulina L.V.Molecular chemical analysis by HPLC the oligomers of etoxysilocsanes obtained by acid hydrolysis of ethyl silicate// DAN, 2009. Vol. 429. No. 4. P. 1-4.

4. Pat. The RF No. 2362143. MPK[7] G01N 21/05. Bull. 2009. No. 20. **5.** Pat. The RF No. 2278379. MPK[7] G01N 30/56. Bull. 2006. No.17. **6**. Pat. The RF No. 2295127. MPK[7] G01N 30/02. Bull. 2007.

No. 7. **7**. Pat. The RF No. 2296645. MPK[7] B22C 1/20. Bull. 2007. No.10. **8**. Pat. The RF No. 2330280. MPK[7] G01N 30/26. Bull. 2008. No. 21.

9. Ermakov V.V., Khabarov V.B.Application of HPLC-NAM spectrofluorimetry for the determination of metallothioneins// Nutrition and Metabolism, 2008. No. 3. Minsk: "Belarusian Science". P. 42-53.

10. Khabarov V.B., Pronin A.J., Pytsky I.S., Buriak A.K.The mechanism of separation of polymer molecules of chitosan and chitosan-chitin by HPLC on a column of high-mended PDVB-sorbent// Proc. of XIII International Conference "Physico-chemical principles of ion exchange and chromatographic processes." Voronezh, October 16-22, 2011. Voronezh:Science Book, 2011. P.159-161.

ЭНЕРГОЭФФЕКТИВНОСТЬ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ОБОРУДОВАНИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ – НОВЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И МЕТОДЫ РЕШЕНИЯ

Кудряшов В.К., Черемухин В.В., Зиновьев М.А., Уграицкий А.А.
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. Разработка отечественных аппаратных и программных средств реализации новых биотехнологических процессов, причем с учетом затрат энергоресурсов на выпуск единицы продукции, необходимое условие создания в России новой конкурентоспособной биотехнологии.

В связи с развитием практической биотехнологии вопросы обеспечения энергоэффективности биотехнологического оборудования и процессов, разработки и внедрения методик оценки их энергоэффективности представляют актуальную задачу, до настоящего времени этому показателю не уделяется должного внимания. В то же время, биотехнологические производства, построенные в СССР, оказались неконкурентоспособными во многом из-за повышенного потребления энергоресурсов. Существенным фактором является то, что энергоэффективность биотехнологического оборудования и процессов в значительной степени зависит от инфраструктуры зданий и производственных помещений и поэтому представляет собой сложную в общем случае междисциплинарную задачу управления производственным объектом. Для биотехнологических производств не существует на сегодняшний день даже постановки задачи обеспечения энергоэффективности основного биотехнологического процесса, имеющего свои существенные характеристические признаки, отличающие его от всех других производственных процессов.

В докладе приведены результаты анализа патентных материалов и публикаций по проблеме энергоэффективности биотехнологического оборудования и биотехнологических производств и рассмотрены основные источники потерь энергоресурсов в биотехнологических процессах и оборудовании, обусловленные с построением систем аэрации и стерилизации.

Разработка энергоэффективного оборудования и методик оценки энергопотерь на всех стадиях биотехнологического производства позволяет предложить биотехнологическое оборудование с новыми характеристическими параметрами, а также методику оценки энергоэффективности технологических процессов и производств.

ENERGY EFFECTIVENESS OF BIOLOGICAL EQUIPMENT AND OF BIOTECHNOLOGY PROCESSES: NEW CHARACTERISTICS AND METHODS TO IMPLEMENT THEM

Kudryashov V.K., Cheremuchin V.V., Zinoviev M.A., Ugraitskiy A.A.
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.

For setting up new efficient biotechnology facilities to manufacture foodstuffs, pharmaceuticals and chemicals, modern biotechnological equipment is needed. Development of national hardware and software to implement new biotechnological processes with power consumption per unit of production taken into consideration is the necessary condition for building up new competitive biotechnology in Russia.

While setting up practical biotechnology, the problems of providing energy effectiveness for biotechnology equipment and processes, for design and introduction of methods to evaluate their energy efficiency represent a timely task that did not get due attention to be paid to. At the same time, the biotechnology manufacturing facilities built under USSR became noncompetitive, mainly due to high power consumption. An important aspect is the fact that energy effectiveness of biotechnological equipment and processes highly depends on infrastructure of buildings and production rooms, which therefore generally represents a complex task of interbranch management of a production site. Today, no problem definition exists for biotechnology production facilities in order to provide power effectiveness of the main biotechnology process having its important characteristics distinguishing it from all other production processes.

The present report describes the results of a revue of patent materials and publications regarding with the problem of energy effectiveness of biotechnology equipment and manufacturing facilities, and examines the main sources of power losses in biotechnological processes and production facilities, resulting from the structure of aeration and sterilization systems.

Development of energy effective equipment and of methods for evaluating power losses at all the phases of biotechnological production facilities enables to offer biotechnological equipment with new characteristics as well as methods of evaluating energy effectiveness of technological processes and production facilities.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДОВ ПРЕПАРАТИВНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ В БИОТЕХНОЛОГИИ

Писарев О.А.
Институт высокомолекулярных соединений РАН,
Россия, г.С.- Петербург, 199004, В.О., Большой пр. 31

В силу своей технологической гибкости препаративная хроматография на сорбентах различной структуры стала в настоящее время наиболее эффективным методом выделения и очистки биологически активных веществ (БАВ). Высокоочищенные субстанции БАВ, удовлетворяющие современным фармакопейным требованиям, крайне необходимы для нужд фармацевтической промышленности, а также биотехнологии и её смежных областей.

В докладе рассмотрены структура и свойства новых типов селективных полимерных сорбентов, синтезированных в ИВС РАН посредством осадительной радикальной сополимеризации карбоновых кислот и различных поливинильных сшивающих агентов, а также использование этих сорбентов для осуществления эффективных процессов препаративной хроматографии

БАВ при низком давлении. Проведен анализ методов постадийного контроля и контроля качества конечных продуктов.

Разработан двухстадийный хроматографический метод осуществления препаративных процессов, который позволяет резко повысить степень содержания основного вещества в конечных препаратах. Этим методом в высокоочищенном состоянии получены субстанции антрациклиновых противоопухолевых антибиотиков рубомицина, доксорубицина, карминомицина

Органический анион — антибактериальный антибиотик фузидиевая кислота очищен методом коионно-гидрофобной хроматографии, где образование резких границ хроматографических зон определяется более быстрой кинетикой гетерогенного массообмена коионов по сравнению с противоионами.

При использовании кинетического эффекта селективности сорбции разработаны способы получения компонентов пчелиного яда – мелиттина, фосфолипазы A_2, антибактериальных антибиотиков эремомицина и эритромицина. Показано, что эффект кинетической селективности сорбции позволяет существенно повысить (по сравнению с традиционными методами препаративной хроматографии) как скорость, так и фактор разделения веществ.

USING OF MODERN PREPARATIVE CHROMATOGRAPHY METHODS IN BIOTECHNOLOGY

Pisarev O.A.
Institute of Macromolecular Compounds RAS ,
Russia, St.-Petersburg, 199004, V.O., Bolshoi pr. 31

Because their technological flexibility preparative chromatography on sorbents of various structure become in the present time the most effective method of isolation, purification and of biologically active substances (BAS). Highpurified substances

of BAS are very necessary for for pharmaceutical industry and biotechnology and their adjacent fields.

The report deals with the structure and properties of highly selective crosslinked polymeric sorbents synthesized mainly by radical copolymerization of acrylic acids and various polyvinyl crosslinking agents and with the application of these polymeric sorbents for low – pressure effective preparative chromatography of biologically active substances. The analysis of methods of phasic control and quality assurance of finished products is carried out.

The two-stage chromatographic method of preparative processes realization, which permit the degree of content of basis substance in final products, was elaborated. By this method and by the method of frontal-displacement chromatography in super state antitumor antibiotics rubomycin, doxorubicin, carminomycin were obtained.

Organic anion – fusidic acid – was purified from the native solution by the method of coion-hydrophobic chromatography when the formation of sharp boundaries was determined by the more rapid kinetics of coions sorption in comparison with counterions.

By using of kinetic selectivity effect the methods of purification of bee venom components (melittin, phospholipase A2), antibacterial antibiotics erythromycin and eremomycin was elaborated. The effect of kinetic selectivity allow essentially to increase (with comparison of traditional methods of preparative chromatography) the velocity and effectivity of substances separation.

УНИВЕРСАЛЬНЫЕ ЭРЛИФТНО-ВИХРЕВЫЕ БИОРЕАКТОРЫ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК, МИКРООРГАНИЗМОВ И ВЕДЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

Рамазанов Ю.А.
ООО «Центр вихревых технологий»
НСО р.п. Кольцово, Технопарковая д.1,
y.ramazanov@rambler.ru; www.algaereactor.ru

В настоящее время объемы производства вакцин и других лекарственных препаратов, их стоимость и качество не отвечают потребностям страны. Этим определяется острая необходимость создания новых технологий и эффективных аппаратов для биофармацевтических процессов.

Авторами вихревого способа перемешивания-специалистами ООО «Центр вихревых технологий» созданы вихревые биореакторы нового поколения. В них конструктивно реализована возможность использования двух способов перемешивания — :эрлифтного и вихревого, как раздельно, так и одновременно. Это позволяет успешно вести процессы как с особо чувствительными клетками, так и с микроорганизмами, являющимися активными аэробами, при этом уйдя от проблем с каплеотрывом и большим уносом культуральной жидкости, имевшим место в предыдущих аппаратах.

Вихревые биореакторы нового поколения позволяют полностью заменить дорогостоящие и трудоемкие роллерные, «яичные», «матрасные» технологии производства лекарственной продукции (вакцин и т.д.) при этом значительно снизить ее себестоимость и обеспечить соответствие требованиям GMP.

Отсутствие мешалки, погруженной в жидкость, определяет эффективность использования вихревых биореакторов также при проведении процессов культивирования с использованием носителей, а деликатность перемешивания без «вбивания» тепла в жидкость его успешность при производстве кровезаменителей.

Различные модификации эрлифтно-вихревого биореактора нового поколения применяются и могут быть применены при производстве лекарственных препаратов с использованием практически любых типов клеток и микроорганизмов, а также в процессах биокатализа.

Контролируемая гидродинамика восходящего потока жидкости в аппарате позволила создать вихревой аквареактор для выращивания микроводорослей.

Получение лекарственных препаратов с использованием культивируемых микроводорослей и растительных клеток является весьма перспективным направлением.

В вихревых биореакторах нового поколения возможна также препаративная наработка стволовых и других аутологичных клеток. Начаты эксперименты по выращивания из них в вихревом биореакторе трехмерных биообъектов для нужд трансплантологии и тканевой инженерии,

Оснащение научно-исследовательских институтов и учреждений, промышленных фармацевтических и биотехнологических предприятий универсальными вихревыми биореакторами нового поколения позволяет расширить спектр решаемых задач, создавать и внедрять в промышленность новые разработки, повысить технологичность, безопасность производства, расширить номенклатуру выпускаемой лекарственной и другой продукции, значительно снизить ее себестоимость.

Широкое внедрение эрлифтно-вихревых биореакторов нового поколения является перспективным направлением в аппаратурном оформлении биофармацевтических процессов.

UNIVERSAL AIRLIFT VORTEX BIOREACTORS OF THE NEW GENERATION FOR CELL AND MICROORGANISM CULTIVATION AND CARRYING OUT VARIOUS BIOTECHNOLOGICAL PROCESSES

Ramazanov Y.A.
"Vortex technologies Ltd"
1 Tekhnoparkovaya Str., Koltsovo, 630559
y.ramazanov@rambler.ru www.algaereactor.ru

At present, the volumes of production of vaccines and other medical preparations, their cost and quality do not meet the country's needs. This determines the critical need for new technologies and effective devices for biopharmaceutical processes.

The authors of the vortex mixing method, specialists of "Vortex technologies Ltd", created vortex bioreactors of a new generation constructively implementing the possibility of two mixing methods (airlift and vortex ones) being used both separately and simultaneously. This allows us to successfully carry out processes with both highly sensitive cells and active aerobic microorganisms avoiding the problems of the droplet breakup and large carryover of culture fluid that occurred in earlier models.

The new generation vortex bioreactors can completely replace expensive and time-consuming roller, "egg", "mattress" technologies to manufacture medical products (vaccines, etc.) while significantly reducing production costs and ensuring compliance with GMP requirements. The absence of a stirrer immersed in the liquid also determines the effectiveness of vortex bioreactors at cultivation processes using carriers, and delicate mixing without "hammering" of heat into the liquid determines its success in the production of blood substitutes.

Various modifications of the airlift vortex bioreactor of the new generation are and can be employed to manufacture medical preparations using practically any type of cells and microorganisms as well as in biocatalytic processes. The controlled hydrodynamics of an upward liquid flow in the device allowed us to create a vortex aquareactor for microalgae cultivation.

Production of medical preparations using cultivated microalgae and plant cells is a very promising trend. Preparative production of stem cells and other autologous cells in vortex bioreactors of the new generation is also possible. Experiments on growing three-dimensional biological objects from these cells in a vortex bioreactor have been started to meet the needs of transplantation and tissue engineering.

Equipping research institutes and centers, industrial pharmaceutical and biotechnology companies with universal vortex bioreactors of the new generation would expand the range of the tasks solved, allow new developments to be implemented and introduced into industry, manufacturability and production safety to be improved, the range of manufactured pharmaceuticals and other products to be extended and their costs to be significantly reduced. Widespread introduction of airlift vortex bioreactors of the new generation is promising for the hardware design of biopharmaceutical processes.

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ФИЛЬТРАЦИИ ЖИДКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ В СОВРЕМЕННОЙ БИОФАРМАЦЕВТИКЕ

Савельев С.П.,
ЗАО «ВЛАДИСАРТ»

Сегодня, ни одно предприятие фармбиоиндустрии, производящее жидкие лекарственные формы, не может обойтись без фильтрации данных продуктов, независимо от того, какой метод фильтрации применяют: микро- или ультрафильтрацию.

При создании новых предприятий в технологии уже заложена система фильтрации на разных стадиях получения продукта. Что же касается старых предприятий, то здесь вопрос о применении фильтрации решается довольно сложно и медленно. Сложность заключается в том, что необходимо менять технологические регламенты. В следствии этого требуется подбор системы фильтрации, которая бы удовлетворяла технологическим требованиям. Система фильтрации должна органично вписываться в технологическую цепочку получения того или иного препарата.

Временной фактор связан с тем, что создание фармацевтических производств, отвечающих требованиям GMP, в первую очередь сводят к созданию чистых помещений, а технологическое оборудование подвергается обновлению по остаточному принципу или частично. Если говорить о системах фильтрации, то этот вопрос решается в общей части непрофессионально, а иногда просто безграмотно.

Какие же требования должны предъявлять сегодня к системам фильтрации в фармацевтических производствах:

1. Правильный подбор фильтрационного оборудования и фильтрующих элементов, которые должны обеспечивать получение продукта соответствующего качества на каждой стадии его получения.
2. Стоимость фильтрации, т.е. какую долю в себестоимости получаемого продукта занимает фильтрация.
3. Управление и контроль за процессом фильтрации.

Надо откровенно признать, что практически ни одно из этих требований сегодня не выполняется. Предприятия ищут пути решения проблемы фильтрации самым дешёвым способом, что часто приводит к значительным материальным потерям.

Вопрос управления и контроля процесса фильтрации для многих предприятий, даже очень крупных, сегодня представляется чем-то непонятным и ненужным, хотя надо отметить, что производство, которое соответствует требованиям GMP, должно контролироваться на каждой стадии технологического процесса. В России таких предприятий очень немного. Поэтому вопрос создания на старых предприятиях, да и на новых, современных производств жидких лекарственных форм, соответствующих современным требованиям, предъявляемым к этим производствам, является первостепенной задачей в рамках федеральной программы модернизации отечественной фарминдустрии.

EXPERIENCE OF FILTRATION OF LIQUID MEDICINAL FORMS IN MODERN BIOPHARMACEUTICS

Saveljev S.P.,
ZAO "Vladisart"

Today, none of the pharmaceutical enterprises, producing liquid medicinal forms, cannot do without filtration of the given products, irrespective of what method of filtration is applied: micro- or ultrafiltration.

By establishing new enterprises in the technology the system of filtration is already incorporated at various stages of obtaining the product. As to the old enterprises, the question of the application of filtration is complicated and is being solved slowly. The difficulty lies in the fact that it is necessary to change technological regulation. Consequently, it is required that selection of filtration system meets the technological demands. Filtration system should seamlessly fit into the technological process of obtaining the preparation.

Temporal factor is related to the fact that the foundation of pharmaceutical production, meeting the GMP requirements, is reduced to the creation of clean premises in the first place, and the technical equipment undergoes updating on the residual basic or partially. The problem of filtration systems is being solved unprofessionally and sometimes ignorantly.

The first of requirements for the filtration systems in the pharmaceutical enterprises:

1. Right selection of filtration equipment and filtering elements, which have to guarantee the appropriate quality of the product at each stage of its production.
2. Cost of filtration, i.e. filtration share in the cost price of the product.
3. Direction and control of the filtration process.

Frankly speaking, today almost none of the requirements are met. Industries are looking for the cheapest ways of solving the problem of filtration that often leads to considerable financial wastes.

Direction and control of filtration process for many of the enterprises, even for large-scale ones, is represented as something incomprehensible and dispensable, but it should be mentioned, that production, corresponding GMP requirements, has to be controlled through all the stages of technological process. In modern Russia there are a few such enterprises. That is why the question of creation liquid medicinal forms production, corresponding up-to-data requirements, applied to these enterprises, in the old enterprises and in the new ones is of paramount importance within the federal program of modernization of home pharmindustry.

ВНЕДРЕНИЕ ЭФФЕКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ВЫДЕЛЕНИЯ И ОЧИСТКИ ФЕРМЕНТОВ ДЛЯ СОЗДАНИЯ НА ИХ ОСНОВЕ СОВРЕМЕННЫХ ЛЕКАРСТВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НАНОНОСИТЕЛЕЙ

Шенгер А.А.[1], **Глазова Н.В.**[2], **Яковлева Е.П.**[2]

[1]*ООО «Самсон-Мед»,*
Россия, 196158, Санкт-Петербург, Московское шоссе, 13
[2]*Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия,*
Россия, 197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, 14

Производство лекарственных субстанций из природных источников является одним из перспективных направлений современной биотехнологии. В настоящее время на ООО «Самсон-Мед» разработана и внедрена эффективная сорбционно-хроматографическая технология для выделения и очистки комплекса ферментов. Возможность варьирования получения различных ферментов на одном и том же производственном оборудовании и площадях является экономически выгодной, так как выпуск может зависеть от потребности в том или ином ферменте. В настоящее время актуальным является проблема расширения ассортимента готовых лекарственных форм. Однако введение ферментов в готовые лекарственные формы часто сопряжено с потерей активности ферментов в виду их высокой лабильности. Поэтому создание наноструктур, включающих ферменты, антибиотики, антисептики и наноносители, является эффективным решением этой проблемы. Примерами практического применения наноструктур являются стерильные медицинские салфетки из влагоустойчивой бумаги с хлоргексидином биглюконатом, включающие ДНК-азу на наноносителе («Антисепт-б»); зубные гели и пасты, включающие химопсин на различных наноносителях, применение которых показано при язвенном гингивите, пародонтите; свечи гиалуронидазы с гликосферами для профилактики и лечения простатита; косметический гель, включающий нуклеазы с гликосферами, для лечения герпеса трёх видов («Антигерпал»). За время наблюдения (2-3 года) ферменты во всех перечисленных готовых лекарственных формах сохраняют свою активность. После заключительных фармакологических испытаний все эти формы могут быть внедрены в производство.

COMMERCIAL INTRODUCTION OF EFFECTIVE TECHNOLOGIES FOR ISOLATION AND PURIFICATION OF ENZYMES TO PREPARE NEW ENZYME-CONTAINING DRUGS WITH NANOCARRIERS

Shenger A.A.[1], **Glazova N.V.**[2], **Iakovleva E.P.**[2]
[1]*LLC «Samson-Med»,*
Russia, 196158, Saint Petersburg, Moskovskoe st., 13
[2]*Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical Academy,*
Russia, 197376, Saint Petersburg, Prof.Popova st., 14

The manufacture of drug substances from natural sources is one of the prospective lines of development of recent biotechnology. The effective sorption-chromatography technology for isolation and purification of enzyme complex is now developed and introduced in the manufacture in LLC "Samson-Med". The possibility to modify the manufacture of various enzymes using the same production equipment and areas is economic because the production-output can depend on the need in one or another enzyme. The problem of today is to expand the assortment of finished pharmaceutical products. However, the inclusion of enzymes into finished pharmaceutical products is often associated with loss of the activity of enzymes due to their high lability. Therefore, one of the effective solutions of this problem is to generate nanostructures comprising enzymes, antibiotics, antiseptics and nanocarriers. Examples of practical application of nanostructures are sterile medicinal moisture-resistant tissues with chlorohexidine bigluconate, comprising DNA-ase on a nanocarrier («Antisept-b»); tooth gel and paste comprising chemopsin on various nanocarriers, use of which is indicative for ulcerous gingivitis, parodontitis; suppositories hyaluronidase with glycospheres for the prophylaxis and treatment of prostatitis; cosmetical gel comprising nuclease with glycospheres for the treatment of three types of herpes («Antiherpal»). Over the observation period (2-3 years) the enzymes have retained their activity in all the above finished pharmaceutical products. After final pharmacological assays, all these forms can be commercially introduced.

НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ПЕРЕРАБОТКИ ГИДРОБИОНТОВ

Шиков А.Н., Пожарицкая О.Н., Уракова И.Н., Рыбакова А.В., Крышень К.Л., Макаров В.Г.
С-Петербургский Институт Фармации,
195248, С-Петербург, ул. Партизанская, 27, 424

Гидробионты активно привлекают внимание биологов и химиков всего мира в последние десятилетия. Водная среда обитания является достаточно жесткой и агрессивной, поэтому гидробионты вынуждены продуцировать вещества с широким спектром биологической активности. Зачастую вещества из морских организмов оказывают существенно больший эффект, чем известные фитопрепараты и синтетические средства. Области применения продуктов жизнедеятельности гидробионтов и технологические способы их переработки определяются химической структурой и свойствами продуцируемых ими метаболитов. Приоритетными направлениями в изучении организмов водной фауны является поиск новых иммуномодуляторов, противоопухолевых, противовоспалительных, цитопротекторных, противовирусных, антимикробных, гипотензивных, репаративных, веществ, и способов их выделения.

Объектами исследований являются рыба и продукты ее переработки, морские ежи, брюхоногие моллюски, криль и др. ракообразные, кораллы, водоросли.

Чаще всего из гидробионтов выделяют: пептиды, полисахариды, полиненасыщенные жирные кислоты, антиоксиданты, ферменты, витамины и минералы. Основными технологическими методами переработки являются жидкостная экстракция, химический и ферментативный гидролиз, микробная ферментация, осаждение и высаливание высокомолекулярных протеинов, диализ, хроматографическая очистка.

С использованием традиционных и оригинальных технологических подходов нам удалось разработать технологии высокоэффективных комплексов из гидробионтов с иммуномодулирующими, антиоксидантными, противовоспалительными свойствами.

NEW TECHNOLOGIES FOR PROCESSING OF HYDROBIONTS

Shikov A.N., Pozharitskaya O.N., Urakova I.N., Rybakova A.V., Kryshen K.L., Makarov V.G.
St-Petersburg institute of Pharmacy,
195248, St-Petersburg, Partizanskaya, 27, 424

Hydrobionts actively attract the attention of biologists and chemists around the world in recent decades. Aquatic habitat is sufficiently tough and aggressive. Therefore hydrobionts are forced to produce special substances with a broad spectrum of biological activity. Often the substances from marine organisms have a much greater effect than the well-known herbal and synthetic. The application of marine organisms and technological methods of processing are determined by the chemical structure and properties of metabolites produced. Search for new immunomodulators, anticancer, anti-inflammatory, cytoprotective, anti-viral, antibacterial, antihypertensive, reparative, substances and methods for their isolation are priorities in the study of hydrobionts. The objects of research are fish, sea urchins, gastropods, krill and other crustaceans, corals and algae.

Peptides, polysaccharides, fatty acids, antioxidants, enzymes, vitamins and minerals are the most common isolated active principles. The main technological methods of processing are liquid extraction, chemical and enzymatic hydrolysis, microbial fermentation, precipitation and salting-out of high-protein, dialysis, chromatographic purification.

High-technology complexes of active compounds with immunomodulatory, antioxidant, anti-inflammatory properties were developed with the use of traditional and original technological approaches.

СОВРЕМЕННЫЙ ПОХОД К УПРАВЛЕНИЮ ПРОЦЕССОМ ФЕРМЕНТАЦИИ

Ванагс Юрис,
д.т.н., BTC A/O (Латвия),
www.bioreactors.net

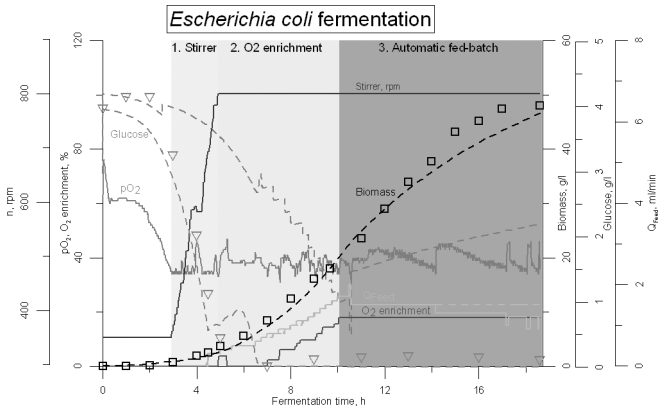
В коммерчески доступных ферментерах различных производителей обычно предусмотрено управление такими параметрами процесса, как температура, pH, pO2, пенообразование и уровень, а также предлагаются некоторые возможности действий оператора с использованием интерфейса пользователя на операторской панели контроллера (PLC) и/или в компьютеризованной системе управления (SCADA).

Новыми требованиями, которые сегодня дополнительно предъявляются к системам управления ферментеров, являются:

1) Интегрирование требований системы обеспечения качества в систему управления процессом ферментации. Наиболее успешно это можно реализовать с использованием пакета

программ визуализации и управления (SCADA), созданных в соответствии с требованиями 21CFR Part11. Помимо основных функций управления и визуализации, программа SCADA предусматривает в этом случае также и соблюдение требований к электронным записям, регистрацию авторизированного доступа в систему управления и ведение журнала действий оператора. Фирма BTC разработала собственную русифицированную программу SCADA, позволяющую создать эффективную систему управления процессом ферментации. Программа выполнена, на основе промышленного пакета программ и в соответствии с 21CFR Part 11.

2) Другой важной потребностью практики является повышение гибкости контроллера PLC, направленное на минимизацию влияния ошибок оператора. Это в первую очередь касается применения различных алгоритмов подпитки культуры субстратом (fed-batch fermentation process), отвечающих специфическим потребностям пользователя. Фирма BTC успешно реализует на практике и эту новейшую тенденцию. В качестве примера приводится применение различных алгоритмов подпитки при проведении процессов ферментации *E.coli* и *S.cerevisiae* [1] (более подробную информацию смотреть на сайте www.bioreactors.net).



1. J. Vanags, O. Grigs, V. Galvanauskas. Automatic fed-batch process application to yeast and bacterial fermentations using pO_2 cascade control. Poster P41.47, 1st European Congress of Applied Biotechnology, Berlin, Germany, 25.-29.09.2011.

MODERN TRENDS OF FERMENTATIONS PROCESS CONTROL

Juris Vanags,
Dr.sc.eng., JSC „BTC" (Latvia),
www.bioreactors.net

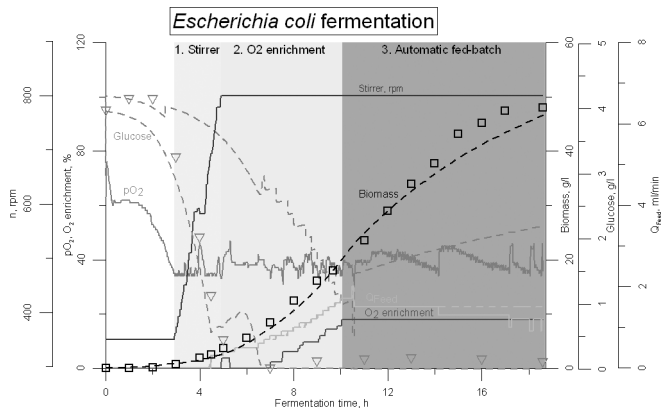
The typical potentialities of fermentation control are commonly included in the commercially available basic configuration of a bioreactor controllers. Thereby, the control of the main parameters, namely, temperature, pO_2, pH, foam, level and overpressure can be ensured. There are also relatively broad possibilities to control fermentations using additionally the tools, available from process controller (PLC) operator panels and/or computerized process visualization systems (SCADA) user interfaces.

Additionally the following requirements are postulated today regarding fermentations control systems:

1. Integration of manufacturing quality requirements into fermentations control systems. A most successful approach to ensure this task is to use a SCADA development software package, which meets the requirements of 21CFR Part 11. In such way developed SCADA beside basic functions of control and visualization provides also the requirements of electronic signature and recordings, authorized access to system operations and the report of operator actions. Our company has developed

the SCADA system according to above mentioned principles. This software is based on an industrial SCADA development package according to the requirements of 21CFR Part 11.

2. Another important aspect is improving the flexibility of controller (PLC) to create process control programs, which would minimize the failures connected with operator actions. First of all it concerns the possibilities of selection of different fed-batch algorithms. Company BTC has experience in application of advanced fed-batch algorithms in commercial controllers for fermentation processes. Algorithms and approaches were tested in fermentations using the strains of *E.coli* and *S.cerevisiae* [1].



[1] J. Vanags, O. Grigs, V. Galvanauskas. Automatic fed-batch process application to yeast and bacterial fermentations using pO_2 cascade control. Poster P41.47, 1st European Congress of Applied Biotechnology, Berlin, Germany, 25.-29.09.2011.

ОДНОРАЗОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В БИОФАРМАЦЕВТИКЕ

Жук О.В.
ЗАО «Биокад»,
Россия, Московская область,
Красногорский район, с. Петрово-Дальнее

В настоящее время биотехнологические компании всего мира активно переходят от использования металлического оборудования к одноразовым пластиковым системам. Одноразовые технологии являются одним из приоритетных направлений технологической и экономической оптимизации производств.

Одноразовые технологии затрагивают большинство направлений биофармацевтики:

- приготовление растворов различной природы
- стерилизация жидкостей и газов
- хранение, транспортирование растворов
- ферментационные процессы (бактерии, клетки млекопитающих)
- хроматографическая очистка
- мембранные процессы (диафильтрация, тангенциальная фильтрация, хроматография)
- асептический отбор проб
- контроль критических параметров технологического процесса

Основные преимущества одноразовых технологий:

- снижение рисков, связанных с перекрестной контаминацией
- снижение рисков, связанных с микробной контаминацией
- снижение объемов работ по валидации
- снижение капитальных и операционных затрат

- гибкость производства
- легкость масштабирования
- удобство использования

На ЗАО «Биокад» одноразовые технологии внедрены практически во все технологические процессы, связанные как с биологическими процессами, так и с процессами производства готовых лекарственных форм и химических субстанций. Это привело к существенному сокращению себестоимости готовых продуктов, ускорило масштабирование и валидацию существующих и новых процессов.

Вместе с тем одноразовые технологии охватывают все больше областей биофармацевтики, увеличивают объемы. Компании-производители предлагают комплексные решения для осуществления и масштабирования процессов от лабораторных до промышленных размеров, также возможны и используются на ЗАО «Биокад» кастомизированные модели.

SINGLE-USE TECHNOLOGIES IN BIOTECHNOLOGY

Zhuk Olga Vadimovna
BIOCAD,
Russia, Moscow region,
Krasnogorskiy distrit, Petrovo-Dalnee.

Present time biotechnology companies all over the world are moving from the stainless steel equipment to the single-use technologies. Single-use technologies are one of the most priority directions in a process and economic optimization.

Single – use technologies concern majority of biopharmaceutical procedures:

- solutions treatment
- liquid and gas sterilization
- solutions storage and transportation
- up-stream processes (mammalian, microbe)
- down-stream processes
- membrane processes (diafiltration, tangential flow filtration, chromatography)
- aseptic sampling
- in-process QC

Advantages of SUTechnologies:

- cross contamination risk mitigation
- microbial contamination risk mitigation
- decrease in validation costs
- decrease in capital and operational investments
- plant flexibility
- easy scale-up
- convenience

At Biocad disposable technologies are introduced almost in all processes including biological, chemical substance and fill & finish. Due to this fact a tangible COGS reduction were received, scale-up and validation of new and presented processes were simplified and optimized.

Along with all mentioned advantages SUTechnologies have been covering more and more key points in biopharmaceutical field, increase volumes and capacities. Manufactures offer ready complex solutions for covering all the process from the lab development to the GMP full size production, a customized production is also available.

ОПТИЧЕСКИЙ ИМИДЖИНГ ДЛЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ И МЕДИЦИНСКИХ ПРИЛОЖЕНИЙ

Турчин И.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт прикладной физики Российской академии наук,
603950 г. Нижний Новгород, ул. Ульянова, д. 46

Оптические методы исследования биотканей обладают существенными преимуществами по сравнению с другими методами (КТ, МРТ, УЗИ). Во-первых, они неинвазивны вследствие малой величины энергии оптического кванта и незначительной мощности (несколько милливатт) источника излучения. Во-вторых, они обеспечивают довольно высокое пространственное разрешение при формировании изображений. В-третьих, методы оптического биоимиджинга не требуют такой инфраструктуры как КТ или МРТ и более экономичны. Использование существенной пространственной неоднородности показателей рассеяния и поглощения биотканей позволило создать такие методы визуализации как оптическую когерентную томографию (глубина визуализации 1-2 мм, разрешение 5-20 мкм) и оптоакустическую томографию (1-30 мм с разрешением 50-500 мкм). Зависимость оптических свойств биотканей от длины волны позволило реализовать оптическую диффузионную спектроскопию (ОДС) с глубиной зондирования до нескольких сантиметров, позволяющую определять компонентный состав биотканей (окси-, дезоксигемоглобин, вода, жир). Использование флуоресцирующих меток различной природы (флуоресцирующие белки, квантовые точки и др.) позволяет увеличить контраст наблюдаемых биологических структур на несколько порядков. Прицельная доставка флуоресцентных меток позволяет повысить информативность диагностики. Системы флуоресцентной диагностики – от микроскопического уровня исследования (конфокальная лазерная сканирующая микроскопия, а также новые методы микроскопии со сверхразрешением до 20 нм) до исследования на уровне целого организма (диффузионная флуоресцентная томография для скрининга лекарственных препаратов на лабораторных животных) – обладают высокой чувствительностью к молекулярным событиям. В докладе представлен краткий обзор современного состояния методов оптической диагностики биотканей.

OPTICAL IMAGING FOR BIOLOGICAL AND MEDICAL APPLICATIONS

I.V. Turchin

Institute of Applied Physics of the Russian Academy of Sciences,
603950 Ulyanov St., 46, Nizhny Novgorod, Russia

Optical methods for diagnostics of biological tissue have significant advantages compared to traditional imaging modalities (CT, MRI, US). First, they are non-invasive due to the small energy of the optical quantum and low power of the probing radiation (several milliwatts). Second, they provide imaging with high spatial resolution. Third, they are cost-effective and do not require such infrastructure as CT or MRI. Optical imaging modalities like Optical Coherence Tomography (OCT) (imaging depth 1-2 mm, spatial resolution 10-20 microns) and Optoacoustic Tomography (OAT) (imaging depth 1-30 mm, spatial resolution 50-500 microns) employ inhomogeneities of scattering and absorption characteristics of light in tissue structures. Dependence of tissue optical properties on probing wavelength allowed for development of Optical Diffuse Spectroscopy with probing depth of units of cm for reconstruction of the biotissue components composition (oxy-, deoxyhemoglobin, water, lipids) Fluorescent markers of different nature (fluorescent proteins, quantum dots, etc.) enable one to increase contrast of biotissue structure on several orders of magnitude. Target delivery of

fluorescent markers allows to increase diagnostic value of imaging. Fluorescent diagnostic systems vary from the microscopic level of study (laser scanning confocal microscopy and novel microscopy techniques with resolution down to 20 nm) to whole-body fluorescent imaging (diffuse fluorescent tomography for preclinical drugs screening on experimental animals) and demonstrate high sensitivity to molecular processes. In this report we review state-of-the-art techniques for optical biomedical diagnostics.

ПОСТЕРЫ
POSTERS

ЭКСПРЕСС-МЕТОД ОЦЕНКИ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ КЛЕТОК В БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТАХ

Блинкова Л.П., Пахомов Ю.Д., Никифорова О.В., Евлашкина В.Ф., Альтшулер М.Л.
ФГБУ Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова РАМН, Москва, 105064, Малый Казенный пер., 5а

Активность пробиотиков принято оценивать по количеству колониеобразующих единиц (КОЕ/мл) после посева разведений лиофилизированных бактерий в физрастворе. Микробиологи считают, что колонии не всегда формируются из одной клетки, т.е. живых клеток имеется больше. Нами предложен быстрый метод визуальной оценки живых бактерий в пробиотиках и других биологических препаратах с помощью коммерческого набора флуоресцентных красителей Live/Dead (Baclight™). Живые и мертвые бактерии, различающиеся по флуоресценции, можно легко подсчитать как в процентном соотношении, так и в пересчете на единицу объема. С помощью этого метода на модели *E. coli* M17 оценили жизнеспособность клеток в нескольких сериях колибактерина, произведенных на разных предприятиях (ОАО «Биомед» им. И.И. Мечникова, «ИмБиО», Пермский НИИВС) и различающихся по срокам хранения (1982 – 2009 гг.), емкостям (ампулы, флаконы). Результаты прямых подсчетов количества живых и мертвых клеток сравнивали с величинами КОЕ/мл, полученными для тех же суспензий. Используя Live/Dead, в течение 1 часа можно провести оценку активности не менее 2х серий препаратов. Оказалось, от 4 до 99% лиофилизированных клеток *E. coli* M17 после ресуспензирования в физрастворе, оставаясь живыми, не формировали колоний. Инкубация анализированных суспензий в течение 48 – 72 часов приводила к увеличению количества клеток на 3-4 порядка. По-видимому, аналогичные процессы, при которых запускается более позднее размножение части регидратированных, клеток происходят в кишечнике теплокровных. Это могут быть клетки в состоянии глубокого покоя или частично поврежденные, требующие длительного срока восстановления перед делением. Таким образом, предлагаемый экспресс-метод по позволяет провести быструю количественную оценку жизнеспособности клеток при биологическом контроле промышленных сериях и выявить более высокий потенциал сохранения активности пробиотических препаратов.

EXPRESS ASSESSMENT OF CELL VIABILITY IN BIOLOGICAL PREPARATIONS

Blinkova L.P., Pakhomov Y.D., Nikiforova O.V., Evlashkina V.F., Altshuler M.L.
FGBU I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera of RAMS, Moscow,105064 Maliy Kazyonniy side st,. 5a.

Activity of probiotics is commonly evaluated as a number of colony forming units (CFU/ml) after plating serial dilutions of lyophilized bacteria in normal saline. Microbiologists believe that a colony is not always formed from a single cell and real number of cells is somewhat greater.

We propose an approach to visual assessment of viable bacteria in probiotics and other biological preparations using commercially available fluorescence staining kit Live\Dead (Baclight™). Viable and dead cells emit different colours, therefore viable/dead cells ratio can easily be evaluated as well as in terms of numbers in given volume. Using this method we assessed viability of a model stain of E. coli M17 in several samples of colibacterin probiotics preparations produced by different manufacturers (Mechnikov Biomed; ImBiO; Perm' RIVS) with different storage period after their expiration date (1982-2009), kinds of vessel (ampoules and vials). Results of direct counting of viable and dead cells were compared with CFU/ml values. Using Live/Dead it is possible to assess at least two sample preparations. We showed that 4-99% of lyophilized E. coli M17 cells didn't form colonies while remaining viable in normal saline. Further incubation in normal saline for 48 – 72 hours resulted in increase of number of cells by 3-4 orders of magnitude. Apparently similar processes leading to delayed multiplication of some rehydrated cells may occur in guts of warm-blooded animals. These cells might exist in some form of anabiosis, or be sublethally injured which requires more extended recovery period before first division is possible. Therefore the described express method in comparison to traditional plating allowed rapid and accurate assessment of cell viability in commercial batches for biological control and reveal higher potential for retention of activity in probiotic preparations.

PRODUCTION OF LOW MOLECULAR WEIGHT CHITOSAN FROM BIOMASS OF A.SPERGILLUS NIGER USING ENZYMATIC HYDROLYSIS

Scholar Javad Chehri, PhD
E-mail: javad.chehri@gmail.com
1. Supervisor of project: Professor Ali Mostafaie
2. Advisor of project: Professor Gavriol Andrey
1. Moscow State Academy of Veterinary Medicine, Biotechnology (K.I. Skryabin) Department of biotechnology 2. Medical Biology Research Center, Kermanshah Medical University
Keywords: Chitosan production; Aspergillus niger; low molecular weight; enzymatic hydrolysis

Аннотация:

Многие исследования сосредоточены на применении общих методов для получения хитозана из Aspergillus Niger с низким молекулярным весом с использованием ферментативного метода. Однако, хитозан, полученный таким способом, имеет некоторые недостатки, включая плохую растворимость в физиологическом растворе. Поэтому представляет интерес новый метод получения хитозана основаный на его частичном гидролизе.

В своей работе мы использовали штамм MTCC 2208 Aspergillus Niger для производства хитозана. Мы использовали многомерный метод выращивания продукта с анализом результатов в разные периоды культивирования. В процессе производства хитозана были проанализированы несколько параметров , такие как pH, температура, сырьё и другие эффекторы роста. Основная цель данного исследования производство хитозана из

изолированного дикого штамма MTCC 2208 Aspergillus Niger и поиск простого способа очистки хитозана по сравнению с химическими ферментативными методами, поиск различий между этими двумя методами для производства продуктов хитозана с наименьшими затратами и низким загрязнением.

PRODUCTION OF LOW MOLECULAR WEIGHT CHITOSAN FROM BIOMASS OF A.SPERGILLUS NIGER USING ENZYMATIC HYDROLYSIS

Scholar Javad Chehri, PhD

E-mail: javad.chehri@gmail.com

1. Supervisor of project: Professor Ali Mostafaie

2. Advisor of project: Professor Gavriol Androey

1. Moscow State Academy of Veterinary Medicine, Biotechnology (K.I. Skryabin) Department of biotechnology 2. Medical Biology Research Center, Kermanshah Medical University

Abstract:

Many researches focused to modifying the common methods for preparation of chitosan from Aspergillus Niger MTCC 2208 with low molecular *weight* and use enzymatic method for this matter. In this study we want use Aspergillus Niger MTCC 2208 for the production of chitosan. We want make Multivariate growth methods for product best result and different periods with Separate analyzed for the best production. The produced chitosan will be analyzed in few matter as ph, temperature, material and other effect in growth to product low molecular with of chitosan weight, use less harmful chemical material and use enzymatic methods and Comparison The infrared spectrum of this produced with similarity spectrum of commercial chitosan. The main objective of this study produced chitosan from isolated wild strains Aspergillus Nigar MTCC 2208 and finds simple method for the purification chitosan and compared chemical methods with enzymatic methods and shows the different of this two methods and product chitosan with lowest cost and low Pollution.

Reference

1. Bartniki-Garcia, S. (1968). Cell wall chemistry. Annual Review Microbiology.

2. Benjakul, S., & Sophanodora, P. (1999).Chitosan production from Carapace and shell of black tiger shrimp. Asean Food Journal.

3. Brugnerotto, J., Lizardi, J., Goycoolea, F. M., Argu¨elles-Monal, W Desbrie`res, J., & Rinaudo, M. (2009). An infrared investigation in Relation with chitin and chitosan characterization. Polymer.

4. Chang, K. L., Tai, M. C., & Cheng, F. H. (2008). Kinetics and products of the degradation of chitosan by hydrogen peroxide. Journal of Agricultural and Food Chemistry.

5. Dodane, V., & Vilivalam, V. D. (1998). Pharmaceutical applications of chitosan. Pharmaceutical Science and Technology Today, 1, 246–253.Fan D.Y., & Chen, Y. H. (1996). Probabilism and science statistics. Zhejing University Press.

7. Kumar, M. (2006).A review of chitin and chitosan applications.Reactive, Functional Polymers.

8.McGahren, W. J., Perkinson, G. A., Growich, J. A., Leese, R. A., & Ellestad, G. A. (1984). Chitosan by fermentation. Process Biochemistry,

9. Niederhofer, A., & Muller, B. W. (2008).A method for direct preparation of chitosan with low molecular weight from fungi.European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics.

10. Pandey, A., Soccol, C. R., Rodriguez-Leon, J. A., & Nigam, P. (2009). Solid-state fermentation in biotechnology: Fundamentals and application. New Delhi: Asiatech Publishers.

ПРОЦЕСС ИНКАПСУЛЯЦИИ В ПСЕВДООЖИЖЕННОМ СЛОЕ: ИССЛЕДОВАНИЕ И ПРОГНОЗИРОВАНИЕ КАЧЕСТВА ПОКРЫТИЯ

Голомидов Е.С.
Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева.
125480 Москва, улица Героев Панфиловцев, 20

Эта работа описывает подход к математическому моделированию процесса нанесения покрытий в псевдоожиженном слое, заключающийся в комбинации нескольких математических инструментов: факторное планирование эксперимента и статистический анализ данных, балансы массы, энергии и числа частиц, а также нейронная сеть.

Проведение лабораторных опытов в сочетании с факторным анализом позволяет выявить ключевые факторы качества нанесенного покрытия в зависимости от параметров проведения процесса. Математическая модель процесса нанесения покрытия описывает тепло- и массообмен между тремя фазами – воздухом, частицами и каплями диспергируемого раствора для покрытия. И состоит из уравнений изменения влагосодержания и температуры каждой из трех фаз; уравнения для изменения количества полимерного покрытия на частице и уравнения изменения количества капель по высоте слоя и во времени, начальных и граничных условий. Адекватность модели подтверждена экспериментальными данными и имеет среднеквадратичное отклонение R = 0,95.

Математическое моделирование процесса нанесения покрытия позволяет рассчитывать высоту слоя, остаточное влагосодержание продукта, а также толщину слоя покрытия в зависимости от условий проведения процесса. Это позволяет значительно сократить временные и материальные задачи на начальном этапе разработки новой технологии.

В ходе работы были выявлены ключевые факторы, влияющие на качество нанесенного покрытия: сыпучесть, доля агломератов, и внешний вид полимерной пленки.

Сочетание различных математических инструментов позволяет определять оптимальные условия проведения процесса и прогнозировать качество покрытия при заданных параметрах.

ENCAPSULATION PROCESS IN A FLUIDIZED BED: A STUDY AND PREDICTION OF THE COATING QUALITY

Evgeny Golomidov
D.I. Mendeleyev University of Chemical Technology of Russia,
Computer Aided Process Engineering Faculty,
Geroev Panfilovtsev Str. 20, Moscow, 125480, Russia

This work describes an approach to modelling of fluidized bed coating, which implies the combination of several mathematical tools, such as experimental design and factorial analysis, heat, mass and population balances equations, and artificial neural network.

Application of the experimental design and factorial analysis allow to identify significant factors for coating quality from a large range of control process parameters and to narrow a range of their changes. Besides that experimental design was used to get a representative sampling with minimum of experiments. Rely on heat, mass and population balances into the fluid bed during coating process and hydrodynamics of fluid bed equipment the mathematical model was constructed. The adequacy of model was confirmed by experimental data with a root-mean-square deviation R=0.95.

Mathematical modelling of the coating process allows calculating bed height, process runtime, residual moisture of product, process efficiency and coating layer thickness in depending on process

conditions. Estimating optimal conditions are input data for artificial neural network module to predict quality of coating product.

The key factors of coating quality were considered flowability, part of agglomerates, and appearance of coating film.

Combination of different mathematical tools allows to find optimal process conditions and to predict a good coating quality for this process parameters.

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО АНАЛОГА ИНСУЛИНА ПРОЛОНГИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ (ИНСУЛИНА ГЛАРГИНА)

Харюнина Е.С.[1,2], **Гусарова В.Д.**[2], **Соколова И.В.**[2], **Воробьева Т.В.**[2], **Гусаров Д.А.**[2]

[1]*Московский государственный университет тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова,*
119571 Москва (Россия), пр-т Вернадского, 86.

[2]*Учреждение Российской академии наук Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,*
117997 Москва (Россия), ул. Миклухо-Маклая, 16/10.

На рынке РФ существует огромный выбор препаратов инсулина для лечения сахарного диабета, однако, большинство из них производятся за рубежом.

Согласно «Стратегии развития фармацевтической промышленности на период до 2020 года» в нашей стране в рамках импортозамещения должно быть создано производство широкой номенклатуры лекарственных средств. К таким препаратам относится инсулин гларгин (торговое наименование «Лантус»), аналог инсулина пролонгированного действия.

В структуре инсулина гларгина остаток аспарагина в положении A21 заменен на остаток глицина, а B-цепь удлинена на два остатка аргинина – ArgB31-ArgB32, благодаря чему значение p*I* смещается до 6,7. Изменение изоэлектрической точки и приводит к пролонгации действия препарата. При подкожном введении кислый раствор (значение pH лекарственного препарата Лантуса равно 4,0) нейтрализуется, что приводит к внутримышечному депонированию.

Цель нашей работы — разработка экономически эффективной технологии производства активной фармацевтической субстанции инсулина гларгина. Первым этапом работы было выделение целевого белка из цитоплазматических телец включения действием различных хаотропных агентов (мочевина, гуанидин хлорид); для проведения последующей стадии рефолдинга использовались различные методики проведения данного процесса, а именно: метод прямого разбавления, колоночная и мембранная хроматография. Полученный в нативной форме белок, предварительно очищенный от продуктов некорректного фолдинга, подвергали ферментативному гидролизу с целью получения целевого продукта. Последующая работа заключалась в разработке “down stream” процесса очистки целевого белка от других продуктов гидролиза с помощью таких методов, как ионообменная хроматография, ВЭЖХ и гель-фильтрация.

DEVELOPMENT OF TECHNOLOGY FOR PRODUCTION OF RECOMBINANT INSULIN ANALOGUE WITH PROLONGED ACTION (INSULIN-GLARGINE)

E.S.Kharyunina[1,2], V.D.Gusarova[2], D.A.Gusarov[2], I.V.Sokolova[2], T.V.Vorobjeva[2].
[1]*Lomonosov Moscow State University of Fine Chemical Technologies, 119571 Moscow (Russia), Vernadskogo av., 86.*
[2]*Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, 117997 Moscow (Russia), Mikloukho-Maklaya st., 16/10.*

The variety of insulin medicines on the Russian market is rather wide. However the most of them is produced abroad.

According to «the Strategy of the Development of Pharmaceutical Industry until 2020» assumed by Russian Government the import substitution should be implemented by developing of the production of wide number of medical preparations. Among these preparation is insulin Glargine («Lantus»), prolonged acting analogue of insulin.

In the Glargine molecular structure the Asn residue in the A21 position is substituted by Gly residue, the B-chain is extended by two additional positively charged Arg residues on the C-terminus. Thus, pI value becomes equal to 6.7. As a result, this leads to prolonged release of the medicine being injected intramuscular or subcutaneously.

Our main task was to develop the economically viable and efficient technology of the Glargine active pharmaceutical ingredient (API) production. The isolation of the target protein precursor from inclusion bodies (IBs) was studied. IBs was solubilized by different denaturating agents such as urea, guanidine HCl. Different methods of subsequent unfolding/refolding procedures was investigated: the serial dilution, column and membrane chromatography etc. The enzymatic conversion of natively folded precursor was implemented by means of trypsin in order to achieve Glargine. The highly efficient down stream process for the Glargine separation and purification was developed. The Glargine API of high purity was obtained.

РАЗРАБОТКА АВТОМАТИЗИРОВАННЫХ СИСТЕМ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ В БИОТЕХНОЛОГИИ ПРИРОДНЫХ ИММУНОСТИМУЛЯТОРОВ

Шуваев П.В., Черенков Д.А., Толкачёва А.А., Корнеева О.С.
ФГБПОУ ВПО «Воронежский государственный университет инженерных технологий», 394036, г.Воронеж, пр. Революции, 19

Максимальным влиянием на формирование и поддержание гомеостаза, обладает собственная микрофлора организма человека, которая нивелирует в широких пределах любые внешние воздействия, в том числе, связанные с поступлением чужеродных микроорганизмов. Учитывая, что одним из основных факторов влияния на микробиоценозы остаётся алиментарный, следует признать целесообразность и значимость производства пищевых ингредиентов, являющихся основным источником пробиотических организмов. Была решена задача по подбору культур,

входящих в состав пробиотической композиции, из числа молочнокислых бактерий. Микроорганизмы подбирали по совокупности признаков: скорость сбраживания углеводов до молочной кислоты; скорость ферментации цитрата; температура ферментации; тип брожения (гомо/гетероферментативное); продуцирование экзополисахаридов, ацетальдегида, диацетила, углекислого газа. Композицию культур выращивали в периодическом режиме. К дозирующим устройствам, датчикам контроля, запорной и регулирующей арматуре предъявляют специфические требования, что учитывалось при разработке контролирующих систем. Автоматически контролировался процесс смешивания, температура, давление газов,

pH, удаление пены, подача компонентов питательной среды, расход, стерилизация, выброс газа, вес, электропроводимость. Все операции выполнялись автоматически по назначенным параметрам. Ферментер через локальную сеть соединялся с компьютером, где осуществляли дистанционный контроль и архивирование технологических данных, вывод данных на печать, вывод таблиц сводки и графиков технологических параметров, устанавливалась автоматическая сигнализация в случае сбоя или риска ухудшения процесса. Одновременно контролировали параметры физиологического состояния культуры: скорость роста; содержание аминного азота в среде; потребление углеводных компонентов питательной среды; накопление продуктов метаболизма, тепловыделение.

THE DEVELOPMENT OF AUTOMATED SYSTEMS FOR THE CULTIVATION OF MICROORGANISMS IN BIOTECHNOLOGY OF NATURAL IMMUNOSTIMULANTS

Shuvaev P.V., Cherenkov D.A., Tolkacheva A.A., Korneeva O.S.
«Voronezh state university of engineering technology»,
394036, Russia, Voronezh, pr. Revolucii, 19

Microflora of the human body has maximum influence on the formation and maintenance of homeostasis, it eliminates a wide limits of external influences, including those relating to the receipt of alien organisms. Considering that one of the main factors influencing the microbiocenoses remains alimentary, we should recognize the desirability and importance of food ingredients, which are the main sources of probiotic organisms. Problem was solved by the selection of crops belonging to the probiotic composition from the number of lactic acid bacteria. Microorganisms were selected by a set of attributes: speed of carbohydrate fermentation to lactic acid, the rate of citrate, the temperature of the fermentation, the type of fermentation (homo / heterofermentative), production of exopolysaccharides, acetaldehyde, diacetyl, carbon dioxide. The composition of crops was grown in batch mode. There are specific requirements to devices (such as dosing elements, sensors, control valves) that have to be taken into account when designing control systems. Mixing, temperature, gas pressure, pH, removal of the foam, supply flow of nutrient component, sterilization, gas emissions, weight, conductivity were automatically controlled. All operations were performed automatically with the designated options. Fermenter was connected through the local network to the computer where were set the remote monitoring and archiving of process data, output data to the printer, output tables, summaries and charts of process parameters, automatic alarms in the event of failure or risk of deterioration of the process. At the same time the parameters of the physiological state of the culture were controlled: the growth rate, the content of amino nitrogen in the environment, consumption of carbohydrate components of the nutrient medium, accumulation of metabolic products, the heat release.

ПОЛУЧЕНИЕ СОПОЛИМЕРОВ 3-ГИДРОКСИБУТИРАТА-СО-3-ГИДРОКСИГЕКСАНОАТА В КАЧЕСТВЕ НОСИТЕЛЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Сырвачева Д.А.
Сибирский федеральный университет,
г. Красноярск, пр. Свободный, 79

В настоящее время одной из основных задач современной биофармацевтики является создание долговременных лекарственных систем с контролируемым выходом препаратов. Поиск адекватного материала для таких систем, обладающего комплексом необходимых медико-биологических свойств, включая деградируемость в биологических средах, неотъемлемая

часть данного исследования. Среди известных биодеградируемых синтетических и природных материалов особое место занимают полигидроксиалканоаты (ПГА), содержащие в своем составе 3-гидроксигексаноат, 3-гидроксиоктаноат, менее кристалличны, характеризуются более высокими физико-механических свойствами и скоростями биоразрушения.

Цель работы — исследование способности бактерий *Ralstonia eutropha* B5786 синтезировать сополимер 3-гидроксибутирата-со-3-гигдрогксигексаноата (поли(3ГБ-со-3ГГ)) в автотрофных и гетеротрофных условиях.

В ходе эксперимента в растущую при дефиците азота автотрофную культуру *R. eutropha* B5786 вносили добавки соли 3-гексановой кислоты. Выход полимера при единовременной подаче был более высоким (50% от веса сухой биомассы) по сравнению с режимом многократного дозирования (46% от веса сухой биомассы). Величина включения 3-ГГ составляла 3 мол.%. Используя дробную подачу соли 3-гексановой кислоты в среду и, увеличивая время культивирования бактерий, удалось повысить содержание фракции 3-ГГ до 6 мол.% после первой добавки гексаноата и до 9 мол.% — после второй.

При культивировании бактерий в гетеротрофных условиях с добавлением акриловой кислоты (0.1, 0.5 и 1.0 г/л), показано, что доля 3-ГГ в сополимере возрастала от 9 мол% до 51 мол%. При этом происходило снижение урожая биомассы, однако содержание полимера в клетках не изменялось.

Таким образом, установлено, что, варьируя условия культивирования и концентрацию акриловой кислоты, возможно, получать сополимер поли(3ГБ-со-3ГГ) с содержанием 3-ГГ от 3 мол% до 50 мол%.

SYNTHESIS OF COPOLYMERS OF 3-HYDROXYBUTYRATE-CO-3-HYDROXYHEXANOATE AS A CARRIER OF DRUGS

Syrvacheva D.A.
Siberian Federal University,
Krasnoyarsk, Svobodny, 79

Today the creating of long-term medical systems with controlled release of drugs is one of the major problems of modern biopharmaceuticals. The material for these systems must have such properties as degradability in biological environments, biocompatibility. Polyhydroxyalkanoates (PHAs) are the natural biodegradable polymers. They contain 3-hydroxyhexanoate, 3-hydroxyoktanoate. They have low crystallinity, higher physical and mechanical properties and biodegradation rates.

The aim of this work is to study the ability of the bacteria *Ralstonia eutropha* B5786 to synthesize 3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate (poly(3HB-co-3HHx)) under autotrophic and heterotrophic conditions.

Under autotrophic conditions *R. eutropha* B5786 was grown with a limit of nitrogen. During the experiment a salt of hexanoic acid was added. Polymer yield at a single addition of hexanoic acid was higher (50% of dry biomass weight) compared with several portions addition (46% of dry biomass weight). The content of 3-HHx was 3 mol.%. Addition of several portions of hexanoic acid in the medium and increasing of the cultivation time increased the content of 3-HHx to 6 mol.% after the single addition of hexanoic acid and to 9 mol.% after the second addition.

Under heterotrophic conditions acrylic acid was added (0.1, 0.5 and 1.0 g/l). It was shown that the proportion of 3-HHx in the copolymer increased from 9 mol.% to 51mol.%. At the same biomass yield decreased, but the polymer content in the cells was constant.

Thus, it was found that varying of the cultivation conditions and concentration of acrylic acid it is possible to obtain poly(3-HB-co-3-HHx), which contains 3-HHx from 3 mol.% to 50 mol.%.

ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЦЕННОСТИ БЕЛКОВ ВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИХ БАКТЕРИЙ RALSTONIA EUTROPHA B5786

Виноградова О.Н.
Сибирский федеральный университет,
г. Красноярск, 660041,пр. Свободный 79

В настоящее время сохраняется проблема обеспечения белком населения развивающихся стран, в связи с этим, актуальным направлением является привлечение новых альтернативных источников пищевого белка, одним из которых является белок микроорганизмов.

Перспективность водородокисляющих бактерий по сравнению с другими разрабатываемыми продуцентами белка определяется, высоким содержанием полноценного по аминокислотному составу белка (до 60 – 70%), отсутствием внеклеточных промежуточных продуктов обмена, высокой экологической чистотой процесса производства и получаемого продукта, а также возможностью роста на водороде различного происхождения.

В работе использовали штамм водородокисляющих бактерий *Ralstonia eutropha B5786*. Культивирование бактерий проводили в проточном режиме с использованием автоматизированного ферментационного комплекса BioFlo 110, «New Brunswic» (США). В качестве источника углерода и энергии использовали смесь газов (CO_2, H_2, $O_{2)}$ с соотношением компонентов 1:2:7 по объему.

В качестве показателей для оценки биологической ценности белков выбраны следующие: общее содержание белка в биомассе, его фракционный и аминокислотный состав. Аминокислотный состав белков определяли на автоматическом анализаторе KLA-38 фирмы «Хитачи» (Япония). Разделение белков на фракции и изучение их фракционного состава выполняли в щелочных и солевых растворах.

В белках *Ralstonia eutropha B5786* около 70% представлено I и II фракциями (наиболее доступными пищеварительным ферментам), остальное приходится на III и IV фракции (менее доступны протеазам). Результаты сравнительного исследования фракций белка и содержания в них аминокислот у водородокисляющих бактерий, мясе и зерне пшеницы свидетельствуют о том, что белки, синтезируемые *Ralstonia eutropha B5786*, несколько уступают животным белкам, но превосходят белки растительного происхождения.

ASSESSMENT OF BIOLOGICAL VALUE OF PROTEIN HYDROGEN-OXIDIZING BACTERIA RALSTONIA EUTROPHA B5786

Vinogradova O.N.
Siberian Federal University,
Svobodnyi Av, Krasnoyarsk, Russia, 660041

Today the protein provision of developing population is very problem. Therefore the search of new alternative sources of dietary protein including protein of microorganisms is very promising direction of biotechnology.

Hydrogen-oxidizing bacteria are perspective producers of protein as compared with other living organisms. This bacteria are characterisired by a high content of protein (to 60-70% of biomass), with valuable amino acid composition, absence of the extracellular intermediate metabolites and possibility of autotrophic growth using hydrogen. The protein production with using of hydrogen-oxidizing bacteria is environmental safe.

The strain of hydrogen-oxidizing bacteria Ralstonia eutropha B5786 was used. Bacteria were cultivated under using autotrophic conditions the reactor BioFlo 110, («New Brunswic», USA).

A mixture of gases (CO_2, H_2, O_2) with a ratio of 1:2:7 as a source of carbon and energy was used.

Indicators for assessment of the biological value of proteins were follows: content of total protein and its amino acid composition. The amino acid composition of proteins was determined using an automated analyzer KLA-38 by ("Hitachi", Japan). Separation of proteins to fractions was performed using alkaline and salt solutions.

The proteins fractions I and II of Ralstonia eutropha B5786 (the most available to digestive enzymes) are about 70% from all extracted proteins. The proteins fractions III and IV (less available to proteases) are about 30%. The results of a comparative study of protein fractions and their amino acids content in hydrogen-oxidizing bacteria, meat and wheat grain suggest that the proteins of *Ralstonia eutropha B5786* are inferior to animal proteins, a little are better then plant proteins.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РАЗНЫХ СУБСТРАТОВ ДЛЯ СИНТЕЗА БИОРАЗРУШАЕМЫХ БИОПОЛИМЕРОВ (ПОЛИГИДРОКСИАЛКАНОАТОВ) КАК МАТРИКСА В СИСТЕМАХ КОНТРОЛИРУЕМОЙ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Жила Н.О.[1,2]

[1]*Сибирский федеральный университет,*
660041, г. Красноярск, пр. Свободный, 79
[2]*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки*
Институт биофизики Сибирского отделения Российской академии наук,
660036, г. Красноярск, Академгородок 50, стр. 50

Полигидроксиалканоаты (ПГА) — биполимеры, синтезируемые микроорганизмами, обладая спектром полезных свойств (биоразрушаемость, биосовместимость и др.), имеют огромные перспективы для их применения в фармакологии в качестве матрикса в системах контролируемой доставки лекарств. Однако сначала необходимо решить проблему снижения стоимости ПГА, основную часть которой составляет цена используемого субстрата.

Целью данной работы было исследование способности водородокисляющих бактерий *Ralstonia eutropha* B5786 и B8562 синтезировать ПГА при росте на различных субстратах.

Исследована способность синтезировать ПГА *R. eutropha* B5786 и B8562 в автотрофных (O_2, CO_2, H_2) и гетеротрофных условиях (фруктоза, глюкоза, ацетат натрия, олеиновая кислота). В автотрофной культуре в колбах урожай биомассы и выход полимера у обоих штаммов были близкими и составляли, соответственно, 5.8-6.1 г/л и 60-63% за 70-80 часов культивирования. В гетеротрофных условиях (на средах с ацетатом натрия) выходы ПГА сопоставимы с автотрофной культурой, однако затраты времени на ферментацию значительно, на 25-30%, ниже по сравнению с ростом микроорганизмов на газовом субстрате. При росте на фруктозе, глюкозе, олеиновой кислоте содержание полимера достигало 80-90% при урожае биомассы до 8-10 г/л за 48 часов культивирования.

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта «Биотехнологии новых биоматериалов» (Соглашение No. 11.G34.31.0013) в соответствии с Постановлением №220 Правительства Российской Федерации от 9 апреля 2010 «О государственной поддержке научных исследований, проводимых под руководством ведущих ученых в российских образовательных учреждениях высшего профессионального образования).

USING OF DIFFERENT SUBSTRATES FOR SYNTHESIS OF BIODEGRADABLE BIOPOLYMERS (POLYHYDROXYALKANOATES) AS MATRIX IN CONTROLLED DRUG DELIVERY SYSTEMS

Zhila N.O.[1,2]
[1]*Siberian Federal University,*
660041, Krasnoyarsk, 79 Svobodny Prospect
[2]*Institute of Biophysics,*
Siberian Branch of Russian Academy of Sciences,
660036, Krasnoyarsk, Akademgorodok 50

Polyhydroxyalkanoates (PHA) are biopolymers synthesized by microorganisms. PHA have useful properties as biodegradation, biocompatibility and others, therefore they have good perspectives for application in pharmacology as matrix in controlled drug delivery systems. However it is necessary to find out the decision of the PHA cost decreasing. It is known that the major part of the PHA cost is the substrate price.

The aim of the present work is to research the ability of hydrogen-oxidized bacteria *Ralstonia eutropha* B5786 and B8562 to synthesize PHA using different substrates.

The ability of bacteria *R. eutropha* B5786 и B8562 to synthesize PHA under autotrophic ((O_2, CO_2, H_2) and heterotrophic (fructose, glucose, sodium acetate, oleic acid) conditions was studied. Under autotrophic conditions in vessels biomass yield and polymer content in the both strains were 5.8-6.1 g/l and 60-63% respectively during 70-80 hours of cultivation. Under heterotrophic conditions (sodium acetate) PHA content is similar to the autotrophic culture. However the cultivation time under heterotrophic conditions is 25-30% less in comparison with autotrophic conditions. Using of fructose, glucose and oleic acid resulted to the PHA content and biomass yield increasing to 80-90% and 8-10 g/l respectively during 48 hours of cultivation.

This study was financially supported by Project "Biotechnologies of novel biomaterials" (Agreement No. 11.G34.31.0013) in accordance with Resolution No. 220 of the Government of the Russian Federation of April 9, 2010, "On measures designed to attract leading scientists to the Russian institutions of higher learning". The authors declare that they have no conflict of interest.

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

ИНТЕНСИФИКАЦИЯ ПРОЦЕССА ПОЛУЧЕНИЯ СУХОГО ЭКСТРАКТА ДРОЖЖЕВОГО АВТОЛИЗАТА

Базлов Г.В., Комиссаров А.В., Антонычева М.В., Никифоров А.К., Белоусов А.Д., Беляев М.Н.
ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», 410005 г. Саратов, ул. Университетская, д. 46

В РосНИПЧИ "Микроб" была разработана технология получения сухого экстракта дрожжевого автолизата, пригодного в качестве компонента питательных сред для культивирования микроорганизмов. Однако реализованная технология обладает рядом недостатков, к которым, в первую очередь, можно отнести существенную (до 240 ч) продолжительность технологического процесса, при этом большую долю в это время вносят такие стадии технологического процесса, как автолиз пекарских дрожжей (36-48 ч) и концентрирование экстракта автолизата перед его

высушиванием (96-120 ч). Поэтому, при совершенствовании технологии получения экстракта дрожжевого автолизата важное значение приобретали исследования по сокращению времени получения готового продукта.

Для индукции процесса автолиза использовано направленное изменение pH среды до 8,0±0,5, которое создаёт добавление к смеси натрия углекислого кислого из расчета 8 г/л через 4 ч автолиза, что позволило сократить время проведения данного технологического процесса до 18-20 ч. Внедрение на этапе концентрирования вакуум-выпарной машины и подбор параметров процесса (температуры первичного и вторичного пара, равные 80 0С и 60 0С; давление – минус 0,8 кгс/см2; скорость подачи упариваемого продукта – 30 дм3 в час) позволили сократить время проведения данного технологического этапа до 15 ч. Проверка показателей качества серий сухого экстракта дрожжевого автолизата, проведенная в соответствии с МУК 4.2.2316-08, показала их полное соответствие нормируемым требованиям.

Таким образом, экспериментально обоснованные изменения ранее применяемой технологической схемы получения сухого экстракта дрожжевого автолизата позволили сократить продолжительность технологического процесса с 240 до 107 ч.

INTENSIFICATION OF THE PROCESS OF OBTAINING OF BAKER'S YEAST DRY AUTOLYZATE

Bazlov G.V., Komissarov A.V., Antonycheva M.V., Nikiforov A.K., Belousov A.D., Belyaev V.N.
FSOH Russian Anti-Plague Research Institute "Microbe",
410005, Saratov, Universitetskaya, 46

The technology of production of baker's yeast dry autolyzate was developed in the Institute "Microbe", applicable as a component of nutrient media for microorganisms cultivation. This technology has some drawbacks, first of all, it is time-consuming: the duration of the process is up to 240 h. Autolysis of the baker`s yeasts and concentrating of the autolyzate extract prior to its drying confer for the major part of this time (36–38 and 96–120 h, respectively). Thus, investigations aimed at reduction of the time of the ready product obtaining are of high importance for the improvement of this technology.

Targeted alteration of the medium pH up to 8.0±0.5 by means of acidic sodium carbonate adding in the dose of 8 g/l after 4 hours of autolysis, was used to induce autolysis process, thus reducing its duration up to 18-20 h. Application of vacuum-evaporating device at the stage of concentration and adjustment of the process parameters (temperature of the primary and secondary steam being 80 and 60 ◦C, pressure – minus 0.8 kgf/sm^2, the rate of evaporated product discharge – 30 dm^3 per hour) provided for reduction of this technological stage duration up to 15 h. Testing of the quality of the dry yeast autolyzate extract lots demonstrated that it fully met the requirements of the Instructions MUK 4.2.2316-08.

Thus, experimentally substantiated alterations in the previously applied technological scheme of the dry yeast autolyzate extract production permitted to reduce the duration of the process from 240 to 107 hours.

РАЗРАБОТКА МЕТОДА ВЫДЕЛЕНИЯ И ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ ПРОТЕИНАЗЫ ПОДМАРЕННИКА НАСТОЯЩЕГО

Декунов С.С., Глазова Н.В.
ГОУ ВПО «Санкт-Петербургская химико-фармацевтическая академия»,
197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, 14, лит.А

В современной медицине системная энзимотерапия является одним из перспективных направлений в лечении ряда заболеваний. Основными источниками ферментов для создания лекарственных препаратов могут быть микроорганизмы, органы животных и растительное сырьё. Однако протеиназы из растительного сырья в России практически не производят. Зарубежные препараты бромелайн и папаин являются достаточно дорогими, а завозить их в виде сырья не выгодно. Препараты микробного происхождения обладают более выраженной токсичностью. Поэтому актуальным является разработка метода выделение протеиназы, которая могла бы производиться из растительного сырья, произрастающего в России. Одним из таких источников являются цветки и листья подмаренника настоящего (лат. Galium verum). В предварительных исследованиях было показано, что экстракция протеазы из подмаренника может проводиться водными растворами, а для концентрирования и очистки могут быть применены наиболее эффективные сорбционно-хроматографические методы. Использование сорбентов нового поколения (макропористые сорбенты, сверхсшитые сорбенты, наноалмазы) на разных стадиях выделения и очистки позволяет получать ферменты, свободные от сопутствующих примесей. Исследования показали, что выделенная из подмаренника протеаза обладает высокой стабильностью при хранении в различных условиях, в том числе при температуре тела человека; кислотостойкостью (в сравнении с протеазами микробного и животного происхождения, производимыми в России. Практическая значимость результатов исследования состоит в возможности получения достаточных количеств высокоактивных ферментов из дешёвого сырья при использовании экологичных методов выделения и очистки, исключающих применение токсичных органических растворителей, а также возможность замены дорогостоящих протеиназ, используемых в отечественных лекарственных препаратах.

DEVELOPMENT OF THE ISOLATING METHOD AND STUDYING THE PROPERTIES OF BEDSTRAW PROTEASE

Dekunov S.S., Glazova N.V.
Saint-Petersburg Chemical-Pharmaceutical Academy,
197376, Russia, St. Petersburg, ul. prof. Popov, 14

In modern medicine, systemic enzyme therapy is one of the promising directions in the treatment of diseases. For creating a drug the main sources of enzymes can be micro-organisms, the organs of animals and plant material. However, proteinases from plant raw materials are not produced in Russia. Foreign drugs bromelain and papain are fairly expensive, thus delivering them as the raw materials is unprofitable. Drugs of microbial origin have more toxicity than produce from animal or plant origin. To make matter worse, they also require additional purification steps.

So the main concern is the development of the isolation method of proteases, which could be made from plant material, grown in Russia. One of these sources is the flowers and leaves of Bedstraw (lat. Galium verum). Preliminary studies have revealed that the extraction of proteases can be carried out with the help of water solutions. And, furthermore, the most effective sorption-chromatographic methods will be able to apply for its concentration and purification. The use of sorbents of new generation (macroporous sorbents, sorbents hypercrosslinked, nanodiamonds) at various stages of

isolation and purification allows of getting enzymes, free from the accompanying impurities. The researches have disclosed that the protease isolated from Bedstraw has a high storage stability under various conditions, including temperature of the human body and resistance to acids (in contrast proteases of microbial and animal origin, manufactured in Russia). That's why a dedicated enzyme can be used in various dosage forms moreover saving its stability.

The practical significance of research results is the ability to obtain sufficient quantities of highly active enzymes from the cheap raw materials. It includes the using environmentally methods for the isolation and purification, not only precluding the use of toxic organic solvents, but getting also the possibility of replacing expensive proteases used in local medicines.

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА ЖИВОЙ КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ГРИППОЗНОЙ ВАКЦИНЫ

Думченко Н.Б., Радаева И.Ф., Нечаева Е.А.
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»,
р.п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия

Грипп является глобальной инфекцией, которая в период сезонных эпидемий поражает от 10 до 20% населения планеты, а также единственной, способной вызвать в современном мире пандемии. Вакцинация представляет собой наиболее эффективный способ профилактики гриппа. За рубежом разработано несколько вариантов культуральных инактивированных гриппозных вакцин, которые обладают высокой эффективностью. Российских аналогов инактивированных культуральных вакцин на фармацевтическом рынке нет, как и живых культуральных гриппозных вакцин. На базе ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» разработана технология производства живой гриппозной вакцины «Вектор – Флю» на основе клеток MDCK и вакцинного штамма A/H1N1, культивируемых в бессывороточных питательных средах зарубежного производства. Поскольку в технологии используются материалы импортного производства, цена вакцины остается достаточно высокой. Разработка аналогов импортных бессывороточных сред могла существенно удешевить производство вакцины «Вектор – Флю». Целью исследования стало усовершенствование технологии получения живой культуральной гриппозной вакцины, разработанной на базе ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор».

Известно, что благодаря качественному расширению состава микроэлементов и ростовых факторов, возможно получение полностью свободной от белков и пептидов среды. Нами исследовано влияние некоторых микроэлементов, а именно: Fe, Mg, Cu и Mn, добавленных в питательную среду Игла МЕМ производства «ИПВЭ», на пролиферативную активность и жизнеспособность клеток путем определения индекса пролиферации с помощью окрашивания клеток трипановым синим и подсчета их концентрации в камере Горяева. Достоверных изменений пролиферации клеток в результате добавления микроэлементов выявлено не было, вследствие, этого, задачей дальнейших исследований, станет скрининг других микроэлементов: Zn, Se, Sn, Mo.

IMPROVEMENT OF THE PRODUCTION TECHNOLOGY LIVE CULTURE AN INFLUENZAL VACCINE

Dumchenko N.B., Radaeva I.F., Nechaeva E.A.
Federal State Research Institution State Research Centre of Virology and Biotechnology «Vector», Koltsovo, Novosibirsk Region, Russia

The flu is a global infection which in seasonal epidemics amazes from 10 to 20% of the population of a planet, and also unique, capable to cause in the modern world of a pandemic. Vaccination represents the most effective way of preventive maintenance of a flu. Some variants culture inoctivivated influenzal vaccines which possess high efficiency are abroad developed. The Russian analogs inoctivivated culture in the pharmaceutical market aren't present vaccines, as well as live culture influenzal vaccines. On the basis of FSRI SRC VB "Vector" the production technology of a live influenzal vaccine «the Vector – Flu» on the basis of cells MDCK and vaccinal virus A/H1N1, cultivated in free-serum nutrient mediums of foreign manufacture is developed. As in technology materials of import manufacture are used, the vaccine price remains enough high. Working out of analogs import free-serum environments could reduce the price essentially of vaccine manufacture «the Vector – Flu». Improvement of technology of reception live culture the influenzal vaccine developed on the basis of FSRI SRC VB "Vector" became a research objective.

It is known that thanks to qualitative expansion of structure of microcells and ростовых factors, reception completely free from fibers and peptides of environment is possible. We investigate influence of some microcells, namely: Fe, Mg, Cu and Mn, added in a nutrient medium Igla MEM of manufacture «IPVI», on proliferative activity and viability of cages by index definition proliferation by means of coloring of cages tripanovim blue dark and calculation of their concentration in chamber Gorjaeva. Authentic changes proliferation cages as a result of addition of microcells it has not been revealed, owing to, it, screening of other microcells becomes a problem of the further researches: Zn, Se, Sn, Mo.

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ АМПИЦИЛЛИНА ПО РЕАКЦИИ С ФОСФОРНО-МОЛИБДЕНОВОЙ КИСЛОТОЙ

Грибанов Г.А., Костюк Н.В., Федорова Е.В.
ГОУ Тверской государственный университет,
170100, г. Тверь, ул. Желябова 33

К настоящему времени разработано достаточно большое число методов количественного определения ампициллина, пригодных для контроля качества фармпрепаратов на его основе. Широкое использование существующих методов ограничено рядом общих недостатков: титрометрические методы, как правило, требуют значительных временных затрат, спектральные – применения дорогостоящих или редких реактивов и приборов. Нами разработан способ колориметрического определения ампициллина на основе цветной реакции с фосфорно-молибденовой кислотой. Образующиеся при взаимодействии синие окислы имеют два максимума поглощения в видимом диапазоне: узкий пик в фиолетовой области (около 370 нм) и широкий – в красной области (в диапазоне 700-750 нм). Для целей количественного анализа предпочтительнее использование области длинноволнового максимума поглощения. Образование продуктов реакции значительно ускоряется при нагревании. Сократить время инкубации и добиться полноты протекания реакции можно кипячением проб в течение 5 минут. Развивающаяся при этом окраска устойчива более 2 часов. Линейный характер зависимости экстинкции от концентрации сохраняется при содержании антибиотика в пробе от 0,01 до 0,15

мг. Результаты, полученные с помощью предлагаемого нами метода и путем йодометрического титрования, рекомендованного Государственной фармакопеей, удовлетворительно согласуются, но воспроизводимость колориметрического метода выше. Присутствие в пробе компонентов питательных сред, обладающих слабыми восстановительными свойствами (сахароза, аминокислоты), на результаты анализа существенно не влияют.

Предложенный метод колориметрического определения ампициллина можно считать пригодным для контроля качества фармацевтических препаратов на его основе. Преимуществами данного метода являются снижение трудоемкости и финансовых затрат при выполнении исследования, сокращение продолжительности анализа, высокие воспроизводимость и точность результатов.

METHOD FOR DETERMINATION OF AMPICILLIN IN THE REACTION WITH PHOSPHOMOLYBDIC ACID

Gribanov GA, Kostyuk, NV, Fedorova EV
GOW Tver State University,
170100, Tver, Zhelyabova 33

To date, designed a sufficiently large number of methods for the quantitative determination of ampicillin, suitable for quality control of pharmaceuticals based on it. Extensive use of existing methods is limited to a number of common deficiencies. Titrimetric methods require time-consuming, spectroscopic methods require expensive or rare reagents and instruments. We have developed a method of colorimetric determination of ampicillin based on the color reaction with phosphomolybdic acid. Formed during the interaction of blue oxides have two absorption maxima in the visible region: a narrow peak in the violet region (around 370 nm) and wide — in the red region (700-750 nm range). For the purposes of quantitative analysis is preferable to use long-wavelength absorption maximum. The formation of reaction products is greatly accelerated by heating. Reduce the incubation time and to complete the reaction can be boiling samples for 5 minutes. Evolving with the color is stable for more than 2 hours. The linear dependence of extinction on the concentration of the antibiotic remains in the content of the sample from 0.01 to 0.15 mg. The results obtained using our proposed method and by iodometric titration,recommends of State Pharmacopoeias in good agreement, but the reproducibility of the colorimetric method above. The presence of the sample components of nutrient media, with weak reducing properties (sucrose, amino acids), the analysis did not significantly affect.

Propose a method for the colorimetric determination of ampicillin, it is possible for quality control of pharmaceuticals based on it. The advantages of this method consist in reduced labor, and financial expenditure, shorten the duration of the analysis, high reproducibility and accuracy of results.

ВЛИЯНИЕ ЛИПИДОВ СРЕДЫ НА ОБРАЗОВАНИЕ ХОЛЕСТЕРОЛОКСИДАЗЫ

Колодязная В.А., Топкова О.В., Котова Н.В.
ГБОУ ВПО Санкт-Петербургская государственная Химико-Фармацевтическая академия,
СПб ул. Профессора Попова д.14

Ведущим фактором риска в атеросклеротическом процессе является гиперхолестеринемия или повышенное содержание богатых холестерином липопротеидов. Возможность использования микробной холестеролоксидазы в качестве диагностического средства холестерина в крови ставит задачу разработки технологии получения этого фермента.

Объектом исследования служил продуцент холестеролоксидазы *Streptomyces lavendulae* штамм ВКМ А-84ОД.

Проведенными исследованиями установлено, что холестеролоксидаза локализована в периплазматическом пространстве клеток стрептомицета. Полученные результаты свидетельствуют о том, что для повышения выхода целевого продукта на стадии ферментации следует подбирать условия культивирования, позволяющие максимально увеличить биомассу клеток продуцента с сохранением в них холестеролоксидазной активности.

В работе определяли количественный и качественный состав липидов мицелия при выращивании продуцента на питательных средах с различными источниками органического азота. Фракционный состав мицелия во всех вариантах оказался идентичен, что подтверждали данные тонкослойной хроматографии. Одинаков был и состав фосфолипидов. Влияние на степень распределения фермента между клеткой и окружающей средой оказывало суммарное количество липидов, накапливаемых в мицелии. Субстраты, которые стимулировали повышенное накопление липидов в мицелии продуцента, способствовали образованию преимущественно внутриклеточного фермента.

Подтверждением сделанного вывода являлись и результаты, полученные при дополнительном введении в безлипидные или с малым содержанием липидов среды липидного компонента (олеиновой кислоты, подсолнечного масла, экстрактов липидов из соевой муки). Введение липидного компонента подавляло накопление экзофермента и стимулировало накопление холестеролоксидазы в клетке.

THE INFLUENCE OF LIPIDS TO CONFORM CHOLESTEROL OXIDASE

Kolodiasnaya V.A., Topkova O.V., Kotova N.V.
SBI (State building institution) Saint-Petersburg Chemical-Pharmaceutical Academy, SPb, Professor Popov street building 14.

The leading risk factor for atherosclerotic process is hypercholesterolaemia or elevated cholesterol-rich lipoproteins. The ability to use microbial cholesterol oxidase as a diagnostic tool of cholesterol raises the challenge of developing technology for production of this enzyme.

The producer of cholesterol oxidase Streptomyces lavendulae strain VKM A-84OD was an object of study.

Conducted studies have established that cholesterol oxidase localized in the periplasmic space of cells Streptomyces. The obtained results showed that to increase the yield of the desired product at the stage of fermentation should be selected culture conditions to maximize the biomass of the producer cells with preservation of cholesterol oxidase activity in them.

The study determined the quantitative and qualitative composition of lipids in the mycelium grown on nutrient media producer with different sources of organic nitrogen. The fractional composition of the mycelium in all variants was identical to that also confirmed by thin-layer chromatography. The same was the composition of lipids. The influence on the degree distribution between the cell and the environment was the total amount of lipids accumulated in the mycelium. The substrates that stimulated increased accumulation of lipids in the mycelium of producer, promoted the formation of predominantly intracellular enzyme.

The confirmation of this conclusion were the results, obtained with the additional introduction of the lipid component in non-lipid or low lipid content of the media (oleic acid, sunflower oil, extracts of lipids from soy flour). The introduction of lipid component suppressed the accumulation of exoenzym and stimulated the accommodation cholesterol oxidase in the cell.

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРОМИЦЕТОВ ДЛЯ БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ПОЛУЧЕНИЯ ПРОТЕАЗ

Яковлева М.Б., Никитина З.К., Быков В.А.
ГНУ ВИЛАР РАСХН,
117216, Москва, ул. Грина,7
РУДН, 110000, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6.

Протеолитические ферменты микроорганизмов применяются в тех областях, где необходим гидролиз белков: косметологии, производстве моющих средств, биоконверсии отходов. Протеазы являются перспективными медицинскими препаратами. Получение их из животных тканей ограничено малым содержанием, однако возможно получение протеаз используя микроорганизмы. Целью данной работы была оптимизация условий культивирования микромицетов для получения различных протеаз.

Исследована способность лизировать коллаген у 15 видов дейтеромицетов, относящихся к родам *Penicillum, Aspergillus, Cladosporium, Phialophora* при поверхностном культивировании. На основании определения скорости роста колоний, зон лизиса коллагена и вычисления величин индекса лизиса был отобран микромицет *Penicillum chrysogenum.* Исследовалось влияние количества (5, 7 и 10% объемных) двухсуточного вегетативного посевного материала на рост, уровень активности экскретируемых коллагеназ и протеиназ при глубинном культивировании *P.chrysogenum.* Вегетативный посевной материал выращивали на стандартной среде Чапека. Затем культуру вносили в модифицированную питательную среду с заменой 3% сахарозы на 2% коллагена. Количество белка, общую и удельную коллагенолитическую и протеолитическую активность определяли на этапах роста (от3 до 10 сут). Наибольшее количество биомассы накапливалось в варианте с использованием 7% мицелия. Максимальная протеиназная активность *P.chrysogenum* обнаружена в опыте с 5% вегетативного посевного материала. Уровень коллагеназной активности *P.chrysogenum* был наиболее высоким на 6 сут роста с использованием того же количества посевного материала. Употребление 2-ух суточного вегетативного мицелия в качестве инокулюма дает значительные преимущества для секреции коллагеназ и протеиназ *P.chrysogenum* по сравнению со споровым материалом. Установлена возможность регуляции уровня синтеза протеиназ и коллагеназ дейтеромицета путем внесения различных количеств инокулюма.

THE OPTIMIZATION OF MICROMYCETES CULTIVATION CONDITIONS FOR BIOPHARMACEUTICAL OBTAINING PROTEASES

Yakovleva M.B., Nikitina Z.K., Bykov V.A.
VILAR, 117216, Moscow, Green st., 7
RUDN, 110000, Moscow, Miklukho-Maklay st., 6

The application of microorganisms photolytic enzymes is in different fields where proteins be hydrolyzed, such as cosmetics, detergent and leather industry, waste of bioconversion. Proteases are the promising drags for therapy. This production from animal tissue is limited by the insufficient contents, however there is possibility of production of proteases by various microorganisms. The aim of this study was the optimization of micromycetes cultivation conditions for biopharmaceutical obtaining proteases.

The capability of hydrolyzing collagen was studied in 15 species micromycetes of the genera *Penicillum, Aspergillus, Cladosporium, Phialophora* by surface cultivation. The micromycetes *Penicillum chrysogenum* was take on base its growth rate, collagens zone of lysis and index lysis.

The influence of quantity (5, 7 and 10% volume) two-days of vegetative sowing material was investigated in work on growth, level activity of extracellular collagenase and protease from submerged cultivation *P. chrysogenum*. The vegetative sowing material cultivated on standard medium Chapek. Then mycelium transfer in modification nutrient medium with substitution sucrose on 2% collagen. The quantity of proteins, general and specific of collagenolytic and proteolytic activity was investigate in test (from 3 till 10 days).

The most quantity biomass was in variant with 7% mycelium. The maximum protease activity *P. chrysogenum* was discovered in experiments with 5% vegetative sowing material. The level of collagenase activity *P. chrysogenum* was more high on 6 day growth with use the same quantity of vegetative sowing material. The 2 day vegetative mycelium used in quality inoculums broth more advantage for secretion of collagenase and protease *P. chrysogenum* in comparison of spore material.

The level of synthesis of protease and collagenase of micromycetes may be place of regulation introduce of different quantity inoculums.

АВТОМАТИЗИРОВАННЫЙ МОНИТОРИНГ ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В СООТВЕТСТВИИ С ТРЕБОВАНИЯМИ GMP

Попов А.Ю.
ООО «Эй Пи Интернэйшнл»,
www.biofermenter.ru

Современные требования GMP к биотехнологическому производству лекарственных средств предполагают применение эффективного контроля производственного процесса. Под этим понимается непрерывный мониторинг всех критических технологических операций в режиме реального времени и своевременное устранение всех выявленных отклонений технологических параметров от установленных пределов. Практика ведущих мировых фармацевтических компаний показывает, что наилучший результат достигается в том случае, когда на предприятии создается автоматизированная система управления производственным процессом. Частью такой системы является непрерывный автоматизированный мониторинг технологических параметров на всех критических этапах производства, сбор, обработка и визуализация полученной информации с помощью специализированного программного обеспечения программного обеспечения SCADA, внесение управляющих воздействий в технологический процесс в автоматическом режиме по команде персонального компьютера и документирование всех действий. На российском рынке, услуги по созданию автоматизированных систем управления и мониторинга технологических процессов биофармацевтических производств, предлагает латвийская фирма BTC, имеющая большой опыт реализации таких проектов в странах Европейского Сообщества. Более подробную информацию об этом можно найти на сайтах www.biofermenter.ru и www.btc-automation.lv.

AUTOMATED MONITORING OF MANUFACTURING BIOTECHNOLOGICAL PROCESS IN TERMS OF GMP REQUIREMENTS

Popov Alexey
AP International Ltd.,
Prospect Vernadskogo, 86,
Moscow, 119571, Russia

Current GMP requirements for biotechnological manufacturing are understood application of the manufacturing process effective control. It means online monitoring of any critical process steps and elimination of any process parameters deviations from defined limits. The practice of best pharmaceutical companies shows that the best result could be got in case of application of manufacturing process automated control system. Automated online monitoring of process parameters with application of SCADA software and with corrective actions in case of deviations occurred is a part of the system. BTC is Latvian company, which suggests the portfolio of service and equipment for process automation in Russian market. The company has good experience of such projects performance in the countries of European Community. For more information visit web sites www.biofermenter.ru and www.btc-automation.lv.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФРАКЦИОННОЙ КРИСТАЛЛИЗАЦИИ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ И ОЧИСТКИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Попов Д.А., к.т.н.
ООО «Эй Пи Биосистемы»,
popovdmitri@mail.ru

Регулирующие органы во всем мире (FDA, EMEA, др.) предъявляют все более высокие требования к качеству готовых лекарственных средств и фармацевтически активных субстанций (ФАС).

Одним из методов получения высокоочищенных ФАС является кристаллизация. Фракционная кристаллизация довольно широко используется в фармацевтической промышленности для выделения из реакционных смесей субстанций, получаемых с помощью органического синтеза. Перекристаллизация выделенных таким образом веществ, применяется для их очистки.

В последнее время кристаллизация получает все большее применение для выделения и очистки пептидов, полученных органическим синтезом.

Другим перспективным направлением применения фракционной кристаллизации является выделение продуктов биотехнологического синтеза с целью получения биологически активных препаратов различного назначения. Сочетание различных методов фракционной кристаллизации и перекристаллизации позволяет получать ФАС высокой степени чистоты.

Более подробную информацию смотреть на сайте www.biofermenter.ru.

USE OF FRACTIONAL CRYSTALLIZATION FOR ISOLATION AND CLEARING OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES

Popov D.A., PhD
AP Biosystems Ltd.,
popovdmitri@mail.ru

Regulating bodies all over the world (FDA, EMEA, other) make higher and higher demands to quality of finished pharmaceutical products and pharmaceutically active substances (FAS).

One of producing methods of highly purified FAS is crystallization. Fractional crystallization is widely enough used in pharmaceutical industry for isolation from reactionary mixes of the substances received by means of organic synthesis. Recrystallization of isolated substances is applied to their clearing.

Recently crystallization receives increasing application for isolation and clearing of the peptides received by organic synthesis.

Other perspective direction of application of fractional crystallization is isolation of products of biotechnological synthesis for the purpose of producing of biologically active preparations of different purpose. The combination of various methods of fractional crystallization and recrystallization allows to obtain FAS of high degree cleanliness.

For more detailed information look www.biofermenter.ru website.

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ВАКУУМНОГО ОБЕЗВОЖИВАНИЯ ТЕРМОЛАБИЛЬНЫХ БИООБЪЕКТОВ

Семенов Г.В., Булкин М.С., Буданцев Е.В., Булкина П.А.
ФГБОУ ВПО "Московский государственный университет пищевых производств",
125080 Москва, Волоколамское шоссе, д. 11.

Удаление влаги в вакууме в щадящих температурных режимах при давлениях ниже давления тройной точки воды фазовым переходом «лед – пар» (сублимацией) из предварительно замороженных объектов обеспечивает высокий уровень сохранности исходных свойств продукта. При производстве сухих легкорастворимых антибиотиков, бактерийных и вирусных препаратов, заквасок и ферментов, кисломолочных продуктов, БАДов и т.п., сублимационная сушка пока не имеет альтернативы. Обезвоживание таких объектов производится только в условиях кондуктивного теплоподвода в небольших стеклянных емкостях — флаконах, ампулах. Исключительно важное влияние на длительность процесса, и как следствие, на затраты при производстве сухих биобрепаратов оказывают условия теплопередачи в зоне контактирования дна емкости с объектом сушки и греющей поверхностью.

В рамках наших исследований предложена методика расчета продолжительности сублимационного обезвоживания при кондуктивном энергоподводе с учетом условий контактирования стеклянных емкостей с биообъектом и греющей поверхностью; на ее основе проведены сравнительные расчеты скорости движения границы фазового перехода при различных условиях контактирования с греющей поверхностью. Экспериментальные исследования показали, что в условиях промышленного производства совокупный эффект влияния увеличения продолжительности реального процесса сушки в сопоставлении с расчетными значениями применительно к идеализированным условиям в фармпроизводствах составляет порядка 20-30%. Предложен комплекс рекомендаций и технических решений по улучшению условий контактирования объектов теплообмена, который позволил в целом сократить время цикла сублимационной сушки на 22%.

Работа выполнена в рамках гранта Президента Российской Федерации в поддержку молодых российских ученых № МК-4707.2012.4.

PERFECTION OF TECHNOLOGY OF VACUUM DEHYDRATION OF THERMOLABILE BIOOBJECTS

Semenov G.V., Bulkin M.S., Budantsev E.V., Bulkina P.A.
Moscow state university of food manufactures,
125080 Moscow, Volokolamsk highway, 11.

Moisture removal in vacuum in sparing temperature modes at pressure below pressure of a threefold point of water «ice – steam» (sublimation) from preliminary frozen objects provides with phase transition high level of safety of initial properties of a product. By manufacture of dry readily soluble antibiotics, bacteritic and virus preparations, ferments and enzymes, sour-milk products, BUDS, etc., freeze drying has no alternative now. Dehydration of such objects is made only in conditions conductive heat supply in small glass capacities — bottles, ampoules. All-important influence on duration of process, and as consequence, on expenses by manufacture dry biopreparation heat transfer conditions in a contact zone a bottom of capacity with object of drying and a heating surface render.

Within the limits of our researches the freeze dry duration design procedure is offered at conductive heat supply taking into account contact conditions glass capacities with bioobject and a heating surface; on its basis comparative calculations of speed of movement of border of phase transition are carried out under various contact conditions with a heating surface. Experimental researches have shown that in the conditions of industrial production the aggregate effect of influence of increase in duration of real process of drying in comparison to settlement values with reference to idealized conditions in pharmaceutical manufactures makes an order of 20-30%. The complex of recommendations and technical decisions on improvement of contact conditions objects of heat exchange which has allowed to reduce as a whole cycle time freeze drying to 22% is offered.

Work is executed within the limits of the grant of the President of the Russian Federation in support of young Russian scientists № МК-4707.2012.4.

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВАКУУМНОЙ СУШКИ ТЕРМОЛАБИЛЬНЫХ МАТЕРИАЛОВ

Семенов Г.В.[1], Меламед Л.Э.[2], Буданцев Е.В.[1], Тропкина А.И.[2]
[1]*МГУ пищевых производств,*
125080, г. Москва Волоколамское шоссе, д.11
[2]*ЗАО «Атомэнергомаш»,*
109147, г. Москва Воронцовская ул., д. 23

Изучаемый процесс представляет собой последовательность трех этапов термообработки материалов – вакуумное выпаривание, самозамораживание и сублимация. Разработана физико-математическая модель всего процесса. Модель включает уравнения теплопроводности и диффузии (с учетом подвижных границ, конвекции и тепловыделения).

Проведена аналитическая и численная реализация модели. Численная реализация основана на методе конечных элементов, представляющем в данном случае полуслабую вариационную формулировку исходной задачи, и методе Галеркина. Нестационарная трехмерная модель разработана и опробована на основе программного комплекса Comsol Multyphisics. В связи с наличием в процессе движущейся границы фазового перехода применялась подвижная

расчетная сетка. Аналитически рассмотрена квазистационарная, основная часть процесса. Это рассмотрение привело к получению конечного соотношения, связывающего между собой текущее время процесса и координаты границ фазового перехода во всех рассматриваемых физических этапах процесса. На модели проведено изучение взаимосвязей между этапами технологического процесса, их влияния друг на друга, с целью улучшения качества конечного продукта, повышения производительности процесса обработки и снижения общих энергозатрат. Предложена новая расчетная модель процесса вакуумного выпаривания, включающая фазовый переход на подвижной границе. Предложенная модель была проверена экспериментально на специально. сконструированном экспериментальном стенде для изучения процессов вакуумного обезвоживания в широком диапазоне давлений.

Предлагаемые подходы и методы могут быть использованы для расчета и анализа процессов обработки материалов также и в других отраслях промышленности.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ) – проект № 10-08-00628-а.

MATHEMATICAL AND EXPERIMENTAL RESEARCH OF VACUUM DEHYDRATION OF THERMOLABILE MATERIALS

Semenov G.V.[1], **Melamed L.E.**[2], **Budantsev E.V.**[1], **Tropkina A.I.**[2]
[1]*Moscow State University of Food Manufactures,*
125080, Moscow, Volokolamskoe av.11
[2]*ZAO «Atomenergomash»,*
109147, Moscow, Vorontsovskaj str.23

The examined process represents the sequence of three stages of material thermal treatment — vacuum evaporation, self-freezing and sublimation. The physical-mathematical model of all the process is developed. The model consists of heat transfer and diffusion equations (subject to movable boundaries, convection and heat generation processes).

The analytical and numerical realization of the model was done. The numerical realization is based on the finite element method representing in this case the half — weak variation formulation of initial problem, and Galerkin's method. The unsteady three-dimensional model is realized on the base on the program complex Comsol Multyphisics. In connection with existence in the process the moving boundary of phase change it was used the movable mesh. The main quasistationary part of the process is considered analytically. This consideration resulted in generation of the final relation connecting the present process time and coordinations of phase change boundary in every examined physical stage of the process. Using the model it was carried out the examination of interconnections between technological process stages, it's each other influence, with the purpose of improving of finite product quality, increasing of process productivity and decreasing of all power inputs. It was suggested the new calculation model of vacuum evaporation including phase change of the movable boundary. The suggested model was tested experimentally using the special constructed test bench for research of vacuum dehydration processes under wide range of pressure.

The suggested methodology and methods may be also used for simulation and analysis of the process of material treatment in different branches of industry.

The research was carried out using the financial support of Russian Fund of Fundamental Research (RFFI) – the project № 10-08-00628-a.

РАЗРАБОТКА НОВОГО БИОРЕАКТОРА ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА

Винаров А.Ю., Соколов Д.П., Смирнов В.Н., Ковальский Ю.В.
ОАО «ГосНИИсинтезбелок»
109004, г. Москва, ул. Александра Солженицына, 27
vinarov@hotmail.com

Процессы культивирования клеток животных и человека широко используют для продуцирования разнообразных биопрепаратов, в т.ч. таких как вакцины и рекомбинантные белки; для нужд здравоохранения при производстве искусственных тканей, используемых в лечении человеческих ран; для экспериментальных исследований; в токсикологии in vitro; для скриннинга и тестирования новых лекарств. Культивирование осуществляют в биореакторах, обеспечивающих рост клеток в виде монослойной пленки, применяя различные внутренние устройства. Нами проведен анализ основных применяемых для данных процессов биореакторов, в т.ч.: роллерного типа, с микроносителями, с полыми волокнами и предложено новое техническое решение биореактора.

Проведен теоретический анализ и расчет основных параметров нового биореактора, на примере аппарата объемом 20 л, показавшие его преимущества перед известными биореакторами. Разрабатываемый биореактор обеспечит в 3-4 раза большую удельную поверхность выращивания клеток и количество клеточной массы относительно объема дорогостоящей питательной среды; обеспечит достаточную скорость транспорта компонентов питания и кислорода к выращиваемым клеткам; исключит механическое и гидродинамическое повреждение и гибель клеток в процессе их культивирования. При этом, разрабатываемый биореактор легко масштабируется и удобен в эксплуатации.

ELABORATION OF A NEW BIOREACTOR FOR CULTIVATION OF ANIMAL AND HUMAN CELLS

Vinarov A.Yu., Sokolov D.P., Smirnov V.N., Kowalskiy Yu.V.
«GosNIIsintezbelok»
109004, Moscow, ul. Alexander Solzhenitsyn, 27
Vinarov@hotmail.com

The processes of animal and human cells cultivation are widely used for producing various biological products, including such as vaccines and recombinant proteins, for health care in the manufacture of synthetic fabrics used in the treatment of human wounds for experimental research; in toxicology in vitro; for screening and testing of new drugs. Cultivation is carried out in bioreactors, ensuring the growth of cells in a monolayer film, using various internal devices. We carry out the analysis of the main types of bioreactors applied to given processes, including widely applied devices such as a shake flask, with a large number of titanium disks with plastic ribbons, with hollow fiber elements , a roller-apparatus, bioreactor with micro-carriers with a diameter of 100 ÷ 300 microns and proposed a new technical solution to the bioreactor.

The theoretical analysis and calculation of the basic parameters of the new bioreactor, on an example of the device in volume of 20 l showing its advantages over the known bioreactors is carried out. Elaborated bioreactor provides: in 3-4 times more specific surface area of growing cells and cell mass with respect to the expensive medium volume; sufficient rate of mass-transfer of nutrient components and oxygen to growing cells ; an exception of mechanical and hydrodynamic damages of cells during their cultivation. Thus, the developed bioreactor is easily scaled and is convenient in operation.

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ДРОЖЖЕЙ PHAFFIA RHODOZYMA НА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ, ПРИГОТОВЛЕННОЙ ИЗ КОМПОНЕНТОВ БАРДЫ, И МОДЕЛЬНОЙ СРЕДЕ, АНАЛОГИЧНОЙ КИСЛОТНОМУ ГИДРОЛИЗАТУ ДРЕВЕСИНЫ

Захаров З.В., Мельникова Е.В., Герман Л.С.
Московский Государственный Университет Инженерной Экологии,
105066, г. Москва, ул. Старая Басманная, д. 21/4

Одним из перспективных направлений в решении проблемы несбалансированности корма сельскохозяйственных животных является добавление белково-витаминных добавок, основой которых может являться биомасса дрожжей Phaffia rhodozyma – продуцента каротиноида астаксантина. Целью представленной работы явилась оптимизация питательной среды, приготовленной из компонентов барды, и модельной среды, аналогичной кислотному гидролизату древесины. В первом случае произведена замена кукурузного экстракта на кислотный гидролизат биомассы спиртовых дрожжей. Источником углерода являлся ферментолизат крахмала. Для определения оптимальной степени гидролиза белка для продуцента астаксантина использовалось математическое планирование эксперимента – план второго порядка (эксперимент для четырех факторов на четырех уровнях). Полученные результаты показали, что продуцент астаксантина способен употреблять в качестве органического азота гидролизаты спиртовой биомассы. При этом достаточно проводить гидролиз белка спиртовых дрожжей до пептидов, содержащих 3-5 аминокислот. Во втором случае объектом исследования явилась модельная среда, аналогичная кислотному гидролизату древесины, содержащая ксилозу, арабинозу и глюкозу в качестве источника углерода. Источником органического азота являлся кукурузный экстракт. Эксперименты на колбах показали, что наибольший выход биомассы и астаксантина наблюдается при добавлении к смеси ксилозы и арабинозы 2% глюкозы. Таким образом, полученные результаты могут являться предпосылкой для создания производства биомассы астаксантинсинтезирующих дрожжей Phaffia rhodozyma на основе отходов спиртового производства и отходов деревообрабатывающей промышленности.

YEAST PHAFFIA RHODOZYMA FERMENTATION USING DISTILLERY WASTE AND MODEL MEDIUM AS ANALOGUE OF ACID WOOD HYDROLYZATE

Zakharov Z.V., Melnikova E.V., German L.S.
Moscow State University of Environmental Engineering
105066, Moscow, Old Basmannaya str., 21/4

Protein-vitamin additives use in farming is one of the most perspective direction in unbalanced feed problem solution. Yeast Phaffia rhodozyma biomass – carotenoid astaxanthin producer – could be base of similar feed. This study is directed to optimize nutrient medium contained distillery waste and model medium as analogue of acid wood hydrolyzate components. First there was used distillers' yeast acid hydrolyzate as a source of growth factor. Starch fermentolyzate was a source of carbon. Optimal protein hydrolysis degree was detected by mathematic experimental design – experiment for four factors on four levels. Results showed that astaxanthin producer is able to utilize distillers' yeast hydrolyzate as source of organic nitrogen. Besides hydrolysis of distillers' yeast protein down to peptides, contained 3-5 amino acids, was proved to be enough. In the second case there was used model medium as analogue of acid wood hydrolyzate contained xylose, arabinose and glucose. Maize extract was a source of organic nitrogen. The experiments in flasks showed that the largest biomass and astaxanthin yield was observed in 2% glucose presence in xylose and arabinose mixture. Thereby results of the study could be precondition for foundation astaxanthin-synthesis yeast Phaffia rhodozyma biomass production on medium included ethanol production wastes and woodworking industry wastes.

СЕКЦИЯ 10 «ПОДГОТОВКА КАДРОВ»
SECTION 10 «TRAINING (INCLUDING POSTGRADUATE EDUCATION)»

КРУГЛЫЙ СТОЛ «БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЕ ОБРАЗОВАНИЕ И БОЛОНСКИЙ ПРОЦЕСС»
SEMINAR «BIOTECHNOLOGY EDUCATION AND BOLOGNA PROCESS»

РОЛЬ НАУЧНО-ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ ЦЕНТРОВ В ПОДГОТОВКЕ БУДУЩИХ КАДРОВ ДЛЯ НАУКИ И ПРАКТИКИ В ОБЛАСТИ ФАРМАЦЕВТИКИ И БИОТЕХНОЛОГИИ

Карабинцева Н.О., Голубева И.А., Трошкова Г.П., Клепикова С.Ю.
ГБОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет Минздрасоцразвития России, 630091, Новосибирск, Красный проспект, 52

В эпоху бурного развития фармацевтики, био- и нанотехнологий сложилась пародоксальная ситуация. За последние годы резко сократилось количество лиц в молодом продуктивном возрасте, занятых в научно-производственной сфере, нарушился ритм воспроизводства кадров, преемственности поколений в науке и производственной сфере. В то же время сформировалась потребность в молодых высококвалифицированных кадрах в области разработки и производства новых лекарственных препаратов.

В связи с этим в Новосибирском государственном медицинском университете была начата подготовка специалистов для ФБГУН ГНЦ ВБ «Вектор» из числа студентов фармацевтического факультета. Система подготовки заключается в выполнении студентами курсовых, дипломных работ, прохождении расширенной практики на базе ГНЦ «Вектор». Студенты активно и успешно принимают участие в студенческих научных конференциях, а также в конкурсах молодых ученых, проводимых на различных уровнях.

Оказалось, что рамок простого сотрудничества НГМУ с ФБГУН ГНЦ ВБ «Вектор» не достаточно. В настоящее время с целью повышения эффективности научных исследований, а также совершенствования процесса подготовки высококвалифицированных кадров в области фармацевтики и биотехнологии создан научно-образовательный центр (НОЦ) между НГМУ, Сибирским центром фармакологии и биотехнологии, НИИ лимфологии СО РАМН. Это позволило объединить интеллектуальные и материальные ресурсы вузовской, академической науки в этой сфере, привлечь огромный потенциал научно-производственных организаций. Участникам НОЦ – студентам и молодым ученым предоставлена возможность участия в инновационных проектах, начиная от разработки лекарственного средства и заканчивая его производством и реализацией.

ROLE OF THE SCIENTIFICALLY-EDUCATIONAL CENTERS IN TRAINING OF THE FUTURE SPECIALISTS FOR A SCIENCE AND PRACTICE IN THE FIELD OF PHARMACEUTICS AND BIOTECHNOLOGY

Karabintseva N.O., Golubeva I.A., Troshkova G.P., Klepikova S.U.
Novosibirsk State Medical University
630091, Novosibirsk, Krasniy prospect, 52

The difficult situation has developed during an epoch of rapid development of pharmaceutics, bio- and nanotechnologies. Last years the quantity of persons at the young productive age, occupied

in research-and-production sphere, was sharply reduced, the rhythm of reproduction of specialists, continuity of generations in a science and industrial sphere was broken. At the same time the requirement for young highly-skilled personnel in the field of working out and manufacture of new medical products was generated.

Novosibirsk State Medical University (NGMU) has begun training of graduates from among students of pharmaceutical faculty for The State Research Center of Virology and Biotechnology VECTOR. The educational system consists in fulfillment term papers, graduation theses by the students, as well as expanded practical training on the base of SRC "Vector". Students actively and successfully take part in student's scientific conferences, and also in competitions of the young scientists at various levels.

It has appeared that there isn't enough simple cooperation NGMU with "Vector". Today for the purpose of increase of efficiency of scientific research, and also improvement of the training process of highly-skilled personnel in the field of pharmaceutics and biotechnology the scientific-educational center (SEC) is created between NGMU, the Siberian Center of Pharmacology and Biotechnology, The Scientific Research Lymphology Institute of the Russian Academy of Medical Science. It has allowed to unite in this sphere intellectual and material resources of a high school, academic science, to involve huge potential of the research-and-production companies. A possibility of participation in innovative projects is given to students and young scientists – participants of SEC, beginning from working out of a medical product and finishing its manufacture and realizations.

30 ЛЕТ НАУЧНО-ОБРАЗОВАТЕЛЬНОМУ ЦЕНТРУ ИБХ РАН: ОПЫТ РАБОТЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ

Овчинникова Т.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова Российской академии наук
117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10; ovch@ibch.ru

Научно-образовательный центр (НОЦ) Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН) был создан в 1982 году. НОЦ ИБХ РАН был первой в стране интегрированной научно-образовательной структурой, основной целью которой было создание механизма эффективного взаимодействия академического института и ряда высших учебных заведений для повышения качества подготовки кадров в области физико-химической биологии и биотехнологии. В 1993 году решением Координационного межведомственного совета по приоритетному направлению «Науки о жизни и биотехнология» НОЦ ИБХ РАН был утвержден головной организацией в Российской академии наук по подготовке кадров в области наук о жизни и биотехнологии. Тридцатилетний опыт работы НОЦ ИБХ РАН позволяет сформулировать принципы взаимодействия академического института и высших учебных заведений для подготовки кадров, обеспечивающие максимальную координацию совместной научно-образовательной деятельности. Совместно с рядом профильных кафедр высших учебных заведений НОЦ ИБХ РАН участвует в разработке новых форм научно-образовательной деятельности, подготовке и оптимизации учебных программ, определении наиболее перспективных направлений биотехнологического образования.

Ежегодно НОЦ ИБХ РАН принимает на обучение более 250 студентов вузов. Основными партнерами НОЦ ИБХ РАН являются Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Московский физико-технический институт, Московский государственный университет тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Российский химико-

технологический университет им. Д.И. Менделеева, Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина, Московский государственный областной университет. Программа обучения студентов в НОЦ ИБХ РАН включает чтение специальных лекционных курсов, проведение больших практикумов и выполнение студенческих научно-исследовательских работ. Учебный план предусматривает значительный объем лабораторных занятий на базе НОЦ в виде спецпрактикумов по отдельным разделам биотехнологии. После прохождения курса теоретической и практической подготовки в НОЦ студенты направляются в научно-исследовательские подразделения для выполнения бакалаврских и магистерских работ. Система подготовки кадров на базе НОЦ ИБХ РАН позволяет оперативно внедрять новейшие разделы биотехнологии в учебную программу и тем самым обеспечивать опережающий характер биотехнологического образования. Ежегодно НОЦ ИБХ РАН проводит молодежные научные школы «Перспективные направления физико-химической биологии и биотехнологии». Проведение молодёжных научных школ, студенческих научных конференций, конкурсов молодых исследователей создаёт условия для закрепления талантливой молодежи в сфере науки и образования России. Разработанная в НОЦ ИБХ РАН система подготовки кадров обеспечивает достижение уровня биотехнологического образования, соответствующего международным стандартам.

ОСНОВНЫЕ ЗАДАЧИ «БОЛОНСКОГО ПРОЦЕССА» И ИХ ПРЕЛОМЛЕНИЕ ПРИМЕНИТЕЛЬНО К БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОМУ ОБРАЗОВАНИЮ В РОССИИ

Кузнецов А.Е.
Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева,
125047, Москва, Миусская пл., д. 9; ae-kuz@yandex.ru

Анализ ситуации в области биотехнологического образования, выполняемый в рамках проекта по программе Темпус «Реформа биотехнологического образования – развитие и модернизация в связи с переходом на двухступенчатую систему обучения (бакалавры и магистры)» показывает, что из всех атрибутов Болонского процесса и сопутствующих реформ наиболее проблемным для России может быть использование концепции «результатов обучения» в учебном процессе, компетентностного, студентоцентрированного подхода, поскольку данный подход требует расширения самостоятельности студента в обучении и соответствующего изменения менталитета, а также больших усилий и затрат времени преподавателя для индивидуальной работы с каждым студентом. Эти изменения невозможны в системе массового высшего образования без больших финансовых вложений в образование со стороны государства.

В ближайшее десятилетие можно ожидать роста интереса со стороны студентов и выпускников-биотехнологов из стран Евросоюза к получению образования и трудоустройству в России. Однако проблемой для России, затрудняющей развитие мобильности студентов и специалистов, может быть отсутствие широкой практики преподавания дисциплин на английском языке, отсутствие должных бытовых условий для обучающихся.

Переход на систему высшего образования, состоящую из трех образовательных уровней (бакалавриат-магистратура-докторантура) в части бакалавриата и магистратуры уже практически осуществлен. Целесообразность отмены двухступенчатой системы ученых степеней кандидата и доктора наук с полным переходом на докторантуру применительно к России представляется неясной.

В России в настоящее время существует большое число вузов с низким качеством обучения студентов, ликвидация которых может вылиться в серьезную социальную проблему, что затруднит решение задачи повышения качества высшего образования, как одной из приоритетных в Болонском процессе. Также взаимно противоречивой представляется задача

обеспечения социальной направленности высшего образования, повышения роли студенчества в осуществлении болонских реформ, участия студентов в управлении вузом на фоне желаний повысить качество подготовки выпускников. Проблема усугубляется низким уровнем подготовки основной массы абитуриентов, низким статусом естественно-научных дисциплин, инженерного и технического образования в нынешнем российском общественном сознании, в средствах массовой информации.

Развитие обучения в течение жизни (Lifelong Learning) – концепция, пока еще малознакомая для российского образовательного пространства, но элементы которой всегда присутствовали в образовательной системе СССР и России.

Введение национальной квалификационной рамки для сопоставимости квалификационных структур, понятных и сопоставимых образовательных степеней, процедуры признания степеней и периодов обучения, использования Приложения к диплому, системы зачетных единиц, перезачета зачетных единиц трудоемкости (системы накопления и переноса кредитов ECTS), модульного построения образовательного процесса, совместных программ обучения, совместных дипломов и степеней с целью формирования единого Европейского пространства высшего образования, создания единого Европейского исследовательского пространства, интеграции высшего образования и исследовательской деятельности – вопросы технически решаемые по мере продвижения и накопления опыта проведения Болонских реформ в России.

РЕАЛИЗАЦИЯ ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ ПРОЕКТОВ В РАМКАХ ПРОГРАММЫ ЕВРОСОЮЗА «ТЕМПУС»

Клаус Тройч, Чернышенко С.В.
Университет Кобленц-Ландау, г. Кобленц, Германия

История программы Темпус составляет уже более 20 лет. Поколения российских преподавателей университетов, принимавших участие в программе, не могут теперь представить свою профессиональную деятельность без Темпус-семинаров, без возможности обсудить актуальные профессиональные проблемы с коллегами и друзьями из ЕС, без возможности приобретать новый опыт в ходе деловых поездок в ЕС.

Университет Кобленц-Ландау (УКОЛД) начал свое участие в программе (в то время – Темпус II) с 1996 г., с проекта Pre-JEP «Учебное моделирование в экономике и социальных науках". Очень простая структура, только 3 партнера – такие проекты вспоминаются теперь с ностальгией. Средний размер современного консорциума Темпус – около 20 партнеров. Теперь гораздо сложнее и готовить заявки, и управлять командой. Но, с другой стороны, опыт команд Темпуса вырос, и они могут достигать этих новых высот.

УКОЛД является одним из важных региональных университетов Германии. Академическая структура вуза сегодня характеризуется сочетанием мощной школы компьютерных наук с традиционными кафедрами педагогики, гуманитарных и естественных наук. Преподавание в Университете Кобленц-Ландау ориентировано, прежде всего, на формирование практических навыков. Сотрудничество с партнерами из промышленности и бизнеса имеет для УКОЛД большое значение.

Подобная тематика превалирует и в заявках университета по программе Темпус. Естественно, многие аспекты программы можно понять только в ходе личного в ней участия. В ходе более чем 15-летней работы в Темпусе УКОЛД накопил соответствующий опыт. И он всегда рад поделиться этим опытом с партнерами.

В настоящее время УКОЛД принимает участие в пяти проектах Темпус. Одним из них является проект «REHAUT: Реформа высшего образования в области биотехнологии: Развитие и модернизация

программ уровней бакалавра/магистр», который стартовал в 2010 г. и возглавляется Российским химико-технологическим университетом им. Д.Менделеева. Кроме передачи своих управленческих навыков, УКОЛД вносит вклад во внедрение в биотехнологические программы ИТ-дисциплин.

REALISATION OF EDUCATIONAL PROJECTS IN THE FRAMES OF EU PROGRAMME 'TEMPUS'

Klaus Troitzsch, Chernyshenko S.V.
Koblenz-Landau University, Koblenz, Germany

The Tempus' history lasts more than 20 years. A generation of Russian higher education teachers from universities, participated in the programme, can not image their professional activity without Tempus workshops, possibility to discuss actual professional problems with EU colleagues and friends, to collect new experience during business trips to EU.

University of Koblenz-Landau (UKOLD) started its participation in the programme (Tempus II that time) from 1996, with a Pre-JEP project "Teaching Simulation in Economics and Social Science". Very simple structure, only 3 partners – it is remembered now with nostalgia. Average Tempus consortia' size is now about 20 partners. It is much more difficult now to prepare application and to manage team. But, of cause, experience of Tempus teams has been grown also, and they can reach the new heights.

UKOLD is one of important regional German universities. The university's academic profile today is marked by a combination of Computer Science together with the traditional Departments of Education, the Humanities, and Natural Science. Research at Koblenz-Landau University is above all oriented towards practical application. The transfer of academic work through co-operation with partners from industry, commerce and administration is of great importance.

Corresponding topics are in the focus of Tempus applications of the university. Naturally, there are many aspects of the Tempus activities, which can be understood from personal experience. After more then 15 years of Tempus participation, UKOLD has accumulated corresponding experience. And it is happy to share this experience with partners.

At the moment UKOLD participates in 5 Tempus projects. One of these project is 'REHAUT: Reform of Higher Education in Biotechnology: Development and Modernization of BSc/MSc curricula', started in 2010 and leaded by D.Mendeleyev University of Chemical Technology of Russia. Additionally to using its managerial skills, UKOLD can contribute to introduction in biotechnological curricula of IT disciplines.

БОЛОНСКИЙ ПРОЦЕСС И БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЕ ОБРАЗОВАНИЕ В ЧЕШСКОЙ РЕСПУБЛИКЕ

Бровдыова Татьяна, Трегл Иосиф, Горак Петр, Неруда Мартин, Рихтер Мирослав
Факультет Окружающей среды, Университет Яна Евангелиста Пуркине, Кралова Вышина 3132/7, 400 96 Усти над Лабем, Чешская республика; tatjana.brovdyova@ujep.cz

Высшее образование в Чешской Республике (ЧР) регулируется законом № 111/1998, которым была введена трехуровневая структура Высшего образования. Систему кредитного рейтинга для оценки процесса обучения многие вузы начали использовать уже ранее. ЧР ратифицировала Болонскую декларацию в 1999 году, реализация ее принципов состоялась в 2000-2005 годах. За исключением нескольких конкретных областей образования (педагогики, медицины, юриспруденции ...) были соответственно адаптированы все учебные программы и специальности или созданы новые. Каждая учебная программа и специальность должна быть

в ЧР аккредитована аккредитационной комиссией (АК). Аккредитация действует в течение определенного срока (макс. 10 лет) и может быть продолжена.

Студенты в процессе обучения получают кредиты ECTS, один учебный год соответствует 60 кредитам. Признание дипломов и степеней, полученных в зарубежных университетах, осуществляется Министерством Образования, Молодежи и Физического воспитания ЧР на основании заключения вуза. Каждый выпускник получает двуязычное (чешско-английское) «Приложение к диплому» в соответствии с рекомендациями Берлинской конференции Министров Образования с 2003 года.

Национальные квалификационные рамки Высшего образования (Q-RAM), которые устанавливают определенный уровень знаний, навыков и компетенций выпускников вузов и колледжей, соответствуют общим рамкам квалификаций для Европейского пространства высшего образования (EHEA) и Европейской системе квалификаций для обучения в течение всей жизни (EQF).

Целенаправленная подготовка биотехнологов в ЧР осуществляется в соответствии с принципами Болонского процесса в 6 университетах. В 18 учебных программах ведется обучение по 32 специальностям, в 21 из них форма обучения дневная, в 1 – заочная, в оставшихся 11 используются обе формы. В двух программах по трем специальностям обучение ведется на английском, в остальных – на чешском. Ведущую позицию в преподавании биотехнологии занимает Пражский химико-технологический институт; это также единственный вуз в ЧР, который готовит специалистов и по Общей биотехнологии, остальные вузы специализируются в различных областях биотехнологии, в основном в агробиотехнологии и пищевой биотехнологии.

С целью развития биотехнологии и биомедицины в Вестцы у Праги создается научный центр (BIOCEV) – совместный проект Карлова университета и Академии наук.

BOLOGNA PROCESS AND EDUCATION OF BIOTECHNOLOGY IN THE CZECH REPUBLIC

Brovdyová Taťjána, Trögl Josef, Horák Petr, Neruda Martin, Richter Miroslav

Faculty of the Environment, Jan Evangelista Purkyně University in Ústí nad Labem, Králova Výšina 3132/7, 400 96 Ústí nad Labem, Czech Republic; tatjana.brovdyova@ujep.cz

Higher education in the Czech Republic is regulated by the law 111/1998 which introduced the three-level system already before ratification of the Bologna Declaration. Czech Republic was one of the original ratifying countries in 1999. Between 2000 and 2005 the principles of the declaration were implemented into higher education. Except for a few specific fields (such as medicine, pedagogy, law) all degree programs and fields of study were adapted. Currently (January 2012), the Bologna principles are fully implemented and new programs are accredited only according to them. Obligatory accreditation is granted by Accreditation Commission for limited period (up to ten years); approved prolongation is possible.

During the studies students gain the ECTS credits; one academic year equals to ~60 credits. Nostrification of subjects accomplished abroad is carried out individually by the Ministry of Education, Youth, and Sports according to recommendation of the university. Graduates gain the Czech-English diploma supplement in accordance with conclusions of the 2003 Berlin conference.

In December 2011 the national qualification framework for tertiary education (Q-RAM) was finished and it describes knowledge, skills, and competences of graduates. The Q-RAM is compatible with the competence framework in the European higher-education area and the European qualification framework for lifelong learning (EQF).

Education in biotechnology in the Czech Republic is carried out in accordance to Bologna principles. Degree programs and fields of study in biotechnology are accredited on six universities. Together there are 32 fields of study in 18 degree programs, out of them 21 in full-study, one in combined study, and 11 in both studies. Three fields are educated in English, others in Czech. Leader in biotechnology education is the Prague Institute of Chemical Technology, which is also the sole university educating in general biotechnology. Contrary other universities educate specialized branches of biotechnology; predominantly agriculture and food.

As a support for research and education the new Biotechnology and Biomedicine Center will be launched by 2015 in Vestec near Prague. The common project of Charles University and Academy of Sciences of the Czech Republic will involve top research teams as well as junior scientists. Close cooperation with business partners will facilitate application of the results.

КРАТКИЙ АНАЛИЗ СОВРЕМЕННОГО БИОТЕХНОЛОГИЧЕКОГО ОБРАЗОВАНИЯ В ГЕРМАНИИ И АНГЛИИ

Коцюрбенко О.К.[1], **Круглов В.Э.**
[1]*GeneXplain GmbH, Wolfenbüttel, Germany*
kotsor@mail.ru

Анализ системы высшего образования и ее модернизации в соответствии с принципами Болонского соглашения был проведен на примере Германии и Великобритании, лидеров в области европейской биотехнологической промышленности.

Великобритания – страна, где двухступенчатая система обучения (бакалавр/магистр) давно укоренилась, и внедрение в образовательную систему принципов Болонской декларации происходило сравнительно безболезненно, тогда как в Германии, с ее исторически сложившейся классической системой образования, такой переход потребовал привлечения значительных ресурсов и переподготовки преподавателей.

Образовательные программы по биотехнологии вышеназванных стран сильно ориентированы на индивидуальную подготовку студентов и на практическую работу, включая возможность годовой практики на британских предприятиях в середине учебной программы. В немецкой и, особенно, в британской системе высшего образования введена высокая специализация преподаваемых предметов для биотехнологов даже на уровне бакалавриата, которая в целом составляет – 180 европейских кредитных единиц (ESTC). Целевая направленность магистерской подготовки – углубленная профессиональная подготовка, построенная на принципах индивидуализированного обучения. Магистерская программа в английских вузах довольно компактна и оценивается только в 90 ESTC при ее продолжительности в 1 год, что меньше, чем в среднем по Европе, и в том числе в Германии, где программа бакалавриата оценивается в 120 ESTC. В европейских странах также намного шире и эффективнее используются современные технологии и технические средства обучения.

EVALUATION OF THE CURRENT SITUATION IN BIOTECHNOLOGICAL EDUCATION IN GERMANY AND UNITED KINGDOM

Kotsyurbenko O.R., Kruglov V.E.
GeneXplain GmbH, Wolfenbüttel, Germany
kotsor@mail.ru

Analysis of the higher education (HE) system and its modernization in accordance with the principles of the Bologna Declaration was made for Germany and United Kingdom, the leading European countries in biotechnology industry.

Great Britain is a country where two-level system of HE (Bachelor (BSc)/ Master (MSc)) has long been established. It has facilitated the introduction of the new education system based on the principles of Bologna Declaration. In Germany, with its historical classical system of education, such modernization has required significant resources and retraining of teachers.

Educational programs on biotechnology in the aforementioned countries are strongly focused on individual training of students and practical work, including the possibility for one year work in industry in the middle of the BSc programme. A high specialization of the disciplines in the curricula for biotechnologists is characteristic for German and especially for British HE system, even at the bachelor level that requires 180 ESTC-credits. The curriculum for Master (MSc) includes further specialization and based mostly on individual training of students. The MSc program in British universities is quite compact and requires only 90 ESTC-credits. Its duration is 1 year, which is less than that for most other European countries, including Germany, where the MSc programme requires 120 ESTC-credits. In European countries, modern methods and technologies for education are used more extensively and effectively.

НОВОЕ ПОКОЛЕНИЕ УЧЕБНЫХ ПРОГРАММ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ И ИХ ВЗАИМОСВЯЗЬ С КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНОЙ: ДИАГНОСТИКА, ТЕРАПИЯ, ИССЛЕДОВАНИЯ

Круглов В.Э.
Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева,
125047, Москва, Миусская пл., д. 9

Традиционные серологические методики диагностики постепенно дополняются и замещаются современными достижениями в медицинской биотехнологии, связанными с разработками универсальных диагностических биомаркеров и методик для их ранней идентификации и обработки полученных результатов. Это позволяет существенно расширить возможности поточной (stream screening) ранней клинической лабораторной диагностики паразитологических и инфекционных заболеваний, а также диагностики в хронических стадиях. Отдельным перспективным направлением медицинской биотехнологии является внедрение универсальных буферных биомаркеров в современные методы диагностики онкологических и очагово-воспалительных процессов, посредством выделения с помощью нанофильтров форменных элементов из лейкоцитарной фракции крови, с последующим введением радиоактивных меток ультракороткоживующими (ultra short living) радиоизотопами.

В рамках нового курса по медицинской биотехнологии предлагается учебная программа, которая позволит дать преставление о современных научных и клинических диагностических разработках в этой области, а также сформировать виртуальную платформу для систематизации и популяризации предлагаемых технологий для непрерывного повышения квалификации медицинских сотрудников. Данная платформа будет способствовать обеспечению прямого

контакта с производителями диагностического оборудования и с их образовательными ресурсами, в том числе на базе их дистанционных образовательных учебных программ (E-Learning). Подобный подход в учебном процессе позволит выработать широкое преставление о современных методах мульти-димензиональной диагностики различных заболеваний и непрерывно повышать свою квалификацию в соответствующих направлениях для последующего использования в клинической/амбулаторной практике (Long-Life-Learning).

NEW EDUCATIONAL PROGRAMS IN MEDICAL BIOTECHNOLOGY, AND THEIR INTERRELATION WITH CLINICAL MEDICINE: DIAGNOSTICS, THERAPY AND RESEARCH

Kruglov V.E.
D. Mendeleyev University of Chemical Technology of Russia,
125047, Moscow, Miusskaya sq., 9, Russia

Traditional serological methods of diagnosis are gradually supplemented and replaced by modern advances in medical biotechnology. They are the development of universal diagnostic biomarkers and methods of their early identification and processing of results. This enables to improve the possibilities of stream screening early clinical diagnostics of parasitologic and infectious diseases, as well as the diagnosis in the chronic stage. A special perspective direction in medical biotechnology is the use of universal buffer biomarkers in modern methods of diagnosis of cancer and focal inflammatory processes. The technique is based on extraction of formed elements of the leukocyte fraction of blood by means of nanofilters, followed by radioactive labeling with ultra short living isotopes.

A new curriculum in medical biotechnology is proposed, which gives the overview on state of the art in modern scientific and clinical diagnostic developments in the aforementioned area. The curriculum also creates a virtual platform for managing and promoting the proposed technologies for advanced training of medical staff. This platform should help to ensure direct contact with manufacturers of diagnostic equipment and their educational resources, including those based on their distance educational training programs (E-Learning). A similar approach in teaching should contribute to comprehensive understanding of modern methods in multi-dimensional diagnosis of various diseases as well as continuously improve the skill of staff for its application in clinical/ outpatient practice (Long-Life-Learning).

ОРГАНИЗАЦИЯ СОВМЕСТНЫХ ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ ПРОГРАММ ПОДГОТОВКИ МАГИСТРОВ ТВЕРСКИМ ГОСУДАРСТВЕННЫМ ТЕХНИЧЕСКИМ УНИВЕРСИТЕТОМ И ABO AKADEMI UNIVERSITY

Сульман Э.М., Матвеева В.Г., Сульман М.Г., Демиденко Г.Н., Прутенская Е.А.
Тверской государственный технический университет, г. Тверь, наб. Никитина, 22

Одним из перспективных направлений сотрудничества России со странами Евросоюза является реализация международных проектов по созданию региональных пилотных зон по «гармонизации» систем высшего образования. Данные предложения находятся в русле инициатив Европейского союза в сферах высшего образования и науки, в частности Болонской декларации и Европейского пространства высшего образования.

С 2000 года в Финляндии стало появляться все больше международных образовательных программ с преподаванием на английском языке, которых сейчас насчитывается около 400. Многие из этих программ базируются на достижениях в области науки, техники и образования, благодаря

которым Финляндия завоевала международное признание: на информационных технологиях, биотехнологии, химической технологии, лесном хозяйстве и экологии, архитектуре и дизайне. В программах отражается межуниверситетское сетевое сотрудничество с университетами стран ЕС и России. Одним из университетов, активно развивающих международное сотрудничество в области образования, является Abo Akademi University (г. Турку), основанный шведской королевой Кристиной в 1640 г.

С 2008 г. Тверской государственный технический университет на базе Института нано- и биотехнологий и кафедры Биотехнологии и химии совместно с факультетом технологии Åbo Akademi University осуществляет новую 6-летнюю международную образовательную программу в области биотехнологии. В рамках образовательной программы студенты получат базовое высшее образование с углубленным изучением английского языка и квалификацию Бакалавров техники и технологии в области биотехнологии, а затем международную степень Магистра наук в химической инженерии после обучения и защиты магистерской диссертации в Åbo Akademi University.

JOINT EDUCATIONAL PROGRAMME OF MASTERS' TRAINING OF TVER STATE TECHNICAL UNIVERSITY AND ÅBO AKADEMI UNIVERSITY

Sulman E.M., Matveeva V.G., Sulman M.G., Demidenko G.N., E.A. Prutenskaya E.A.
Tver State Technical University, Tver, A. Nikitin Emb., 22

One of the most prospective directions of Russia's cooperation with the countries of the European Union is the realization of the international projects on the foundation of regional pilot zones of the system of higher education "harmonization". These ideas are in line with the European Union initiatives in the sphere of higher education and science, Bologna declaration and "European area of higher education" in particular. Generalization and spread of the practices, the knowledge of the main achievements and prospects of the international activity development must lead to the foundation of consortia of education and research establishments which speed up internationalization of higher education and science.

Since 2000 more and more international educational programmes have been started in Finland. There are about 400 such programmes taught in English. Most of them are based on the achievements of science, engineering and education owing to which Finland won international recognition in the fields of information technologies, biotechnology, chemical engineering, forestry and ecology, architecture and design. In the programmes universities network cooperation in the EU countries and Russia is reflected. Åbo Akademi University (Turku) founded by Swedish Queen Christina in 1640 is one of the universities which actively develop international cooperation in educational sphere.

Since 2008 Tver State Technical University on the basis of the Institute of Nano- and Biotechnologies and the Department of Biotechnology and Chemistry together with the Department of Chemical Engineering has been carrying out a 6-year international educational programme in the sphere of biotechnology.

Under the programme students get basic higher education with an advanced study of English and a Bachelor's degree in engineering (Biotechnology) and then a degree Master of Science in Technology (chemical engineering) after training and defending the thesis in Åbo Akademi University.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ВЫСШЕЙ ШКОЛЫ, АКАДЕМИЧЕСКИХ ИНСТИТУТОВ И ИНДУСТРИИ: ПРИМЕР БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО КЛАСТЕРА НОВОСИБИРСКА

Жарков Д.О.[1,2], **Нетёсов С.В.**[1]

[1]*Новосибирский государственный университет, 630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, д. 2.*
[2]*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, 630090, г. Новосибирск, пр-т. Академика Лаврентьева, д. 8.*

Новосибирский национальный исследовательский государственный университет (НГУ) – один из ведущих российских вузов, занимающийся подготовкой кадров для фундаментальной науки и высокотехнологичной индустрии. Подготовка выпускников, которые затем могут трудоустроиться в области биотехнологии, ведется на факультете естественных наук НГУ по двум специальностям, «химия» и «биология», в основном на кафедрах молекулярной биологии, цитологии и генетики, органической химии и химии окружающей среды. Подавляющее большинство студентов выполняет дипломную работу (с переходом на двухуровневую систему обучения – магистерскую диссертацию) в учреждениях Новосибирского научного центра СО РАН, Новосибирского научного центра СО РАМН и Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор». В Новосибирске и Новосибирской области, кроме того, насчитывается несколько десятков предприятий, производящих наукоемкую продукцию биотехнологического профиля, которые заинтересованы в приеме на работу выпускников НГУ. Ежегодно на базе НГУ проводятся две научно-практические студенческие конференции: Международная конференция «Студент и научно-технический прогресс» и Международная экологическая студенческая конференция, на которых представляются студенческие проекты, в том числе в области биотехнологии. Для удовлетворения потребностей биотехнологического кластера Новосибирска, а также предприятий Сибири и ближнего зарубежья, ведется подготовка к открытию в НГУ направления подготовки «Биотехнология» с программой, отвечающей требованиям Болонского процесса.

INTERACTION OF UNIVERSITIES, ACADEMIC INSTITUTES, AND INDUSTRY: A CASE OF NOVOSIBIRSK BIOTECHNOLOGY CLUSTER

D.O. Zharkov[1,2], **S.V. Netesov**[1]

[1]*Novosibirsk State University, 2 Pirogov St., Novosibirsk 630090, Russia*
[2]*SB RAS Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, 8 Acad. Lavrentiev Ave., Novosibirsk 630090, Russia.*

Novosibirsk National Research State University (NSU) is one of the leading Russian universities preparing students for work in academic science and high-tech industry. Graduates who are competitive in the field of biotechnology are educated at the NSU School of Natural Sciences, majoring in Chemistry or Biology in the Department of Molecular Biology, Dept. of Cell Biology and Genetics, Dept. of Organic Chemistry, and Dept. of Environmental Chemistry. Nearly all students do their diploma research (or Master thesis research after the transition to B.S./M.S. curriculum) in the institutes of SB RAS Novosibirsk Scientific Center, SB RAMS Novosibirsk Scientific Center, and State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector". In addition, the city of Novosibirsk and Novosibirsk Region are home to numerous biotechnology-related businesses that are interested in employing NSU graduates. NSU organizes two yearly student research and technology conferences, the International Student Research Conference "Students and Progress in Science and Technology" and the International Student Conference in Environmental Sciences, which serve as a launch pad for many students' innovative projects, including those in biotechnology. To satisfy the needs of the Novosibirsk

biotechnology cluster and enterprises of Siberia and former CIS countries, NSU is preparing to open a program in Biotechnology, compatible with the standards of the Bologna Process.

РЕАЛИЗАЦИЯ В АСТРАХАНСКОМ ГОСУДАРСТВЕННОМ УНИВЕРСИТЕТЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО ПРОЕКТА «САМООБУЧАЮЩИЙСЯ УНИВЕРСИТЕТ» НА ОСНОВЕ ПРИНЦИПОВ СИСТЕМЫ БЕРЕЖЛИВОГО ПРОИЗВОДСТВА

Егоров М.А.
Астраханский государственный университет
414056, г. Астрахань, ул. Татищева 20а

Идея проекта – объединить образовательные технологии в университете с системой непрерывного обучения согласно принципам бережливого производства, изложенным в книге Дж. Лайкера «Дао Тойота» (Лайкер, 2005) и с элементами «болонской» образовательной системы. Современное обучение может быть эффективным, если оно носит интегральный характер, затрагивая методологию из разных систем знаний. Опыт преподавания в университете, а также интенсивно накапливаемые нами знания регулярной образовательной и научной деятельности в ряде европейских университетов и компаний и образовательные технологии в области бережливого производства стали основой для разработки и внедрения в образовательную деятельность Астраханского государственного университета (АГУ) проекта «Самообучающийся университет». Важным стимулом для внедрения и развития в университете проекта оказалось открытие нами несколько лет назад и успешно реализуемой совместной аспирантуры АГУ с университетом Ca' Foscari (г. Венеция, Италия) по специальностям: биотехнология, химия, защита окружающей среды. Это привело нас к необходимости не только существенно улучшать с помощью проекта языковую подготовку аспирантов и сотрудников, но и осваивать целый комплекс дисциплин по смежным научным направлениям. Структура проекта складывается из нескольких образовательных программ, ориентированных как на сотрудников, так и на студентов. Проект вовлекает в образовательный процесс преподавателей, ведущих занятия; преподавателей, сотрудников из различных подразделений вуза, обучающихся в реальных студенческих группах (назовем их «студенты»), и собственно студентов, интересующиеся системой «бережливого производства». Механизмы проекта для сотрудников и преподавателей вуза включают выбор дисциплины для обучения в течение семестра в качестве «студентов» – с обучением в реальных студенческих группах в течение одного семестра и затем сдачи зачета (экзамена и т.д.) согласно требованиям учебной программы выбранной дисциплины. Согласно образовательной программе для студентов в рамках проекта предусматриваются практики в различных подразделениях университета, обучение по дисциплине «Бережливое производство» и возможность дополнительного обучения по выбранным дисциплинам в других студенческих группах. Благодаря реализуемому в вузе проекту отмечено: повышение ответственности, качества проведения занятий преподавателями, приобретение новых необходимых знаний преподавателями и сотрудниками из различных подразделений – «студентами», находившимися в «центре» образовательного процесса; дисциплинирование студентов в группах (вместе с ними учатся взрослые, опытные специалисты); повышение ответственного отношения к собственной работе и к обучению преподавателей «студентов» (Егоров, 2011). Желание сотрудников и студентов получать знания с помощью проекта "Самообучающийся университет" мотивирует нас продолжать совершенствовать разработанную программу.

THE IMPLEMENTATION OF THE EDUCATIONAL PROJECT «SELF-LEARNING UNIVERSITY» BASED ON THE PRINCIPLES OF LEAN PRODUCTION IN ASTRAKHAN STATE UNIVERSITY

Egorov M.A.
Astrakhan State University
20a Tatishchev Street Astrakhan 414056, Russia

The project goal is to integrate educational technologies in the university with the system of lifelong learning in accordance with the principles of lean production as set out in the book written by Jeffrey Liker «Dao Toyota» (Liker, 2005) and with elements of Bologna educational system. Modern training can be efficient if it is integral – involving methodology of different knowledge systems. Teaching experience at the university as well as the knowledge we have obtained in regular educational and scientific activities in several European universities and companies and educational technologies in the field of lean production comprised the basis for the development and implementation of educational activities of the project "Self-learning University" in Astrakhan State University (ASU). An important stimulus for the project implementation and development at the university was joint research doctorate of ASU with Ca' Foscari University (Venice, Italy) in the field of Biotechnology, Chemistry and Environmental Protection launched several years ago. That resulted in the necessity not only to enhance language skills of the graduate students and the staff significantly but also to master a range of disciplines in related scientific fields.

The project structure includes a number of educational programs focusing on both the staff and students. The project involves lecturers, professors, employees of various university departments studying in real student groups (let us call them "students") and students who are interested in the "lean production" system. Project mechanisms for the university staff and professors include the choice of a subject for study during the semester as "students" – attending classes in real student groups for one semester and then taking credits (exams, etc.) in accordance with the requirements of the training program of the selected discipline. According to the training program the project includes externships for students at different departments of the university, training courses on "lean production" and possibility of extra training in selected disciplines with other student groups.

Owing to the project being realized at the university it was noted that responsibility and quality of the classes held by the teachers have increased, teachers and staff from various departments – "students" who were of supreme concern have obtained new knowledge, the students have become more disciplined (while studying with senior, experienced specialists); teachers treat their own work and training the teachers-"students" with more responsibility (Egorov, 2011). The desire of the staff and students to gain knowledge with the help of the project "Self-learning University" is a good reason for us to keep on developing the program.

ФОРМИРОВАНИЕ МОДУЛЬНОЙ СТРУКТУРЫ УЧЕБНЫХ ПЛАНОВ ПОДГОТОВКИ МАГИСТРОВ ПО НАПРАВЛЕНИЮ «БИОТЕХНОЛОГИЯ»

Емельянов В.М., Сироткин А.С., Понкратова С.А., Ежкова Г.О., Рязапова Л.З., Мухтарова-Белозерова Н.А.
Казанский национальный исследовательский технологический университет,
г. Казань

Создание модульной структуры магистерской подготовки по направлению «Биотехнология» сопряжено с учетом особенностей медицинской биотехнологии, агробиотехнологии, промышленной биотехнологии и других образовательных программ. Тем не менее,

представляется целесообразным создание общего модуля «Основные методы исследования и современные проблемы биотехнологии» для всех магистерских программ, который представлен такими дисциплинами как «Современные проблемы биотехнологии» и «Методологические основы исследований в биотехнологии». Совместно с гуманитарной частью образовательной программы этот модуль аккумулирует 40% от общего числа образовательных кредитов. Модуль профильных дисциплин магистерской подготовки составляет 30% от общей суммы кредитов. Остальные 30% образовательных кредитов обеспечиваются дисциплинам по выбору студента. В развитие системы образования «бакалавр-магистр» выбранная траектория формирования учебных планов обуславливает принципы модульности, вариативности подготовки, мобильности студентов, индивидуализации образовательного маршрута, интернационализации образовательного пространства. При этом роль самого вуза в общеобразовательном пространстве при реализации модульных программ претерпевает ощутимые изменения: единение усилий отдельных вузов приводит к созданию совместных программ подготовки, позволяющих в достижении результатов обучения по отдельным направлениям предоставлять наиболее сильную сторону сформированного внутривузовского образовательного уклада.

FORMATION OF THE MODULAR STRUCTURE OF STUDY PLAN FOR MASTER PROGRAM «BIOTECHNOLOGY»

Emelyanov V.M., Sirotkin A.S., Ponkratova S.A., Egkova G.O., Ryazapova L.Z., Mychtarova-Belozerova N.A.
Kazan National Research and Technological University, Kazan

Creation of the modular structure of Master program “Biotechnology” requires accounting the characteristic of medical biotechnology, agrobiotechnology, industrial biotechnology and other educational programs. However, it seems expedient to create general module «Basic research methods and modern problems of biotechnology» for all Master programs which are represented by such disciplines as «Modern problems of biotechnology» and «Methodological bases of researches in biotechnology». In association with a humanitarian part of an educational program this module accumulates 40% of total educational credits. The module of specialized disciplines in Master program makes 30% of a all credits. The others 30% of educational credits are provided by elective disciplines. Chosen trajectory of study plans formation in “bachelor-master” education system provides principles of modularity, variability of training, mobility of students, individualization of the educational route and internationalization of educational space. At the same time in conditions of modular programs realization the role of the university in general education is changing: the union of the separate universities efforts leads to creation of joint programs which provide intrauniversity educational regulations with strengths.

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ РАБОТЫ СИСТЕМЫ УПРАВЛЕНИЯ ПЕРСОНАЛОМ В БИОПРОМЫШЛЕННОМ КОМПЛЕКСЕ

Иванов А.А., Валиуллин Л.Р., Степанов В.И., Чернов А.Н., Тремасов М.Я.
ФГБУ «ФЦТРББ-ВНИВИ», 420075, РТ, Казань, Научный городок-2

Для современного становления и развития биопромышленного комплекса Российской Федерации неоценимо важную роль играет качество и подготовленность рабочего персонала при постановке и решений задач различного уровня.

Практика консультирования в западных организациях за последние десятилетия свидетельствует о серьезном стратегическом повороте управленческих подходов большинства успешных фирм в сторону усиления внимания к человеческой, прежде всего, профессионально-культурной составляющей своей деятельности. А это требует комплексного рассмотрения сферы управления персоналом.

Для более лучшей синхронной, эффективной организации управленческой системы и в конечном итоге для получения персоналом нужных результатов требуется учесть какой тип управленческих решений подходит по форме организации:

1) Линейная организационная структура – которая часто называется пирамидальной, бюрократической, – строго иерархически организована, характеризуется разделением зон ответственности и единоначалием.

2) Функциональная организационная структура – построена по принципу распределения функций внутри организации и создания сквозных подструктур по управлению подразделениями.

3) Адаптивная организационная структура – гибкие структуры, способные изменяться (адаптироваться) к требованиям среды (по аналогии с живыми организмами).

Таким образом, анализируя приведенные данные формы организаций и управления для эффективного использования ресурса персонала в биопромышленном комплексе важно учесть формы внутренней среды, структуру (линейная, функциональная, адаптивная) организации управления персоналом, уровень адаптационных ресурсов, типы взаимодействия и особенности привлеченного персонала которые в дальнейшем влияют на качественное исполнение поставленных целей и задач.

ФГБУ «ФЦТРБ – ВНИВИ», г. Казань имеет право введения образовательной деятельности, повышение квалификации руководящих должностей на основании лицензии серии 9497 №283173.

SOME ASPECTS ON PERSONNEL MANAGEMENT IMPROVEMENT IN BIOLOGICAL INDUSTRY

Ivanov A.A., Valiullin L.R., Semenov E.I., Chernov A.N., Tremasov M.Ya.
FGO"FCTRBS-ARRVI», 2-Nauchny gorodok Kazan the Russian Federation 420075

In Russian Federation modern bioindustry formation and development, personnel quality and training play a crucial role to accomplish the tasks of different levels.

For the recent decades, in the Western organizations the consultation practice testifies to serious strategic turn of administrative approaches of the most of successful firms towards attention strengthening to human, first of all, the professional and cultural aspects of human activity. And it demands complex consideration in the sphere of human resource management. The improvement of industrial, information and administrative technologies as well as global revaluation of individual and universal values have allowed approaching most close to the successful solution of the central problem in the large enterprises: to contradiction overcoming between the person and the organization.

For more synchronous, effective organization of administrative system and finally to get the right results by the personnel it is required to consider what type of management decisions matches the organization form:

1) a linear organizational structure – is often called as pyramidal, bureaucratic, – is strictly hierarchically organized, characterized by division of responsibility zones and one-man management. 2) A functional organizational structure is formed according to the principle of functions distribution within the organization and creation end-to-end substructures for division management. 3) Adaptive

organizational structure is a flexible structure, capable to change (to adapt) according to environmental demands (by analogy to living organisms). These are the adaptive organizational structures that are capable to function successfully in constantly changing world using all the effective aspects of linear and functional structures.

Therefore, having analyzed these forms of organization and administration for effective human resources management in bioindustry it is important to consider forms of the internal environment, the organization of human resource management structure (linear, functional, adaptive), level of adaptable resources, types of interaction and features of the involved personnel that further influence on successful accomplishment of tasks and objectives.

ОБУЧАЮЩИЙ КЛАСТЕР В ОБЛАСТИ МИКРОБНОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ: ПРЕПОДАВАНИЕ АНАЭРОБНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В СВЕТЕ ТРЕБОВАНИЙ БОЛОНСКОГО ПРОЦЕССА

Нетрусов А.И.

Кафедра микробиологии Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва 119234, РФ; anetrusov@mail.ru

Создание обучающего кластера по анаэробным методам и технологиям в области микробной биотехнологии очень важно для подготовки современных биотехнологов на уровне бакалавра и магистра. Курсы и предметы по физиологии, биохимии и экофизиологии анаэробных микроорганизмов в обязательном порядке должны быть включены в университетские программы подготовки биотехнологов. Важность изучения этой группы недооцененных и недостаточно изученных микробов из филогенетических доменов Бактерий и Архей была недавно подтверждена при бурном развитии технологических процессов получения возобновляемой энергии. В технологии получения биогаза из органического сырья и отходов основная проблема лежит в недостаточном понимании физиологии, и, частично, биохимии метаногенов. Почти ничего также не известно о синтрофах, важной группе анаэробов, участвующих в процессе образования биогаза и играющих в нем ключевую роль по переводу высших органических кислот и спиртов в ацетат, субстрат метаногенеза. Новые данные о физиологии и биохимии этой группы организмов должны быть обязательно включены в программы обучения современных студентов-биотехнологов. Все традиционные биотехнологические процессы получения топлив (этанола, бутанола, ацетона, H_2) требуют новых знаний по экспрессии генов и их регуляции в процессах, создания генно-инженерных продуцентов нового поколения с направленными потоками углерода и энергии в сторону образования целевого продукта. Такие методологии должны быть включены в новые учебники и учебные пособия для бакалавров и магистров.

Другим важным аспектом подготовки современных биотехнологов должно быть владение приемами выращивания и регулирования технологических процессов с термофилами и экстремальными термофилами, растущими при 110-120^{o}C. Эта быстро растущая группа микробов, включающая, в основном, представителей архей, будет в ближайшем будущем лидировать в процессах получения органических и аминокислот, спиртов, ферментов, горючих газов, промышленных растворителей и новых, «зеленых» предшественников для химических синтезов. В этих лидирующих трендах современной биотехнологии термофилы будут занимать все большее место, и сведения об их физиологии и биохимии должны занимать соответствующий объем будущих учебников по биотехнологии. Такие новые продуценты будут проводить новые процессы, которые можно будет более просто регулировать, они будут меньше подвергаться контаминации, и, таким образом, будут более надежными и экономически выгодными.

Требования Болонского процесса по созданию новых обучающих программ в области биотехнологии в России и Белоруссии на уровне бакалавров и магистров диктуют полную совместимость обучающего процесса с программами лидирующих университетов Европы и мира. Создание таких программ и обучающих модулей с новыми знаниями в области современных процессов биотехнологии позволит студентам и преподавателям участвовать в обменных процессах, а на уровне правительств различных стран – более легко, просто и прозрачно взаимно признавать выпускные документы биотехнологов следующих поколений.

EDUCATIONAL CLUSTER IN THE FIELD OF MICROBIAL BIOTECHNOLOGY: TEACHING OF ANAEROBIC TECHNOLOGIES WITH BOLOGNA PROCESS REQUIREMENTS

Netrusov A.I.

Microbiology Department, Moscow State University, Moscow 119234, RF; anetrusov@mail.ru

Educational cluster on anaerobic methods and technologies in Biotechnology is very important for the education of Baccalaureates and Magisters. Courses on microbial physiology, biochemistry and ecophysiology of anaerobic microbes must be in all the curriculums of university biotechnological courses. Importance of this underestimated and underexplored group of microbes, included members of *Archaea* and *Bacteria* domains of phylogenic lineages, was proved by recent development in the field of renewable energy obtaining. In the current technologies of biogas production from organic wastes the main obstacle lay in the poor understanding of methanogens' physiology and, in part, biochemistry. Almost nothing is known about ecophysiology of syntrophes, recently discovered group of anaerobes; which provide difficult reactions of transferring higher fatty acids into acetate, substrate of methanogenesis. The new knowledge about this group of microbes is indebted and must be included into the programs of students' education on all the levels of biotechnology education. All the "old" processes of renewable fuel obtaining (fuel ethanol, butanol, acetone, H_2) required new knowledge on gene expression and regulation, gene-engineered producers for the targeted processes – this materials should be included in textbooks of modern biotechnologists as well.

Another important knowledge students should obtain during course of study is the study of thermophiles, growing at 110-120^{o}C, – an emerging group of mostly archaeal prokaryotes which will dominate the next generation of biotechnological processes of enzymes, organic acids, combustible gases, amino acids, industrial solvents etc. obtaining. In these new trends in biotechnology the new poorly described, but very promising microbial strains and processes will dominate, as it will be more reliable and more easy to control industrial processes, less acceptable to contamination and, therefore, more practicable and economically feasible.

With Bologna process requirements the programs of education of new generation of biotechnologists on the BSc and MSc levels should be compatible with other programs in Europe and world. It will bring the new possibilities for the students and teachers exchange and reciprocal approval of graduation documents by different countries and governments, based on the new knowledge included in the teaching programs on biotechnology.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АКТИВНЫХ ФОРМ ОБУЧЕНИЯ ПРИ ПОДГОТОВКЕ БАКАЛАВРОВ-БИОТЕХНОЛОГОВ ПРИ ИЗУЧЕНИИ КУРСА «ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ»

Красноштанова А.А.

Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, 125047, Российская Федерация, г. Москва, Миусская площадь, д. 9

Одной из задач современного высшего образования является обучение студентов самостоятельному решению проблем, возникающих в процессе профессиональной деятельности. Курс «Основы биотехнологии» является первым в цикле дисциплин, формирующих у студентов практические профессиональные компетенции. Его изучение базируется на фундаментальных знаниях, полученных учащимися при изучении дисциплин естественно-научного и математического цикла. В курсе «Основы биотехнологии» студенты овладевают навыками применения полученных знаний при решении практических задач. Формирование соответствующих компетенций невозможно без применения активных форм обучения. Целью данной работы явилась методическая разработка по изучению некоторых тем курса «Основы биотехнологии» с использованием современных педагогических технологий, в частности, технологии когнитивного мышления технологии CoRT («Шесть шляп мышления») и Case-Study. Инструменты когнитивного мышления можно применять для осмысления проблемы, а также поиска различных вариантов её решения. Технологию «Шесть шляп мышления» целесообразно использовать при обсуждении разделов курса, по которым в научной среде и в обществе нет однозначной оценки, например, тема «Получение трансгенных растений». В работе предложена методика обсуждения данной темы с применением метода «Шесть шляп мышления». Технология Case-Study позволяет формировать аналитические, практические и творческие навыки путем анализа, осмысления и использования определенного объема информации (так называемого кейса). Данную технологию целесообразно применять при изучении темы «Получение биологически активных веществ». В данной работе технология Case-Study была использована при изучении темы «Производство аминокислот». Преимущество вышеназванных технологий состоит в том, что у студентов формируются навыки мышления, способствующие всестороннему анализу проблемы и поиску эффективных путей ее решения.

USE OF ACTIVE METHODICS OF LEARNING FOR PREPARATION OF BACHELORS-BIOTECHNOLOGISTS AT COURSE «THE PRINCIPLES OF BIOTECHNOLOGY»

Krasnoshtanova A.A.

D. Mendeleyev University of Chemical Technology of Russia,
125047, Moscow, Miusskaya sq., 9; aak28@yandex.ru

The learning students to the independent solution of the problems arising during their professional work is one of the main problems of modern higher education. The course “The principles of biotechnology» can be considered as the first course forming at students practical professional competences. Its learning is based on the fundamental knowledge received by students during studying the natural-scientific and mathematical module. In a course “Principles of biotechnology” the students master practical skills in application their knowledge at the decision of practical questions. The formation corresponding competences is impossible without application of active methodics of learning. The purpose of the given work has been methodical elaboration some topics of a course “The principles of biotechnology» with use of modern pedagogical methods, in particular, methods cognitive thinking of technology CoRT («Six thinking hats») and Case-Study. The tools of cognitive thinking can be applied for trying to understand a problem and also to search various ways of its

decision. The method «Six thinking hats» is applicable at discussion that topics on which in the scientific environment and in a society there is no unequivocal estimation, for example, a theme «Preparation of transgene plants». In this paper the method «Six thinking hats" for discussion of the given topic has been offered. The method Case-Study allows to form analytical, practical and creative skills by the analysis and uses of certain volume of the information (a so-called case). It is expedient to apply the given technology at theme studying «Reception of biologically active substances». In this paper the method Case-Study has been used for learning topic «Manufacture of amino acids». Advantage of the above-named methods consists that at students the skills of thinking promoting the all-round analysis of a problem are formed.

ИНФОРМАЦИОННЫЕ И ИНТЕРНЕТ-РЕСУРСЫ В ПОДГОТОВКЕ СПЕЦИАЛИСТОВ ФАРМАЦИИ

Стасевич М.В.,[1] **Кричковская А.М.,**[1] **Червецова В.Г.,**[1] **Губицкая И.И.,**[1] **Поройков В.В.,**[2] **Лагунин А.А.,**[2] **Новиков В.П.**[1]

[1]*НУ «Львовская политехника», кафедра технологии биологически активных соединений, фармации и биотехнологии, 79013, Львов-13, ул. С. Бандеры, 12, Украина;*

[2]*ФГБУ «ИБМХ» РАМН, отдел биоинформатики, 119121, Москва, ул. Погодинская, 10, Россия*

Важным шагом гармонизации учебного процесса для создания оптимальных условий его информационного обеспечения в целях подготовки высококвалифицированных специалистов фармации является введение виртуальной учебной среды в НУ «Львовская политехника» на базе Moodle. К современным альтернативам в обучении относят: модели, манекены и имитирующие устройства; фильмы и видеофильмы; мультимедийное компьютерное моделирование; компьютерные симуляторы и системы виртуальной реальности; экспериментирование студентов на себе; использование трупов животных, полученных из этических источников; клиническая практика; лабораторные работы *in vitro*. На основе заключенного договора между кафедрой ТБСФБ и организациями DAAE і InterNICH в учебный процесс кафедры при подготовке студентов были внедрены новые альтернативные методы. На основе предоставленных материалов были разработаны лабораторные и практические работы для курсов «Биология и физиология с основами анатомии», «Фармакология», «Фармакокинетика». Программное обеспечение лабораторных работ представлено серией компьютерных программ-симуляторов ExPharm, с помощью которых студент может смоделировать, визуально сравнить и запомнить эффекты, которые вызывают различные лекарственные вещества. Также в учебном процессе используются видеофильмы, как дополнение к специальным дисциплинам, по анатомии и физиологии животных, микробиологии, биохимии, биоинженерии, биотехнологии, которые дают адекватные базовые знания и позволяют студентам их усвоить. Большим преимуществом альтернатив в обучении является их доступность через систему виртуальной учебной среды «Львовской политехники». Использование он-лайн программ PASS и PharmaExpert является также неотъемлемой частью практических работ, позволяющих оценить студентам вероятную биологическую активность исследуемых соединений.

INFORMATION AND ONLINE RESOURCES IN THE TRAINING OF PHARMACY SPECIALISTS

Stasevych M.V.,[1] Krychkovskaya A.M.,[1] Chervetsova V.G.,[1] Gubytskaya I.I.,[1] Poroikov V.V.,[2] Lagunin A.A.,[2] Novikov V.P.[1]

[1]*NU "Lviv Polytechnic", Department of Technology of Biologically Active Substances, Pharmacy and Biotechnology, 79013, Lviv-13, S. Bandera Str., 12, Ukraine;*

[2]*IBMC RAMS, Department of Bioinformatics, 119121, Moscow, Pogodinskaya Str., 10, Russia*

An important step of harmonization of the educational process for creation of optimal conditions of information provide with purpose to prepare highly skilled pharmacy specialists is the introduction of virtual learning environment at the NU "Lviv Polytechnic" based on *Moodle*. Modern alternatives include: models, mannequins and simulating devices, films and videos, multimedia computer modeling, computer simulations and virtual reality systems, students experimentation on themselves, the use of animal carcasses prepared from ethical sources, clinical practice, laboratory work *in vitro*.

New alternatives on the basis of agreement between the Department TBSPB and organizations DAAE i InterNICH in the learning process of the department at the training of students were introduced. Laboratory and practical work for the courses "Biology and Physiology of the basics of anatomy", "Pharmacology", "Pharmacokinetics" have been developed on the basis of gave materials. The software presents a series of laboratory program-simulators ExPharm, using which students can simulate, visually compare and remember the effects that cause a variety of drugs. Also in the learning process videos are used as a supplement to the special disciplines of anatomy and physiology of animals, microbiology, biochemistry, bioengineering, biotechnology, which provide an adequate basic knowledge and allow students to learn. Important advantage of alternatives in education is their availability through a virtual learning environment "Lviv Polytechnic". Using online programs PASS and PharmaExpert is also an integral part of practical work of students to evaluate the biological activity of investigated compounds.

СОТРУДНИЧЕСТВО ВУЗОВ И НАУЧНЫХ УЧРЕЖДЕНИЙ НА ПУТИ ВОСПИТАНИЯ НАУЧНЫХ КАДРОВ В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ

Козлова Н.И., Рыбалко А.Е., Скипина К.П., Харута Л.Г.

Сочинский институт Российского университета дружбы народов, 354348, Сочи, ул. Куйбышева, 32. E-mail: sfrudn@rambler.ru, Факс: +7 (8622) 411043

В связи с созданием на базе кафедры физиологии Сочинского института РУДН биологического факультета, в составе которого функционируют 4 кафедры: биологии, экологии, ветеринарии и ветеринарной экспертизы, возросла необходимость в усилении преподавания новейших достижений биологической науки как в теоретическом, так и в прикладном плане. Речь идет о расширении преподавания различных направлений биотехнологии и молекулярной биологии. Проведена подготовка трех выпускников кафедры 2011 года в Научно-образовательном центре Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН. Ряд дипломных работ выполняются в институте медицинской приматологии РАМН и Научно-исследовательском центре курортологии и рекреации, где проводятся практические занятия, на которых студенты приобретают практические навыки.

В настоящее время частные предприниматели (цветоводы любители) имеют широкие возможности приобретения новых видов и культиваров цветочных растений. В тесном сотрудничестве с лабораториями на кафедре физиологии СИ РУДН они имеют возможность реализовывать производственный процесс на научной основе, а студенты выполнять научную

работу с современными сортами, востребованными на рынке, а также осваивать основы маркетинга в современных рыночных условиях.

Важным направлением в повышении квалификационных характеристик выпускников-специалистов является участие в различных научно-практических конференциях. Так, в 2010–2011 годах студенты приняли участие в работе постерной сессии конкурса молодых ученых Московского международного конгресса «Биотехнология: состояние и перспективы развития», где были отмечены наградами конкурсной комиссии.

COOPERATION OF HIGH SCHOOLS AND SCIENTIFIC INSTITUTIONS ON A WAY OF EDUCATION OF RESEARCHERS IN MODERN CONDITIONS

Kozlova N.I., Rybalko A.E., Skipina K.P., Kharuta L.G.
Sochi Institute of Russian University of People's Friendship,
354340, Sochi, Kuibysheva 32. E-mail: sfrudn@rambler.ru Факс: +7 (8622) 64-87-90

In connection with the establishment a Faculty of Biology at the Department of Physiology of the Sochi Institute of People's Friendship University, with 4 departments at its structure: biology, ecology, veterinary medicine and veterinary expertise in which structure a need to strengthen the teaching of the latest achievements of biological science and to expand the teaching of various areas of biotechnology and molecular biology at both theoretical and applied level has increased. In 2011 three graduates of the Department of Scientific-Educational Center of the M.M. Shemyakin and Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of RAS were trained. A number of graduation thesis are carried out at the Institute of Medical Primatology of RAMS and at the Research Center of balneology and recreation, where practical works are realized and the students acquire practical skills.

At present, some businessmen (floriculturists) have broad opportunities to acquire new species and cultivars of flowers. In close collaboration with laboratories at the Department of Physiology of SI PFU they have an opportunity to implement the production process based on scientific foundation and the students to fulfil their research work with modern variety of flowers as well as to master principles of marketing in today's market conditions. An important direction in improving the qualifications of graduates is their involvement in various scientific conferences. Thus, in 2010-2011 our students participated in the poster session competition of young scientists of the Moscow International Congress "Biotechnology: State of the Art and Prospects of Development", where they have been awarded by the competitive commission.

НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ПРЕПОДАВАНИЮ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО ПРАВА В СВЯЗИ С ЭКОЛОГИЧЕСКИМ СОСТОЯНИЕМ БИОРАЗНООБРАЗИЯ СОЧИНСКОГО ПРИЧЕРНОМОРЬЯ

Рыбалко А.А.
Сочинский институт Российского университета дружбы народов,
354348, Сочи, ул. Куйбышева, 32.

В связи с ростом экологических проблем Сочинского региона возросла значимость экологического права как предмета. Так, в Сочинском институте РУДН возникла необходимость ввести в курс «Экологическое право» ряд дополнительных вопросов, позволяющих более глубоко изучить экологические проблемы региона, учитывая экологическую напряженность и риск потери устойчивого равновесия.

Под угрозой (в зоне риска) оказались десятки уникальных лекарственных растений, используемых в качестве сырья для фармацевтической промышленности. Что особо важно, в сложившейся ситуации некоторые из их числа являются также и редкими, исчезающими, занесенными в «Красную книгу» растениями. Поэтому в дисциплину «Экологическое право» были внесены вопросы, относящиеся к этой актуальной в настоящее время проблеме. Многократная нагрузка на этот регион широко обсуждается на экологических форумах, в печати и на телевидении. Прослеживается интересная закономерность: во всех проектах присутствуют разделы, в которых описывается и подсчитывается ущерб окружающей среде, наносимый данным проектом. Однако реально получить финансирование для сохранения редких растений и создания необходимых структур поддержания растительного разнообразия невозможно, поскольку или отсутствует механизм передачи запланированного финансирования или он в сильной степени забюрократизирован. В связи с этим на практических занятиях по экологическому праву более широко и детально изучаются эти вопросы в форме дискуссий, рефератов, решения экологических задач, что позволяет студентам более полно и грамотно использовать статьи законов экологического законодательства. Они также учатся выявлять слабые места и нечеткое изложения статей закона на примере Сочинского региона и докладывать результаты своих исследований на конференциях.

ВАЖНЫЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ В ЛЕКЦИЯХ ПО БИОГЕРОНТОЛОГИИ ДЛЯ СТУДЕНТОВ

Халявкин А.В.[1,2], **Крутько В.Н.**[2]

[1]*Институт биохимической физики РАН, ул. Косыгина 4, Москва 119334*

[2]*Институт системного анализа РАН, ул. 60-летия Октября 9, Москва 117312*

С 1991 г. на факультете физико-химической биологии и факультете молекулярной и биологической физики МФТИ читался курс лекций «Введение в биогеронтологию». Целью лекций было ознакомление будущих исследователей с перспективами биогеронтологии и демонстрация принципиальной разрешимости проблемы старения. Курс состоял из следующих разделов — «История вопроса и введение в проблему», «Молекулярная биология старения», «Старение клеток *in vivo* и *in vitro*», «Старение на тканевом и органном уровне», «Старение физиологических систем», «Старение целостного организма», «Пол и старение», «Демографические аспекты старения», «Надежностно-системные подходы», «Феноменология нестареющих биосистем и биосоциальные перспективы геронтологии». Рассматривались возрастные модификации хроматина, коллагена, ферментов и других структурно-функциональных макромолекул и их комплексов. Описывалось влияние свободных радикалов и неферментативного гликозилирования на проявления старения. Обсуждались такие явления, как подвижность некоторых элементов генома, возрастное укорочение теломерных участков хромосом и гипометилирование генома с возрастом, особенности регенерации и репарации, накопление мутаций в ДНК митохондрий, роль убиквитина, шаперонов и других анти-стрессовых белков в поддержании гомеостаза. И если методами молекулярной генетики и молекулярной биологии можно выявить слабые звенья, способствующие старению, то методы биотехнологии и биоинженерии могут помочь укрепить эти звенья.

THE IMPORTANT BIOTECHNOLOGICAL ASPECTS IN LECTURES ON BIO-GERONTOLOGY FOR THE UNDERGRADUATES

Khalyavkin A.V.[1,2], **Krutko V.N.**[2]
[1]*Institute of Biochemical Physics of RAS, Kosygin Str. 4, Moscow 119334*
[2]*Institute for System Analysis of RAS, ul. 60-letiya Oktyabrya 9, Moscow 117312*

Since 1991 we delivered a course of lectures 'Introduction to Bio-Gerontology' for the undergraduate students of the Moscow Institute of Physics and Technology. The main objective of these lectures was to acquaint the future researchers with prospects of bio-gerontology and to show basic solvability of a problem of senescence. The course was consisted of the following sections — "History of a question and introduction in a problem", "Molecular biology of aging", "Cellular senescence *in vivo* and *in vitro*", "Senescence at a tissue and organ level", "Senescence of physiological systems", "Senescence of complete organism", "Sexual dimorphism in senescence", "Demographic aspects of senescence", "The reliability and system approaches", "Phenomenology of not growing old bio-systems and biosocial prospects of gerontology". We considered age-depended modifications of chromatin, collagen, enzymes and other structural and functional macromolecules and their complexes. We showed influence of free-radicals and non-enzymatic glycosylation on patterns of aging. Also was reviewed such topics as jumping genes, age-related shortening of telomeric tips of chromosomes and hypomethylation of genome, mechanisms of regeneration and reparation, mutations accumulation in mitochondrial DNA, role of ubiquitin, chaperons and others anti-stress intracellular proteins in maintenance of homeostasis. And if the methods of molecular biology and molecular genetics help us to find out weak parts of organism promoting to aging, the methods of biotechnology and bioengineering can help to strengthen these parts. So some knock-out and knock-in laboratory animals significantly extended their longevity.

ОПЫТ РАБОТЫ ЛАБОРАТОРИИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ФАРМАКОЛОГИИ В РАМКАХ ПРОЕКТА «ПРИГЛАШЕННЫЙ УЧЕНЫЙ»

Гарабаджиу А.В.
Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет), 190013, г. Санкт-Петербург, Московский пр-т, 26

Лаборатория Молекулярной фармакологии создана в рамках гранта Правительства Российской Федерации для государственной поддержки научных исследований, проводимых под руководством ведущих ученых в российских образовательных учреждениях высшего профессионального образования.

Научное направление деятельности лаборатории сосредоточено в области биохимии новых рецепторов-мишеней, оптимизации проведения высокопроизводительного скринига, компьютерного моделирования потенциально активных соединений для рецепторов-мишеней, проведению испытаний препаратов *in vivo* и *in vit*ro.

Структура лаборатории включает в себя три подразделения: группа молекулярной биологии, химического синтеза, биоинформатики и компьютерного моделирования. Учитывая широкий спектр направлений работы, деятельность лаборатории будет направлена как на выполнение отдельных проектов по созданию лекарств-кандидатов, так и для углубленного изучения отдельных этапов создания инновационных лекарственных средств. В рамках лаборатории осуществляется привлечение авторитетных специалистов в области протеомики и транскриптомики, а так же кооперация с российскими и зарубежными профильными научно-исследовательскими организациями.

Проект станет шагом к эффективному использованию научного потенциала Санкт-Петербургского государственного технологического института (технического университета) (СПбГТИ (ТУ) в рамках многолетних традиций создания новых лекарственных препаратов, глубоких знаний в области молекулярного дизайна и методов направленного синтеза разнообразных по свойствам соединений.

EXPERIENCE OF LABORATORY OF MOLECULAR PHARMACOLOGY WITHIN THE LIMITS OF THE PROJECT «INVITED SCIENTIST»

Garabadzhiu A.V.
The St.-Petersburg state institute of technology (technical university),
190013, St.-Petersburg, the Moscow avenue, 26

The laboratory of Molecular pharmacology is created within the limits of the grant of the Government of the Russian Federation for the state support of the scientific researches spent under the direction of leading scientists in the Russian educational institutions of the higher vocational training.

The scientific line of activity of laboratory is concentrated in the field of biochemistry of new receptors-targets, optimization of carrying out high-efficiency screening, computer modeling of potentially active connections for receptors-targets, to carrying out of tests of preparations *in vi*vo and *in v*itro.

The laboratory structure includes three divisions: group of molecular biology, chemical synthesis, biocomputer science and computer modeling. Considering a wide spectrum of directions of work, laboratory activity will be directed as on performance of separate projects on creation of medicines-candidates, and for profound studying of separate stages of creation of innovative medical products. Within the limits of laboratory attraction of authoritative experts in area protheomics and transcriptomics, and as cooperation with the Russian and foreign profile research organizations is carried out.

The project becomes step to an effective utilization of scientific potential of the St.-Petersburg state institute of technology (technical university) within the limits of long-term traditions of creation of new medical products, profound knowledge in the field of molecular design and methods of the directed synthesis of various connections on properties.

О НЕОБХОДИМОСТИ ВКЛЮЧЕНИЯ В БАЗОВЫЙ КУРС ПО БИОТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ БАКАЛАВРОВ-БИОТЕХНОЛОГОВ РАЗДЕЛА ПО ПРИРОДООХРАННОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ (ЭКОБИОТЕХНОЛОГИИ)

Ножевникова А.Н.
Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН.
Москва, 117312, Проспект 60-летия Октября 7, к.2

Экологическое образование населения России далеко не удовлетворяет современным требованиям к сохранению природы и улучшению экологической обстановки в городах и других населенных пунктах страны. Для обработки отходов различных производств, в том числе биотехнологических, разработаны и применяются методы и технологии, о которых необходимо знать людям, работающим на предприятиях. Для студентов, обучающихся по специальности «Биотехнология» по программе бакалавров, представляется крайне необходимым иметь представления об основных принципах и методах биотехнологии окружающей среды, которую называют также природоохранной биотехнологией или экобиотехнологией. Такой раздел должен быть обязательно включен в базовый курс по биотехнологии. Современная экобиотехнология

базирутеся на микробных процессах. Поэтому для инженерных специальностей, для которых не читается курс общей микробиологи, курс по экобиотехнологии должен включать общие понятия о микроорганизмах и микробиологии окружающей среды. Основной курс для студентов-бакалавров должен включать сведения о принципах обработки сточных вод и других производственных полужидких и твердых органических отходов, а также об аэробных, анаэробных и аэробно-анаэробных процессах, используемых в экобиотехнологии. Разработана программа раздела по экобиотехнологии для включения в базовый курс по биотехнологии для студентов-бакалавров.

ON NECESSITY OF INCLUDING A SECTION ON NATURE PROTECTION BIOTECHNOLOGY (ECOBIOTECHNOLOGY) FOR A BASE COURSE ON BIOTECHNOLOGY FOR BACHELORS-BIOTECHNOLOGISTS»

Alla N. Nozhevnikova
S.N. Winogradsky Institute of Microbiology RAS
117312 Moscow Prosp. 60-letiya Octyabrya 7, k.2

Environmental Education of the Russian population is far from meeting modern requirements for the conservation and improvement of ecological situation in cities and other localities. To handle the various waste products, including biotechnological, there are developed and applied methods and technologies that factory workers need to know. For students enrolled in the Bachelor Degree Programme in Biotechnology it is extremely necessary to have an understanding of basic principles and methods for environmental biotechnology, also known as ecobiotechnology. This section should be necessarily included in the basic course in biotechnology. It should include a general concept of micro-organisms and environmental microbiology, especially for engineering majors, which is not a course for General Microbiology, since a modern ecobiotechnology is based on microbial processes. Course for undergraduate students must include the fundamentals of manufacturing wastewater and other organic semi liquid and solid waste treatment, as well as on aerobic, anaerobic and aerobic-anaerobic processes used in ecobitechnology. The program on ecobiotechnology to be included for base course on biotechnology for bachelor-students is developed.

«СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ И ПИЩЕВАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ»
"AGRICULTURE AND FOOD BIOTECHNOLOGY"

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ РАСТИТЕЛЬНОГО СОРБЕНТА «БАТЫР»

Абдулдаева Айгуль Абдулдаевна
АО «Медицинский университет Астана»,
Республика Казахстан, г. Астана
aigul288@rambler.ru

Общеизвестно, что многие пищевые продукты, биологически-активные добавки не содержат ингридиентов, способствующих стимуляции нервной, сердечно-сосудистой систем, повышающих антиоксидантную защиту, выполняющих суточную потребность в основных витаминах и микроэлементах, что особенно важно для категории лиц, выполняющих повышенные физические нагрузки. Им необходимо иметь легкую, энергетически емкую, высококалорийную пищу, всегда готовую к употреблению. В известных пищевых продуктах производимых в Казахстане недостаточно энергетических и биологических ценностей, а также незначительное количество пищевых волокон. В связи с этим предлагается разработанный нами энергетический батончик «Батыр», в состав которого для восполнения вышеуказанных недостатков входят: сахарный сироп, орехи, курага, изюм, бапол (пищевые волокна, микроэлементы, витамины), концентрат сывороточного белка, изолят соевого белка, экстракт гуараны, ликопин, шоколадная глазурь.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния питательного батончика «Батыр» на адаптивные возможности организма молодых людей в возрасте 18-23 года.

В результате исследования у студентов-спортсменов за время приема питательного батончика «Батыр» наблюдалось увеличение выносливости и улучшение восстановительных процессов после нагрузок. За время проведения исследования было отмечено увеличение реактивности, повышение адаптивных реакций в сравнении с контрольной группой не принимавших питательный батончик «Батыр». Отмечено снижение утомляемости в условиях однообразного выполнения технических действий.

Исходя из выше изложенного, рекомендуется использование пищевого продукта «Батыр» в питании для спортсменов, военнослужащих, спасателей, а также для лиц, чей труд связан с повышенными энергетическими затратами.

PROSPECTIVES FOR THE USE OF PLANT SORBENT «BATYR»

Aigul Abduldaevna Abduldaeva
JSCo "Astana Medical University",
The Republic of Kazakhstan, Astana
aigul288@rambler.ru

It is well known that many food products, biologically active additives do not contain ingredients that contribute to stimulation of the nervous & cardiovascular systems, increasing antioxidant protection, covering the daily requirement of vitamins and minerals, which is especially important for a category of persons engaged increased physical activity. They need to have a light, energy-capacious, high-caloriec foods, always ready for use. In certain foods, produced in Kazakhstan is not enough energetic and biological value, and not enough fibers. In this regard, we have developed proposed energetic bar «Batyr», made up to fill the above disadvantages are: sugar syrup, nuts, dried apricots, raisins, bapol

(dietary fibers, minerals, vitamins), whey protein concentrate, soy protein isolate, extract of guarana , lycopene, chocolate glaze.The purpose of this study was to investigate the influence of nutritive bars "Batyr" on adaptive capabilits of young people aged 18-23 years.

As a result of the study, student-athletes for the reception nutritive bars "Batyr" observed an increase in stamina, and improve the recovery processes after loads. During the study there was an increase of reactivity, improving adaptive responses, compared with a control group not receiving nutritive bars "Batyr." Decreased fatigue in monotonous performance of technical operations was revealed.

Based on the foregoing, the use of a food product "Batyr" in nutrition for athletes, soldiers, rescue workers, as well as for those whose work is associated with increased energy costs is recommended.

STUDY OF SOME PHYSIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF TWO HULLESS BARLEY LINES UNDER PEG TREATMENT

Soghra Asgari Avini, Raheem Haddad, Hamidreza Nik-khah
Biological Lab., Department of Agricultural Biotechnology,
Faculty of Engineering & Technology,
Imam Khomeini International University, Qazvin, IR of Iran.
For correspondence: soghra Asgari Avini,
E-mail: sahar.asgari66@gmail.com; Tel: (+98) 281 837 1328, Fax: (+98) 281 378 1175.

Abstract

Drought is one of the most important abiotic stresses that affect plant health and survival. Extension of arid and semi-arid area is one of major problems that face to human beings' future. Hulless barley (*Hordeum vulgar* L.) as a drought resistant crop has excellent level of soluble fiber, protein, carbohydrates and B vitamins that make it equal nutritional value to wheat and corn and usually uses for poultry nutrition. In this paper, differences between percentage and rate of germination, root and plumule length, fresh and dry weight of two hulless barley lines (UH-12 and EH-81-5) under various osmotic potential have been studied. For this point, an experimental design has been performed under a complete randomized design (CRD) with three replications. To develop an osmotic condition under *in-vitro* culture, polyethylene glycol (PEG 6000) with 0 (control), -6, -9 and -12 bars were used. For statistical analysis, SAS 9.0 were used and differences among treatment means were compared by Duncan's test at 5% probability level. The results indicated that reduction osmotic potential in culture media cause to significant decrease in percentage and rate of germination, radicle and plumule length, seed vigority index, fresh and dry weight. Among two lines, UH-12 represented better percentage and rate of germination in higher potential of PEG. Therefore, during germination stage, this line tolerates higher levels of drought stress than other one.

АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ПИЩЕВЫХ БИОВОЛОКОН

Драчева Л.В.
Международная академия информатизации, Москва

Растительные пищевые волокна обладают широким спектром физиологического действия на организм человека. Благодаря наличию в них различных функциональных групп – гидроксильных, карбоксильных, карбонильных, метоксильных они способны выводить из организма не только токсичные металлы и радионуклиды, но и патогенные бактерии, а также

бактериальные токсины, оказывая позитивное влияние на биоценоз индигенной микробиоты человека. Кроме того, они достаточно эффективно нормализуют обмен веществ.

В проведенном автором исследовании установлено, что пищевые биоволокна различной природы обладают и таким свойством, как антиоксидантная активность. Объектами изучения служили образцы натуральных пищевых волокон, имеющие различную химическую природу. Среди них клетчатка, представленная яблочным пектином, злаковыми культурами – пшеницей, овсом и рожью, а также древесиной бамбука.

В результате проведенной работы установлено, что наибольшей антиоксидантной активностью обладает яблочный пектин. Вместе с тем все изученные биоволокна могут быть использованы для создания продуктов функционального и здорового питания.

УЛУЧШЕНИЕ ЗДОРОВЬЯ ЧЕЛОВЕКА ПРИ СОЗДАНИИ ЭКОЛОГИЧЕСКИ ЧИСТОЙ ПРОДУКЦИИ И ОЗДОРОВЛЕНИИ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ, ИСПОЛЬЗУЯ МЕТОД ХИМИЧЕСКОГО МУТАГЕНЕЗА

Посвящается Иосифу Абрамовичу Рапопорту – лауреату Ленинской премии, герою Социалистического труда в год 100-летия со дня рождения

Эйгес Н.С., Волченко Г.А., Волченко С.Г., Вайсфельд Л.И.
Учреждение Российской академии наук
Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН,
113334 г. Москва, ул. Косыгина, 4

При выращивании озимой пшеницы – основной продовольственной культуры на больших площадях используются наибольшие объемы сельскохозяйственных ядохимикатов, в том числе гербицидов, которые вредно влияют на здоровье человека через продукцию, содержащую токсичные вещества, загрязнение окружающей среды, а также при непосредственном контакте с ними. Не случайно, что в сельской местности часты заболевания сердечно-сосудистой системы, желудочно-кишечного тракта, онкологические заболевания. Очистить окружающую среду, загрязненную сельскохозяйственной химией, в настоящее время не представляется возможным. Единственно возможной является профилактическая защита окружающей среды. Она осуществляется нами при использовании высокоэффективного метода химического мутагенеза и получении хемомутантов и хемомутантных сортов, создающих густой стеблестой в среднем на 1м^{2}при числе 600-700 продуктивных стеблей, что подавляет сорную растительность и не требует применения гербицидов или уменьшает их объемы. Густой стеблестой достигается через получение высокоадаптивных мутантов с высокой продуктивной кустистостью и высокой регенерационной способностью на основе множественных мутаций при правильном подборе мутагена, его наиболее эффективных доз и высокомутабильного исходного сорта. При невозможности полного исключения сельскохозяйственных ядохимикатов необходимо регулировать их применение. Предлагаемый способ помогает создавать продовольственную безопасность в стране.

IMPROVEMENT OF HUMAN HEALTH USING THE ECOLOGICALLY PURE PRODUCTS CREATED BY MEANS OF CHEMICAL MUTAGENESIS AND BY IMPROVEMENT OF ENVIRONMENT BY THIS METHOD

Dedicated to Josef Abramovich Rapoport, laureate of Lenin prize, Hero of socialist labour in the year of his 100th anniversary

Eiges N.S., Volchenko G.A., Volchenko S.G., Weisfeld L.I.
Russian Academy of Sciences N.M.Emanuel Biochemical Physics Institute,
119334, Moscow, Kosygin St., 4.

When cultivating winter wheat, which is the main food crop, the highest volumes of agriculture chemicals including herbicides are applied on a wide areas. They have a harmful effect on human health via products, environmental pollution, as well as under the direct contact with them. It is not occasionally that in the countryside the illnesses of cardiovascular system, gastrointestinal tract, as well as oncologic illnesses occurred frequently. At present it seems to be impossible to clean the environment polluted by agricultural chemicals. The single option is the prophylactic protection of environment. We perform it when applying the highly effective method of chemical mutagenesis when creating chemomutants and chemomutant varieties, which forms a high density of 600-700 productive stems per 1 m^2, suppresses weeds and does not require herbicides or requires them in a smaller volumes. High density of stems per 1 m^2 is reached by means of creation of highly adaptive mutants with high productive bushiness and high regeneration capacity basing on multiple mutations under application of proper mutagen, its optimal doses and highly mutable initial variety. As it is impossible to exclude completely the use of herbicides in the agriculture, it is necessary to regulate their application. The proposed means helps to the creation of food security in the country.

EFFECT OF THE PEG TREATMENTS ON SOME PHYSIOLOGICAL CHARACTERS IN TWO BARLEY (HORDEUM VULGAR L.) LINES

Masume Ghadami, Raheem Haddad, Abbas Sotoodehnia
Biological Lab., Department of Agricultural Biotechnology,
Faculty of Engineering & Technology,Imam Khomeini International University,
Qazvin, IR of Iran.
For correspondence: Masume Ghadami,
E-mail: m_ghadami63@yahoo.com;
Tel: (+98) 281 837 1328, Fax: (+98) 281 378 1175.

Barley is one of the most domesticated grain and use as a component of foods as it contains a high level of proteins. Drought stress is one of the most important abiotic stresses and accounts a serious threat to environment, causing a significant reduction in plant germination. Limited water supply is an important factor affecting growth activities of plant. This article compared 2 lines (resistant & sensitive) of barley under drought stress. This article studied PEG pretreatment effect on the mature embryo culture *in vitro* by using barley seeds. PEG (6000) treatment for seeds had a positive action on seed germination. Our experiment was conducted in a complete randomize design using three replications at three levels (0, -6 & -9 Mpa). The purpose of this article were measured the percentage of germination, germination rate, final germination, length of plumule, root length, fresh and dry weight. Results indicated that 22 Πth lines were the most resistant and other 13 Πth lines were sensitive under

such stress. PEG treatment caused the significant reduction in all above measured factors, accounted a significantly treatment to reduce reactive oxygen species on such treated plants, leading to use the silicon on the field of crops under drought stress.

STUDY THE EFFECT OF THE PEG (6000) PRETREATMENT ON PHYSIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF TWO ADVANCED LINES OF DURUM WHEAT UNDER DROUGHT STRESS

Zahra Karimlou, Raheem Haddad, Abdolali Gaffari, Abbas Sotoodehnia
Biological Lab., Department of Agricultural Biotechnology,
Faculty of Engineering & Technology,
Imam Khomeini International University,
Qazvin, IR of Iran.
For correspondence: Zahra Karimlou,
E-mail: z.karimlou@gmail.com;
Tel: (+98) 281 837 1328, Fax: (+98) 281 378 1175.

Drought is one of the primary environmental stresses to play an important role in decreasing crop yields, plant growth, rate of germination and seedling growth. Seedling emergence is one of the most important stages of growth that is sensitive to water deficit. As *Durum wheat* is the only tetraploid species of wheat and has a high level of protein content, it is cultivated as a feed crop plant worldwide. It is commonly grown on marginal soil under rainfed conditions. PEG_S are a group of neutral osmotical active polymers. In the present research project, we used five various levels of osmotic treatments (0, -6, -9, -12 & -15 Mpa) to cause different level of osmotic pressure, base on the complete randomized design (CRD) in three replications. This article studied PEG pretreatment effect on the mature embryo culture *in vitro* by using *Durum wheat* seeds. Some of the relevant characters including of germination velocity, percentage of final germination, germination index, root and shoot length, germination rate index and plumule length were measured to catch purpose of such investigation. Results indicated a significant reduction represented by forementioned factors, caused by increasing in concentration of PEG. Our assessment indicated that stj3//bcr/lks4/3/ter-3 line had the highest tolerance against the drought stress and stj3//bcr/lks4/3/ter-3line had a higher germination rate than saji.

РЕОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СИСТЕМ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ТЕХНОЛОГИИ ВАРЕНЫХ КОЛБАС

Петрова Е.А.[1], Легонькова О.А.[2]
[1]*ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет пищевых производств»,*
109316 г.Москва, ул. Талалихина, д.33
[2]*ФГБУ НИИ питания РАМН,*
109240 г. Москва, Устьинский проезд, д.2/14

В последние годы потребители все больше обращают внимание на продукты питания, содержащие полезные для здоровья человека ингредиенты. Пищевые волокна обладают важнейшими диетическими свойствами: улучшают перистальтику кишечника, нормализуют микрофлору, сорбируют и выводят из организма тяжелые металлы, токсины, холестерин. К пищевым волокнам относят клетчатка, крахмал, пектин, камеди, инулин, каррагинаны, альгинаты, агароиды и хитозан. Хитозан – это высокомолекулярный биополимер. Он является

производным хитина. Хитозан обладает рядом полезных свойств и широко применяется при производстве продуктов питания функциональной направленности.

Для изучения реологического поведения систем на основе хитозана были исследованы композиции с использованием следующих солей: магний сернокислый, магний лимоннокислый, кальций молочнокислый, кальций хлористый. Соотношение компонентов в системе соль : хитозан составляло от 1:2 до 1:10. Измерение реологических характеристик проводили на приборе «Реотест» при температурах 20°С, 72°С (температура в центре колбасного батона при варке) и 25°С (температура после остывания). Изучалось влияние скорости, длительности и температуры перемешивания на прочностные и вязкостные свойства, кинетику формирования и восстановления структуры после ее разрушения при различных скоростях сдвига.

На основании проведенных исследований прочностных характеристик была выбрана система цитрат магния: хитозан с соотношением компонентов 1:10. Данная композиция показала достаточно высокие значения вязкости. В системе протекает процесс структурообразования, с течением времени структура системы улучшается.

RHEOLOGICAL PROPERTIES OF SYSTEMS ON A BASIS CHITOSAN FOR APPLICATION IN TECHNOLOGY OF COOKED SAUSAGES

E.A. Petrova[1], O.A. Legonkova[2]

[1]*Moscow state university of food production,*
109316, Moscow, str. Talalikhina, 33
[2]*Research institute of nutrition Russian Academy of Medical Sciences,*
109240, Moscow, Ustyinsky travel, 2/14

For the last years, more and more consumers pay attention to foodstuffs containing components useful for health. Fibers possess major dietary properties: improved intestinal motility; normalizing influence on microflora; adsorbing and excreting heavy metals, toxins and cholesterol. Food fibers consist of cellulose, starch, pectin, gum, inulin, carrageenans, alginates, agaroidy and chitosan. Chitosan is a high molecular weight biopolymer, being a derivative of chitin. Chitosan has many useful properties and is widely used in functional food.

To study the rheological behavior of systems based on chitosan we've studied different compositions with the following salts: magnesium sulfate, magnesium citrate, calcium lactate, calcium chloride. The ratio of components in the system salt/chitosan was from 1:2 to 1:10. Measurement of rheological characteristics was carried out using "Reotest" device at temperatures of 20 °C, 72°C (temperature in the center of the loaf at sausage cooking) and 25°C (temperature after cooling). We've investigated the influence of speed, duration and temperature of mixing on the strength and viscosity properties, kinetics of formation and restoration of the structure after its destruction at various shear rates.

Based on carried out investigations, the magnesium citrate/chitosan system with a component ratio of 1:10 was chosen. This composition showed relatively high viscosity values that is needed. The system is in the process of structure formation with time, at the end of the process the structure of the whole system was improved.

INCREASING TOLERANCE AGAINST DROUGHT STRESS IN TWO GENOTYPES OF RICE BY SILICON

Fatemeh Biglary, Raheem Haddad, Ramin Hosseini, Abbas Sotoodehnia
Department of Agricultural Biotechnology, Faculty of Engineering & Technology,
Imam Khomeini International University,
Qazvin, IR of Iran.
For correspondence: Raheem Haddad,
E-mail: raheemhaddad@ikiu.ac.ir;
raheemhaddad@yahoo.co.uk;
Tel: (+98) 281 837 1165, Fax: (+98) 281 378 0073

Drought is one of the major environmental stresses plants affecting plants in the world. Silicon is one of the abundant elements in soil and numerous studies have demonstrated that silicon elevates tolerance of plants against environmental stresses. In the present study, effects of sodium silicate were investigated to analyze drought induced oxidative stress on antioxidant enzymes superoxide dismutase and peroxidase in two rice (*Oryza sativa* L.) cultivars as semi-tolerant and sensitive. A factorial experiment was performed in a completely randomized design with three treatments in three replications in a green-house. Antioxidant enzymes were produced against reactive oxygen species induced by drought stress and changing of enzymes activity occurred in response to stress to protect plant tissues against oxidative stress. In the samples treated with silicon, amount of relative water content decreased, compare to drought stress condition. Superoxide dismutase and peroxidase activity increased in drought silicon treated plants. Silicon is beneficial for mostly higher plants, especially under stressful environment, although it is not considered to be required by higher plants. The results of the present study illustrated that silicon might be caused to increase tolerance in both varieties due to elevation of such enzymatic activities in response to drought stress. Such treatment affects plant tolerance, and therefore, could be suggested to use silicon as external nutrition to achieve higher level of plant production.

PHYLOGENETIC RELATIONSHIP OF COCHLODINIUM POLYKRIKOIDES USING 18S RIBOSOMAL RNA GENE SEQUENCES FROM PERSIAN GULF

Esmat Alemzadeh, Raheem Haddad , Alireza Ahmadi, Ramin Hosseini, Eesa Abdolaliyan
Department of Agricultural Biotechnology,
Faculty of Engineering & Technology,
Imam Khomeini International University,
Qazvin, IR of Iran.
For correspondence: Raheem Haddad,
E-mail: raheemhaddad@ikiu.ac.ir; raheemhaddad@yahoo.co.uk
Tel: (+98) 281 837 1165, Fax: (+98) 281 378 0073.

The mixotrophic dinoflagellate *Cochlodinium polykrikoides* (*C. polykrikoides*) is a causative agent of the recurring harmful algal blooms (HABs) observed in the southern coastal waters of Iran. The *C. polykrikoides* bloom and its associated fish kills have also been reported in other countries such as the US, South Korea, Philippines, China and Japan. *C. polykrikoides* is an unarmoured, marine, planktonic dinoflagellate species with a distinctive spiral-shaped cingulum. It has many possible ichthyotoxic properties. This is a red tide species and can cause fish mortality by rapidly using up nutrients in an area. In this study, the sequence of 18S rDNA was analyzed using sample of *C. polykrikoides* of Persian Gulf, and then, the phylogenetic relationship was drown for *C. polykrikoides* compare to the

other *C. polykrikoides* recorded on the NCBI GenBank. Phylogenic relationship illustrated a high degree of identity 93.69-100% for *C. polykrikoides* at the nucleotide level. The results exhibited the maximum likelihood phylogenetic similarity of Iranian species to the *C. polykrikoides* of South Korea, while the highest levels of differences belong to the American one. This hypothesis confirm that *C. polykrikoides* is from non-native species of the Persian Gulf and might be concluded that this species likely had reached into coastal waters of Oman sea and the Persian Gulf with balance water discharged of vessels and at comfortable conditions.

LIMONENE SYNTHASE GENE EXPRESSION ON DIFFERENT PARTS OF CUMINUM CYMINUM L

Maryam Ghannadnia, Raheem Haddad, Fateme Zarinkamar, Mozafar Sharifi
Department of Agricultural Biotechnology,
Faculty of Engineering & Technology,
Imam Khomeini International University,
Qazvin, IR of Iran.
For correspondence: Raheem Haddad,
E-mail: raheemhaddad@ikiu.ac.ir; raheemhaddad@yahoo.co.uk;
Tel: (+98) 281 837 1165, Fax: (+98) 281 378 0073.

In spite of the significance of medicinal and aromatic herbs, very little is known about the genetics of their secondary metabolism, as the genes of most pathways have not been identified and little is understood of their regulation and function. *Cuminum cyminum* L. is valued for its aroma, medicinal and therapeutic properties. The synthesis of limonene, in providing the first committed intermediate of the pathway, represents a possible rate-limiting step of monoterpenes production. The results of this investigation revealed that limonene synthase (LS) gene expresses in the shoots and flowers of the plants with the gradual reduction during flowers development. Partial sequence of cumin Limonene synthase gene was registered at GenBank accession number JN388566. No expression of the gene was observed in the leaves and roots. Although cumin flowers (fruits) have been identified as main storage organs of terpenoids, the results of this study revealed the highest gene expression in the shoots.

IMPROVMENT STRATEGIES FOR DRY TOLERANCE BY ANTIOXIDANT ENZYME ANALYSING ON TRITICALE

Elham Salmani, Raheem Haddad,
Plant Molecular Biology Lab.,
Department of Agricultural Biotechnology,
Faculty of Engineering & Technology,
Imam Khomeini International University,
Qazvin, IR of Iran.
For correspondence: Elham salmani,
E-mail: Res.pina38@yahoo.com;
Tel: (+98) 281 837 1131, Fax: (+98) 281 378 1175.

In the present study, effect of Silicon (Si) were investigated to analyze drought induced oxidative stress on antioxidative enzymes on two triticale (X Triticosecale) genotypes JUANILO92 (sensitive) and ET-79-17 (tolerant) differing in an experiment with factorial test by three treatment and three repeat. The effects of single stress of silicon on plant growth, oxidative stress and antioxidative

enzymes were studied. H_2O_2 Contents, superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activity, were investigated to analyze the plant growth. Result showed that compared to the plants treated with drought alone, Si treatment caused to increase the activity of SOD and CAT under drought stressed leaves of both cultivars. There was also a marked difference between the two triticale genotypes in the extent of increased antioxidative enzyme activity under dry and silicon stress. This biochemical component may be used as a bio chemical marker to response on drought-stressed, and moreover, may protect the plant tissues from oxidative damage. The result of the present experiment coincided with the conclusion that Si may be involved in the metabolic or physiological changes to increase drought tolerance in Triticale plant.

CALLOGENESIS IN ARTEMISIA ABSINTHIUM, THE EFFECT OF HORMONAL CONCENTRATION

Bita Ghasemi, Ramin Hosseini and Fateme Dehghan Nayeri
Agricutural Biotechnology Department, Imam Khomeini Internathional University, Qazvin, Iran

Artemisia absinthium seeds were cultured in a complete randomized design with three replicates in media containing various amounts of NAA and BAP. Callus cultures were induced from leaf, stem and root explants. The effect of NAA (0, 0.1, 0.5 and 2 mg/L) and BAP (0, 0.5 and 2 mg/L) callogenesis, organogenesis and rhizogenesis were assessed. Results indicated that the presence of both BAP and NAA was necessary for adventitious shoot regeneration (ASR). The best regeneration occurred in the presence of 0.5 mg/L BAP and 0.1 mg/L NAA. Moreover, by increasing BAP and NAA concentrations, the ratio of ASR decreased significantly. The highest shoot regeneration (55%) obtained by using 0.1 mg/L NAA and 0.5 mgL BAP. The highest mean number of shoot regeneration (3.15) observed in the presence of 2 mg/L BAP and 0.1 mg/L NAA. In addition, the highest mean number of rooting (7.7) was observed when 2mg/L NAA was used.

OPTIMISING HAIRY ROOT PRODUCTION IN ARTEMISIA ABSINTHIUM

Bahareh Hedayati, Ramin Hosseini and Nasrin Hedayati
Agricutural Biotechnology Department, Imam Khomeini Internathional University, Qazvin, Iran

Artemisia absinthium is an annual and aromatic plant containing the anti malaria, artemisinin. One method for increasing production level of artemisinin in this plant is the use of the hairy root system. To introduce hairy roots *in vitro* leaf discs of *A. absinthium* the effect of *Agrobacterium rhizogenes* (15834 and GMI534 strains), acetosyringon (at 0.0 and 50mM) and carbon source (sucrose, sorbitol, glucose each at 30mg/L) and the media free of a carbon source (as control) were studied. Results indicated that, the GMI534 strain was more predominant compared to strain 15834 in producing hairy root percentage (64.06%),the mean number of hairy roots (8.83) and the mean of hairy root length (4.95). Besides, to induce hairy roots, the presence of carbon source was necessary and compared to the other carbon sources. Glucose increased hairy root percentage up to 92%. Results also revealed that acetosyringon alone had not a significant effect on the above traits. However its interaction with strain was significant.

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТЕНИЯ LYSIMACHIA VULGARIS L

Загороднюк Е.Д., Рыбалко А.Е.
Сочинский государственный университет,
354350, г. Сочи, ул. Советская, 26-а.

Род вербейник (Lysimáchia L.) — многолетние, двухлетние или однолетние травы, или иногда кустарники семейства первоцветные (по новой систематике Мирзиновых). В род входит более 150 видов, произрастающих в субтропической и умеренной зонах в Северном полушарии, подавляющее большинство из них, 70 видов, растут в Китае. В России 11 видов вербейника произрастают практически повсеместно. Травянистый многолетник высотою до метра, часто встречающийся на влажных лугах, в прибрежных растительных сообществах, в кустарниках, на болотах. Природный ареал включает всю Европу, Крым, Кавказ, Сибирь, Дальний Восток и Среднюю Азию.

В растении выявлены сапонины и аскорбиновая кислота; последней особенно много во время цветения. Обладает вяжущим, желчегонным, тонизирующим, противосудорожным, обезболивающим, противовоспалительным, кровоостанавливающим и ранозаживляющим действием.

В литературе имеется ряд работ по применению методов культуры ткани для размножения указанного растения. Изучаются состав питательной среды на регенерацию побегов из стеблевых верхушек, режимы корнеобразования и т.д.

В наших исследованиях использован вербейник обыкновенный (Lysimachia vulgaris L.). Биологический материал собирали в пригородном лесу микрорайона Блиново, г. Сочи. Семена собирали в сентябре 2011 года. Собранные семена проращивали непосредственно после сбора, прорастание происходило в течение 5-6 дней. Проростки высаживали на питательную среду МС (Murashige and Scoog, 1962) с сахарозой (20 г/л) и агаром (0,6%), дополненной бензиламинопурином (1 мг/л) и нафтилуксусной кислотой (0,1 мг/л). Из пересаженных 50 культур получено 22 стерильные. Пробирочные растеньица хорошо развивались в климатической камере. Через 6 недель растеньица расчеренкованы и микрочеренки высажены на среду того же состава. Коэффициент размножения составил

WORKING OUT OF A TECHNIQUE OF MICROPROPAGATION OF PHARMACEUTICAL PLANT LYSIMACHIA VULGARIS L

E.D. Zagorodnyuk, A.E. Rybalko
Sochi State University,
354 350, Sochi, ul. Sovetskaya, 26-a.

Famely loosestrife (Lysimáchia L.) from perennial, biennial or annual grasses, shrubs, or sometimes the family Primulaceae (new taxonomy Mirzinaceae). The genus includes more than 150 species, native to subtropical and temperate zones in the northern hemisphere, the vast majority of them, 70 species growing in China. In Russia, 11 species of loosestrife grow almost everywhere. Herbaceous perennial height of one meter, often found in wet meadows, riparian plant communities in the bushes on the moor. The natural area includes all of Europe, the Crimea, the Caucasus, Siberia, the Far East and Central Asia.

In plant identified saponins and ascorbic acid, especially a lot of the time of flowering. Astringent, cholagogue, tonic, anticonvulsant, analgesic, antipyretic, hemostatic and wound-healing effect. The literature contains a number of papers on the application of tissue culture for propagation of this plant.

We study the composition of culture medium on shoot regeneration from stem apexes, root formation modes, etc.

In our studies used common loosestrife (Lysimachia vulgaris L.). Biological material was collected in a suburban forest district Blinov, Sochi. Seeds were collected in September 2011. The collected seeds were germinated immediately after collection, germination occurred within 5-6 days. Seedlings were planted on MS nutrient medium (Murashige and Scoog, 1962) with sucrose (20 g/l) and agar (0.6%) supplemented with benzylaminopurine (1 mg / liter) and naphthaleneacetic acid (0.1 mg/l). Transplanted from 50 cultures received 22 sterile. Vitro plantlets developed well in a climate chamber. After 6 weeks, seedlings and propagated mikrocutting planted on the medium of the same composition.

КУЛЬТУРА *IN VITRO* РЕДКОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТЕНИЯ BLACKSTONIA PERFOLIATA (L). Huds. (РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО СЫРЬЯ)

Шевлякова Л.А., Орлова Г.Л., Рыбалко А.А.
Сочинский государственный университет,
354350, г. Сочи, ул. Советская, 26-а.

В опытах Nishikawa et. al. (1998) были получены стерильные стеблевые и каллусные культуры B. perfoliata (L). Huds. и трех видов Gentiana: G. lutea , G. triflora и G. rubicunda, и в тканях были определены количества горьких включений, таких как swertiamarin, gentiopicrin, 2'-(о, м-dihydroxybenzoyl) sweroside и amarogentin и фенолов (апигенин и gentisin). Растеньица B. perfoliata в пробирке, культивируемые на среде без фитогормонов 1/2 MS, накопили большое количество gentiopicrin (максимум 4,49% на сухой вес листовой массы), уровень которого был сравним с каллусом G. lutea. B. perfoliata, культивированный на 1/2 MS среде, дополненной 3.0 mg/л ИУК.

Blackstonia perfoliata (L). Huds. однолетнее растение семейства Gentianaceae – находящееся под угрозой исчезновения в Сочинском Причерноморье из-за слабой конкурентоспособности в среде обитания. Это растение является важным источником лекарственных субстанций. Метод культуры ткани является необходимым для сохранения указанного вида и эффективного использования его в фармацевтической промышленности. Мы изучили возможность введения в культуру in vitro этого растения. В июле –августе 2011 года были выявлены единичные экземпляры в окрестностях села Красная воля Адлерского района г. Сочи и собраны семена. Для введения в культуру in vitro семена проращивали в вермикулите. Отмечена высокая энергия прорастания семян, однако как и в других представителей этого семейства (эустома) отмечен длительный ювенильный период. Семена и сеянцы вводили в питательную среду МС (Murashige and Scoog, 1962) с сахарозой (20г/л) и агаром (0,6%), дополненной бензиламинопурином (1 мг/л) и нафтилуксусной кислотой (0,1 мг/л). Получены стерильные каллусные культуры из сеянцев и морфогенные культуры из семян. Проводятся исследования по кондиционированию условий микроразмножения и накопления каллуса.

STUDI OF INTRODUCTION IN CULTURE *IN VITRO* RARE PHARMACEUTICAL PLANT BLACKSTONIA PERFOLIATA (L). Huds. (WORKING OUT OF TECHNOLOGY OF RECEPTION OF PHARMACEUTICAL RAW MATERIALS)

L.A. Shevlyakova, G.L. Orlova , A.A. Rybalko
Sochi State University
354350. Soviet street 26-a.

In experiences Nishikawa et. al. (1998) have been received sterile stem and callus cultures B. perfoliata (L). Huds. and three species of Gentiana: G. lutea, G. triflora, G. rubicunda were found in the tissues were determined amount of bitter inclusions such as swertiamarin, gentiopicrin, 2'-(o, м-dihydroxybenzoyl) swerosideand amarogentin and phenols (apigenin and gentisin). Plantlets B. perfoliata (L). Huds. in vitro cultured on environment without phytohormones half MS, a great amount of gentiopicrin (maximum 4,49% on dry weight of leaf) whose level was comparable with calluses G. lutea B. perfoliata perfoliata (L). Huds. , cultured on half MS medium supplemented with 3.0 mg/l IAA.

Blackstonia perfoliata (L). Huds. Annual plant family Gentianaceae — under threat of extinction in the Sochi Black Sea Coast due to weak competitiveness in the environment. This plant is an important source of medicinal substances. The method of tissue culture is essential for the conservation of this species and effective use in the pharmaceutical industry. B. perfoliata (L). Huds. has very small seeds (1 gr contains 170.000 seeds). We have studied the possibility of introducing in vitro culture of this plant. In July and August 2011 were identified in individual specimens near the Village of Red Will Adler district of Sochi and collected seeds. For an introduction to culture in vitro seeds were germinated in vermiculite. The high energy of germination, but like other members of this family (eustoma) is marked by a long juvenile period. Seeds and seedlings were introduce into the nutrient medium MS (Murashige and Scoog, 1962) with sucrose (mg/l) and agar (0.6%) supplemented with benzylaminopurine (1 mg/l) and naphthalene acetic acid (0.1 mg/l).

Obtained sterile callus of seedlings and morphogenic culture of seeds. Research on air conditioning and storage conditions for micropropagation of callus.

ЭУСТОМА — НОВОЕ СЫРЬЕ ДЛЯ ФАРМАЦЕВТИКИ (EUSTOMOSIDE, EUSTOSIDE AND EUSTOMORUSSIDE)

Юревич И.А, Петикян Э.В., Рыбалко А.Е.
Сочинский институт Российского университета дружбы народов,
354348, Сочи, ул. Куйбышева, 32

Как представитель семейства горечавковых. эустома является источником важных для фармацевтики секоиридоидов. Эустома имеет важное значение для выращивания срезанных цветов, она входит в 10 самых популярных цветов в мире используемых также для горшечной культуры и создания ландшафтных композиций. Существуют проблемы с размножением эустомы сеянцами. культура ткани имеет преимущества в получении посадочного материала.

Эустома подвержена вирусным заболеваниям. По крайней мере, около 15 видов вирусов из 8 таксономических групп выявлено на горечавковых. Следует провести исследования по технологии микроразмножения этой культуры прежде чем иступить к сложной и дорогостоящей процедуре оздоровления от комплекса вирусов.

Исследования по микроразмножению эустомы в нашей стране начато недавно с инициации стерильной культуры [1]. С целью совершенствования режимов микроразмножения мы испытали различное соотношение цитокининов на фоне 0,1 мг/л нафтилуксусной кислоты.

Как показали результаты исследований различные дозы цитокининов вели себя по разному. При дозах 0,2 мг/л у кинетина и бензиламинопурина отмечено стеблеобразование, причем кинетин достоверно увеличивал количество стеблей. Различные дозы кинетина (1 и 4 мг/л) были равны. Дозы бензиламинопурина 1 и 4 мг/л практически не дали стеблей, а при дозе 0,2 мг/л бензиламинопурин достоверно уступал кинетину за счет более интенсивного каллусообразования (кинетин – 10,17±2,29 стебля, бензиламино-пурин – 5,5±1,05).

Используемая литература:

1. Rybalko A.A.et. a.l. Micropropagation in vitro of plants of family Gentiana and others endemic of plants of Northern Caucasus. Biotechnology and Ecology of Big Cities. Editors: Sergey D. Varfolomeev, G.E. Zaikov, L.P. Krylova. Nova Science Publishers, Inc., 2011, P. 61-69.

ДИКОРАСТУЩИЕ КОЛХИДСКИЕ ОРХИДЕИ И ИХ СОХРАНЕНИЕ КАК ОБЪЕКТОВ ПРОСВЕЩЕНИЯ И ПРОДУЦЕНТОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СУБСТАНЦИЙ

Аверьянова Е.А.[1], **Харута Л.Г.**[2]**Рыбалко А.Е.**[2], **Скипина К.П.**[2]

[1]*Член Сочинского отделения Российского географического, общества*

E-mail: drjoma-zimovnikova@rambler.ru

[2]*Сочинский институт Российского университета дружбы народов,*

354340, г. Сочи, ул. Куйбышева, 32

В районе Большого Сочи, по данным Солодько и Макаровой (2011г.) встречается 46 видов наземных орхидей, многие из них произрастают на границе ареала. Как правило, это редкие растения, занесенные в Красную Книгу РФ и региональные Красные Книги, немало их находится на грани исчезновения, а некоторые в последние годы на территории Сочинского Причерноморья учеными уже не обнаруживаются.

Растительность узкой полосы прибрежного низкогорья, относящаяся к колхидскому ботаническому типу, находится под колоссальным антропогенным прессом. Населенные пункты разрастаются и захватывают всё новые склоны и так весьма ограниченной площади колхидских субтропических лесов. Солидная часть их отошла под олимпийское строительство. Рекреационное воздействие ширится и усиливается.

Совместно с научно-образовательным центром «Биотехнология» сочинского института РУДН проводятся исследования по разработке технологии массового производства оздоровленных растений орхидеи методами культуры in vitro для восстановления исчезающих ареалов. Эти разработки будут использованы для организации научного туризма, практического применения в производстве биологически активных веществ, изучения пораженности ценных дикорастущих растений Кавказа контаминирующей инфекцией (главным образом вирусной), отработка техники получения неконтаминированных каллусных культур, кондиционирование условий микроразмножения ценных растений, разработки технологии получения промышленных партий растительного сырья (каллус, интактные растения).

ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* ТРЕХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ СЕВЕРНОГО КАВКАЗА (MENTHA LONGIFOLIA L., ORIGANUM VULGARE L., THYMUS VULGARIS L.)

Маевский С.М., Губаз С.Л., Рыбалко А.А.
Сочинский институт Российского университета Дружбы народов,
354340, г. Сочи, ул. Куйбышева, 32

Яснотковые — род ароматических многолетних трав, распространенных, главным образом, в умеренных и полуумеренных зонах. Они являются источниками эфирных масел, широко используются в фармацевтической промышленности из-за их терапевтических, антибактериальных, антивирусных и антиоксидантных свойств. Мы здесь рассматриваем мяту, тимус и орегано (душица). У этих родов есть большое количество разновидностей, которые отличаются широко по их особенностям и уровню плоидности. Кроме того, рассматриваемые виды является важными пищевыми культурами. Целесообразно также рассмотреть использование эти растения в ландшафтном дизайне.

На Черноморском побережье г. Сочи произрастают несколько видов яснотковых. В том числе перспективные виды Mentha longifolia (L.) Huds., Origanum vulgare L., Thymus caucasicus Willd. ex Ronniger. Имеется ряд научных сообщений по использованию методов культуры ткани для различных исследований этих растений. Учитывая большое экономическое значение этих видов, мы провели исследования по разработке методики введения их в культуру in vitro и микроразмножения. Биологический материал для исследований отбирали в окрестностях села Красная воля Адлерского района г. Сочи. Отобранные растения выращивали в теплице. В работе использовали молодые побеги. Стерилизованные стеблевые верхушки размером 0,2 – 0,3 мм вводили на поверхность питательной среды МС с инозитом 100 мг/л, агаром — 6 г/л и сахарозой — 20 г/л. Состав этой основной среды отличался по содержанию фиторегуляторов (кинетин и бензиламинопурин, нафтилуксусная кислота). Полученные стерильные культуры выращиваются в ростовой камере. Отрабатывается методика повышения коэффициента размножения и нестерильного укоренения пробирочных черенков для разработки технологической карты производства посадочного материала.

INTRODUCTION IN CULTURE *IN VITRO* THREE PHARMACEUTICAL HERBS NORTHERN CAUCASUS (MENTHA LONGIFOLIA L., ORIGANUM VULGARE L., THYMUS VULGARIS L.)

S.M. Maevtsky, S.L. Gubaz , A.A. Rybalko
Sochi Institute of Russian University of People's Friendship,
354340, Sochi, Kuibysheva 32

Genus Labiatae of aromatic perennial herbs, distribute in temperate zones and semi-moderate. They are sources of essence, are widely used in a pharmaceutical industry because of their therapeutic, antibacterial, anti-virus and антиоксидантных properties. We consider here the mint, oregano, and thymus. These genera have a large number of varieties, which differ widely in their characteristics and ploidy level. In particular, we know about forty recognized species of mint, which differ by the presence or absence of major compounds such as carvone, menthone, menthol and piperitone. In addition, the species is considered important food crops. It is also advisable to consider using these plants in landscape design. On Sochi Coast of the Black Sea grow several kinds of Labiatae. Includes perspective views of Mentha longifolia (L.) Huds., Origanum vulgare L., Thymus caucasicus Willd. Ex Ronniger. There are a number of scientific reports on the use of tissue culture to various studies of these plants. Given the economic importance of these species, we conducted a study to

develop a method of introducing the culture in vitro and micropropagation of these species. Biological material for research were collected near the village of Red will Adler district of Sochi. The selected plants were grown in a greenhouse. We used the young shoots. Before the introduction of the culturesurface sterilization of explants in a solution of sodium hypochlorite at a concentration of 0.5% for 15 minutes and washed sequentially in 3 batches of sterile distilled water. Stem apex of 0.2 - 0.3 mm was introduced on the surface of MS medium with inositol 100 mg/l, agar - 8 g/l and sucrose - 30 g/l. The composition of the basic medium differed in content plant growth regulator (kinetin and benzylaminopurine, naphtaleneacetic Obtained sterile cultures are grown in a growth chamber. To develop methods of enhanced breeding and non-sterile rooting cuttings for test-tube design flow chart of production of planting material.

ВВЕДЕНИЯ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* МЕЛКОЛУКОВИЧНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ СОЧИНСКОГО ПРИЧЕРНОМОРЬЯ (SCILLA, MUSCARI, GALANTHUS)»

Мацькив А.О, Аракелян М.А, Рыбалко А.Е.

Сочинский институт Российского университета дружбы народов,
354340, г. Сочи, ул. Куйбышева, 32

В Сочинском Причерноморье произрастают разные виды порядка Liliales, имеющие перспективу использования в фармацевтической промышленности. Это представители семейства амариллисовых — подснежник (Galanthus alpinus Sosn., G. platiphyllus Traub et Moldenke, G. risechense Stern, G. woronowii Losinsl.), белоцветник (Leucojum aestivum L.); гиацинтовых — виды мускари (Muscari coeruleum Losinsk., M. dolichanthum Woronow et Tron, M. neglectum Guss., M. pallens M. Bieb.), пролеска (Scilla bifolia L.); безвременниковые – (Colchicum speciosum Steven, C. laetum Steven) и др. Они имеют статус уязвимых и нуждаются в защите. Наряду с этим, они могут быть использованы в народном хозяйстве как первоцветы для раннего (февраль — март) озеленения города и как продуценты эксклюзивных лекарственных субстанций.

Учитывая важность этих растений для разработки программы нового поколения сохранения исчезающей флоры в нашем регионе, мы провели работу по введению в культуру in vitro для микроразмножения мускари, сциллы и галантуса. С этой целью на питательную среду Мурасиге-Скуга, дополненную БАП (1 мг/л) и НУК (0,2 мг/л) высаживали экспланты чешуек луковиц. В течение 4 недель на них образовались дочерние микролуковички. При пересадке их на свежую среду вновь нарастали микролуковички. При последующем разделении у 6 культур мускари после 8 - недельного выращивания коэффициент размножения составил в среднем 8,17±1,83 шт. Такую процедуру мы проводим регулярно, что дает возможность получит большое количество однородных посадочных единиц. Аналогичные результаты получены для сциллы и галантуса. По этой же методике мы проводим микроразмножение различных промышленных культиваров лилий. Применяемая стандартная методика может быть использована и для других растений порядка Liliales.

МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ ЗВЕРОБОЯ ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ И ОРНАМЕТАЛЬНЫХ ЦЕЛЕЙ

Гурченкова Ю.А., Рыбалко А.Е., Харута Л.Г.
Сочинский институт Российского университета дружбы народов,
354340, г. Сочи, ул. Куйбышева, 32,
E-mail: sfrudn@rambler.ru, факс: +7 (8622) 411043

К семейству Hypericaceae относят 47 родов и около 850 видов, преимущественно тропического происхождения. На территории России встречается только 2 рода, один из которых представлен одним видом, растущим на Дальнем Востоке, а второй род — зверобой насчитывает более 50 видов. Зверобойные — древесные, кустарниковые, реже травянистые растения. Различные виды рода зверобоя использовались в качестве средства для лечения язв, ожогов, ран, боли в животе и бактериальных заболеваний с древних времен. В последнее время в клинических испытаниях было использовано для лечения депрессиии вирусных заболеваний. Антидепрессивная активность объясняется наличием гиперицина, гиперфорина и флавоноидами.

Виды Hypericum. maculatum Crantz., H. perforatum L. приведены в медицинских справочниках как компоненты препарата Herba Hyperici, однако мало внимания было уделено вторичным метаболитам и их динамике. Несмотря на это, многие авторы обнаружили, что растения H. maculatum Crantz. синтезируют и накапливают гиперицин и флавоноиды, в количествах, близких к обнаруженному у H. perforatum L.

Культура in vitro была применена для размножения видов зверобоя, внимание ученых главным образом было направлено на размножение видов Hypericum perforatum L.

Мы исследовали эффект регуляторов роста растений на микроразмножение in vitro для быстрого увеличения числа побегов от пазушных почек H. perforatum L. С этой целью нодальные сегменты были культивированы на среде MS (1962). Растительный материал отобран в июле 2011 среди дикорастущих растений в районе города Сочи. Стерилизация растительной ткани была проведена стандартными методами. В опытах были испытаны различные концентраций бензиламинропурина и кинетина (0,1; 1,0 и 2,0 мг/л) на фоне стандартной дозы нафтилуксусной кислоты (0,1 мг/л).

MICROPROPAGATION OF HYPERICUM FOR MEDICINAL AND ORNAMENTAL PURPOSES

Y.A. Gurchenkova, A.E. Rybalko, L.G. Kharuta
Sochi Institute of Russian people`s friendship university,
Kuibyshev str. 32, E-mail: sfrudn@rambler.ru,
Fax +7 (8622) 411043

The family Hypericaceae include 47 genera and 850 species, mostly of tropical origin. Only two kinds are found in the territoryRussia, one of them is represented by one species, growing in the Far East, and the second genus — has more than 50 species.

Hypericum — tree, shrub, rarely herbaceous plants. Various species of the genus Hypericum have used as a tool for the treatment of ulcers, burns, wounds, abdominal pain and bacterial diseases since ancient times. In recent in clinical trials have been used to treat depression and viral diseases. Antidepressant activity due to the presencehypericins, hyperphorinsand flavonoids. Types of Hypericum maculatum Crantz., H. perforatum L. are several pharmacopoeias as components of the drug Herba Hyperici, however, little attention was paid to the secondary metabolites and their dynamics. Despite this, many authors found that plants H. maculatum synthesize and accumulate

hypericin and flavonoids, in amounts similar that found in H. perforatum. In vitro culture was used for the reproduction of Hypericum L, the views of scientists should focus on the reproduction of H. perforatum L. We investigated the effect of plant growth regulators on the micropropagation in vitro for a quick increase in the number of shoots from axillary buds H. perforatum L. For this purpose, nodal segments were cultured on MS medium (1962). The plant material selected in July 2011 among the wild plants in the area of the city Sochi. Sterilization of plant tissue was determined by standard methods. Test of different concentrations of benzylaminopurine and kinetin (0,1; 1,0 и 2,0 mg/l) on the background of a standard dose of naphthaleneacetic acid (0,1 mg/l).

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОГУМУСА ДЛЯ СТИМУЛИРОВАНИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ РАСТЕНИЙ КЛУБНИКИ (FRAGARIA × ANANASSA DUCHESNE EX ROZIER)

Чупахина Н.Ю.[1], **Тынутаре Т.**[2], **Полтавская Р.Л.**[3], **Чупахина Г.Н.**[3], **Гербст О.В.**[1]

[1]*ФГОУ ВПО «Калининградский государственный технический университет»*
Советский проспект, 1; Калининград 236000, Россия. tchupakhina.nataliya@ya.ru

[2]*Эстонский Университет Естественных Наук*
ул. Креутзвальди 1, Тарту 51014, Эстония. tonu.tonutare@gmail.com.

[3]*Балтийский Федеральный Университет им.И.Канта*
ул. Университетская, 2; Калининград 236040, Россия. poltavskaya.raya@gmail.com, tchupakhina@mail.ru

Исследовано действие трёх продуктов компании «Green-PIK KANAK OÜ» (Эстония) — («Vermicompost Green-PIK»), «Рупоникс» («Ruponics») и «Гумистар» («Humistar Green-PIK») на общее содержание антиоксидантов в зрелых листьях и ягодах земляники садовой (клубники) (Fragária x ananassa Duch.) сорта Соната /1/.

«Биогумус Грин-ПИКъ» представляет собой концентрированное мелкогранулированное удобрение, а «Рупоникс» и «Гумистар» являются его жидкой и маслообразной вытяжками соответственно. Удобрения вносились прикорневым способом. Экспериментальные растения высаживались в открытый грунт и выращивались в условиях производственного поля на юге Тартусского уезда Эстонской Республики в мае 2010г. Листья для анализа собирались в мае, а ягоды — в июне 2011 г. Определение суммарной антиоксидантной активности проводилось по авторской методике Яшина Я.И.на приборе Цвет Яуза-01-АА.

Использование жидких препаратов «Гумистар» и «Рупоникс» по-разному действовало на листья и ягоды клубники. «Гумистар» ингибировал АА листьев на 25,7%, а «Рупоникс» — на 65,3%. Препарат «Гумистар» стимулировал АА ягод клубники на 4,6%, а «Рупоникс» — на 10,5%. Удобрение «Биогумус Грин-ПИКъ» стимулировало антиоксидантную активность листьев и плодов клубники на 15,3 и 60,4% соответственно.

1. Rajbir Singh, R.R. Sharma, Satyendra Kumar, R.K. Gupta, R.T. Patil. Vermicompost substitution influences growth, physiological disorders, fruit yield and quality of strawberry (Fragaria x ananassa Duch.). Bioresource Technology 99 (2008) 8507–8511.

THE USE OF VERMICOMPOST FOR STIMULATION OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF STRAWBERRY PLANTS (FRAGARIA × ANANASSA DUCHESNE EX ROZIER)

Tchupakhina N.U.[1], **Tõnutare T.**[2], **Poltavskaya R.L.**[3], **Tchupakhina G.N.**[3], **Gerbst O.V.**[1]
[1]*Kaliningrad State Technical University*
Sovetsky prospect, 1. Kaliningrad 236000, Russia. tchupakhina.nataliya@ya.ru
[2]*Estonian University of Life Sciences*
Kreutzwaldi str., 1. Tartu 51014, Estonia. tonu.tonutare@gmail.com.
[3]*Immanuel Kant Baltic Federal University*
Universitetskaya str., 2. Kaliningrad 236040, Russia.
poltavskaya.raya@gmail.com, tchupakhina@mail.ru

The research was conducted on the effect of three products of the company «Green-PIK KANAK OÜ» (Estonia), made on the basis of vermicompost, — fertilizers “Vermicompost Green-PIK”, “Ruponics” and “Humistar Green-PIK” — on the total content of antioxidants in ripe leaves and berries of garden strawberry (Fragária x ananassa Duch.), Sonata variety /1/.

“Vermicompost Green-PIK” is a concentrated granulated fertilizer. “Ruponics” and “Humistar” are its liquid and oily extracts, respectively. The fertilizers were applied around the roots. The experimental strawberries were planted in the open ground and were grown in the production fields in the south of Tartu County, Estonia, in May 2010. Leaves for the analysis were collected in May, and berries — in June of 2011. The estimation of the total antioxidant activity was carried out using the author’s method of Yashin Y.I.on the analyzer “TsvetYauza-01-AA”.

Liquid conditioners “Humistar” and “Ruponics” had different effects on the leaves and berries of the strawberry. “Humistar” inhibited AA of the leaves by 25.7%, and “Ruponics” — by 65.3%. “Humistar” stimulated AA of berries by 4.6%, and “Ruponics” — by 10.5%. Fertilizer “Vermicompost Green-PIK” stimulated the antioxidant activity of strawberry leaves and berries by 15.3 and 60.4%, respectively.

1. Rajbir Singh, R.R. Sharma, Satyendra Kumar, R.K. Gupta, R.T. Patil. Vermicompost substitution influences growth, physiological disorders, fruit yield and quality of strawberry (Fragaria x ananassa Duch.). Bioresource Technology 99 (2008) 8507–8511.

МОДЕЛИРОВАНИЕ НОВЫХ ПИЩЕВЫХ РАЦИОНОВ ГИПОТЕНЗИВНОГО ДЕЙСТВИЯ, ОБОГАЩЕННЫХ БЕЛКАМИ КАРНИТИНАМИ

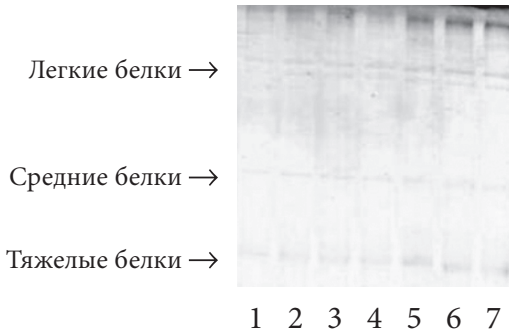
Радченко М.В., Здрабова Е.М.,
д.б. н. профессор Шалимова О.А.
ФГБОУ ВПО Орловский Государственный Аграрный Университет
Россия, 302019, Орел, ул. Ген. Родина,69

Еще в 1905г. русскими учеными Гулевичем В.С.и Кримсбергом Р. был выделен белок карнитин из мясного экстракта. Отсюда пошло название от латинского carnis-мясо. По биогенной природе карнитин близок к карнозину — веществу, участвующему в биохимической динамике мышечной ткани. Замечательным свойством карнитина является его способность снижать содержание в организме холестерин и замедлять образование в сосудах атеросклеротических бляшек, улучшает работу сердца и сосудов. Анаболическое действие карнитина проявляется в стимуляции биосинтеза белка. В эксперименте в условиях содержания животных на недостаточной белковой диете он оказывает нормализующее влияние на белковый обмен, т.е. позволяет организму при прочих условиях обходиться меньшими количествами белковой пищи.

Употребляя в пищу продукты, прошедшие термообработку в наш организм не поступает достаточное количество полезных веществ. Одним из способов сохранения микро-,макроэлементов, витаминов, ферментов, жирных кислот является технология вяления продуктов. В процессе сыровяления мясные продукты сохраняют большинство полезных веществ, в частности низкомолекулярных водо- и солерастворимых белков, к которым относятся карнитины. Поэтому актуальной является задача изучение свойств белков сыровяленых продуктов из говядины, которые оказывают положительное воздействие на уровень систолического и диастолического давления.

В связи с вышесказанным была поставлена задача модификации метода электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия с целью изучения молекулярно-массового распределения водорастворимых белков сыровяленой говядины и поиска качественных и количественных показателей белков-карнитинов сыровяленых продуктов.

Результаты данных исследований представлены на электрофореграмме.



Электрофореграмма белков сыровяленой говядины: 1,2 – мясо свинины, 3,4 – мясо говядины, 5,6 – суджук (сыровяленый продукт), 7 – белки сои.

Как показали данные электрофореза, белки сыровяленных продуктов разделяются на три группы – легкие средние и тяжелые (по величине молекулярной массы). Наибольшее количество спектров белков отмечено в зоне легких белков, относящихся к группе экстрактивных. Предполагаем, что карнитин выявляется именно в этой электрофоретической группе. В дальнейшем необходимо модифицировать концентрацию разделяющего геля с целью более четкого разделения и идентификации экстрактивных белков с низкой молекулярной массой.

В настоящий момент проводится ряд экспериментов на лабораторных животных — лабораторных мышах аутбредной линии CD-1, шерсть белая, в рацион которых принудительно введены компоненты мясной пищи, содержащие низкомолекулярные экстрактивные белки. Эксперимент проводится на четырех группах, в каждой группе по семь особей. В двух клетках посажены самцы, в одной самки, а четвертая смешанная группа. На последней группе проводится эксперимент по изучению влияния мясного белка — карнитина на плодовитость. В рацион контрольных животных вводится мясной белок в виде фарша (вареное мясо говядины), опытных — измельченное сыровяленое мясо говядины и экстракция мясных белков.

На основании полученных данных будут разработаны рекомендации для коррекции диеты людям с повышенным давлением.

SIMULATION OF NEW FOOD RA ZION HYPOTENSIVE ACTION, OBO-ENRICHMENT PROTEINS-CARNITINE

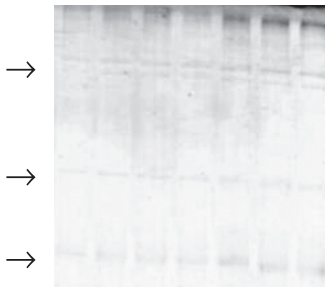
Mikhail V. Radchenko, Zdrabova Ekaterina, gb Mr. Professor O. Shalimov
FGBOU VPO Orel State Agrarian University
Russia, 302019, Orel, ul.Gen.Rodina, 69

As early as 1905. Russian scientists Gulevich VS and R. Krimsbergom carnitine was isolated protein from meat extract.Hence came the name from the Latin carnis-meat. By the nature of nutrient carnitine is close to karnozi, well — the substance is involved in the biochemical dynamics of the muscle tissue. A remarkable property of carnitine is its ability to reduce the content of the organism cholesterol and slow the formation of atherosclerotic plaques in blood vessels, improves heart and blood vessels. Anabolic effect of carnitine appears to stimulate protein biosynthesis. In the experiment under conditions of animal protein diet on the lack of it has a normalizing effect on protein metabolism, ie allows the body for other conditions on-hoditsya smaller amounts of protein foods.

Eating foods that have passed the thermal treatment in our body is not received enough of quantity of nutrients. One way of conservation of micro-, macro-elements, vitamins, enzymes, fatty acids, is the technology of drying foods. In the process of jerked meat products retain most of the nutrients, in particular nizkomole-molecular water-and salt-soluble proteins, which include L-carnitine. Therefore, the actual per-giving is to study the properties of proteins jerked beef products that have a positive impact on the condition-systolic and diastolic blood pressure.

In view of the foregoing has been tasked to modification of the method of electrophoresis in polyacrylamide gel-rated in the presence of sodium dodecyl sulfate in order to study the molecular weight distribution of water-soluble proteins of jerked beef and find qualitatively and quantitative indicators of protein-carnitine jerked foods.

The results of these studies are presented on the electrophoregram.



Electrophoregram jerked beef protein: 1.2 - pork, 3.4 - beef, 5.6 - Sudzhuk (jerked product), 7 - soy proteins.

As shown by the data of electrophoresis, proteins, damp-dried foods are divided into three groups — light medium and heavy (in terms of molecular weight). The greatest number of observed spectra of proteins in the light-proteins belonging to a group of extractives. We assume that carnitine was detected in the electrophoretic band. In the future, you need to modify the concentration of separating gel with integral-pour a clearer separation and identification of protein-setting extraction of low molecular weight.

We are currently performing a series of experiments on laboratory animals — the laboratory mice, outbred CD-1 line, the hair white in the diet to force meat components are introduced, with a low molecular weight extractives-containing proteins.The experiment was conducted on four groups, each group of seven individuals. In two cells planted males, one female, and the fourth mixed group. At the last group conducted an experiment on the effect of meat protein — carnitine on fertility. In the diet

of the control animals injected meat protein in the form of minced meat (boiled beef), experienced — grinding thus obtained jerked beef and meat protein extraction.

Based on these data will be developed recommendations for the correction of the diet for people with elevated pressure-nym.

РАЗНОЕ
DIFFERENT

ОСОБЕННОСТИ УТИЛИЗАЦИИ МЕДИЦИНСКИХ ОТХОДОВ МОСКОВСКОМ РЕГИОНЕ

Цейтин К.Ф.,
заместитель руководителя экспертного совета МГД по экологической политике, заслуженный эколог России;
Розумная Л.А.,
кбн, доцент РГСУ,
Островкин П.И.,
аспирант РГСУ, зам. Генерального директора «Стройинжсервис -2»

В Москве ежегодно образуется свыше 200 тыс. тонн медицинских отходов (МО), с тенденцией к интенсивному росту. Большая часть отходов ЛПУ (от 75% до 85%) не представляет опасности, может быть отнесена к ТБО, и утилизироваться вместе с ними. В то же время, существенная часть отходов (от 15% до 25%), опасных в эпидемиологическом отношении, требует особого внимания, так как представляет реальную опасность, как для медицинского персонала, так и для окружающей среды.

По инициативе Московской Городской Думы Правительство Москвы издало Распоряжение от 30 мая 2006 г. № 916-РП «О проведении эксперимента по внедрению комплекса мероприятий по обращению с медицинскими отходами лечебно-профилактических учреждений, находящихся на территории Юго-Восточного административного округа города Москвы». Решение поставленных задач было построено на скоординированном сочетании научно-исследовательских и практических сил с целью получения оптимальных результатов в минимально короткие сроки. Привлечение законодательных и исполнительных структур города позволило комплексно решить проблему согласования действий в области обращения медицинских отходов со стороны всех заинтересованных структур — администрации округа, Департамента здравоохранения, Департамента ЖКХ и благоустройства города, Департамента природопользования и охраны окружающей среды, органов Роспотребнадзора и органов Ростехнадзора. Положительные результаты по итогам эксперимента в Юго-Восточном административном округе города Москвы легли в основу Положения о порядке сбора, перемещения, уничтожения и учета отходов лечебно-профилактических учреждений Департамента здравоохранения города Москвы. Положение утверждено Постановлением Правительства от 23 декабря 2008 г. №191-ПП «О Городской целевой программе по совершенствованию внутрибольничной системы обращения с отходами лечебно-профилактических учреждений Департамента здравоохранения города Москвы, опасными в эпидемиологическом отношении, на 2009 -2011 гг.»

Городская целевая программа предусматривает:

- внедрение в ЛПУ города, подведомственных Департаменту здравоохранения, прогрессивных, экономически эффективных и экологически безопасных методов аппаратного обеззараживания опасных в эпидемиологическом отношении МО, позволяющих исключить химическую дезинфекцию в местах первичного образования;

- обеспечение ЛПУ необходимыми материально-техническими средствами для организации безопасного сбора, обеззараживания и удаления медицинских отходов;
- развитие системы подготовки медицинского и технического персонала и создание системы информационно-методической поддержки в области обращения с МО.

Анализ проблемы поиска путей оптимизации процесса утилизации МО, как фактора экологической безопасности показывает, что их решение лежит в плоскости реализации уже ныне действующего Государственного контроля в сфере обращения с медицинскими отходами ЛПУ.

Государственный контроль в сфере обращения с медицинскими отходами ЛПУ осуществляют:
- Департамент здравоохранения города Москвы;
- Департамент природопользования и охраны окружающей среды города Москвы;
- Департамент жилищно-коммунального хозяйства и благоустройства города Москвы;
- Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по городу Москве в соответствии со своей компетенцией.

Решение проблемы обращения с МО в Москве с привлечением органов законодательной и исполнительной власти города позволит создать безопасную систему их сбора, обеззараживания, транспортирования и захоронения (сжигания), позволяющую проводить обращение с МО на современном уровне.

PECULIARITIES OF MEDICAL WASTE IN THE MOSCOW REGION

Tseitin KF
Deputy Head of the Expert Council of the Moscow City Duma of the Environmental Policy, Distinguished Ecologist Russia;
Rozumnaya L.A.
candidate biological sciences, Associate Professor of Russian State Social University;
Ostrovkin P.I.
Postgraduate RSSU, Deputy Director-General "Stroyinzhservis -2 "

In Moscow, produced each year over 200 tons of medical waste, with a tendency to intensive growth. Most of the waste health care setting (from 75% to 85%) is not dangerous, can be attributed to municipal solid waste and disposed of along with them. At the same time, a significant portion of waste (15% to 25%), dangerous in epidemiological terms, requires special attention because it represents a real danger for both medical personnel and the environment.

At the initiative of the Moscow City Duma, Moscow Government Decree issued on May 30, 2006 № 916-RP "On the experiment to introduce a set of measures for the handling of medical waste treatment and prevention agencies in the territory of South-Eastern Administrative District of Moscow." Meeting the challenge was based on a coordinated combination of research and practical powers in order to obtain optimum results in the shortest possible time. Involvement of the legislative and executive structures of the complex allowed to solve the problem of coordination of actions in the handling of medical waste from all stakeholders — district administration, the Department of Health, Department of Housing and Communal Services and Public Works of the city, the Department of Natural Resources and Environment, organs and organ Rospotrebnadzor RTN .

Positive results for the experiment in the South-Eastern Administrative District of Moscow became the basis of the Regulations on the collection, transfer, destruction, and accounting for waste treatment and prophylactic institutions of the Department of Health in Moscow. Regulations approved by Government Decision of 23 December 2008 № 1191-PP "On the Town targeted program

to improve hospital waste management system of medical institutions of Moscow Department of Health, dangerous in epidemiological terms, the 2009 -2011 years."

City Target Program provides:

- Introduction to the health care setting of the city under the jurisdiction of the Department of Health, progressive, cost-effective and environmentally safe methods of decontamination of hazardous hardware in epidemiological terms of medical waste, eliminates chemical disinfection in the field of primary education;
- Providing health care setting with necessary material and technical means for the safe collection, decontamination and disposal of medical waste;
- Development of training of medical and technical staff and a system of informational and methodological support in the treatment of medical waste. The analysis of the problem of finding ways to optimize the utilization of medical waste, environmental security as a factor shows that their solution lies in the plane of the implementation is currently in force the National Audit Office in the treatment of medical waste treatment and care setting.
- State control in the treatment of medical waste treatment and care establishment shall:
- Department of Health, Moscow;
- Department of Natural Resources and Environmental Protection of Moscow;
- The Department of Housing and Public Works of the city of Moscow;
- Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare in the city of Moscow, in accordance with their competence.
- Addressing the treatment of medical waste in Moscow with the participation of the legislative and executive authority of the city will create a secure system of data collection, decontamination, transportation and disposal (incineration), which allows to carry out the treatment of medical waste at the current level.

БИОТЕХНОЛОГИЯ ЛИКВИДАЦИИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕНИЙ АССОЦИАЦИЯМИ НЕФТЕ- И УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ, ИММОБИЛИЗОВАННЫМИ НА СОРБЕНТАХ РАЗНОЙ ПРИРОДЫ

Морозов Н.В., Иванов А.А., Ахметов А.А.

ФГБУ ФЦТРБ-ВНИВИ»

420075, Казань, Научный городок

Целью настоящей работы явилось поиск легкоокисляемых органических веществ, которые могли бы быть одновременно активным сорбентом для закрепления ассоциации нефте- и углеводородокисляющих микроорганизмов (НиУОМ) и источником биостимуляции разложения нефти и её производных.

В качестве субстратов применяли сорбенты: уголь активированный, древесные опилки, золу, речной песок и торф из расчёта от 2 до 5 мг/дм^3 . Количество видов бактерий, использованных для изучения процесса биодеградации нефти, соответствовало монокультуре, трём культурам и консорциуму, состоящему из 9 видов угловодородокисляющих микроорганизмов родов: Alcaligenes, Micrococcus, Brevibacterium, Pseudomonas, Bacillus, Flavobacterium, Clostridium.

Внесение НиУОМ в среды с нефтяными загрязнениями проводили распылением культур на поверхность нефтяной плёнки, рассыпанием смешанного с бактериями сорбента в среду, где содержалась эмульгированная нефть и путём механического перемешивания штаммов с субстратом в соотношении 2:3.

Анализируя полученные экспериментальные данные были выявлены следующие закономерности: 1. Наибольшее ускорение исчезновения нефтяной плёнки наблюдалось

в вариантах с внесением песка, торфа и опилок. 2. Механическое перемешивание НиУОМ с вышеназванными сорбентами в соотношении 2:3 (песок), 2:3 (торф), 2:3 (опилки) и 2:3 (уголь) более эффективно, чем нанесение биомассы бактериальной суспензии на поверхность нефтяной плёнки путём распыления.

Установлено, что наилучшими сорбентами, оказывающими благоприятное влияние на ход биодеструкции нефти, являются торф, зола, опилки. Эти данные подтверждаются динамикой числа бактерий, основанной на учёте количества жизнеспособных колоний в разные отрезки времени. Именно в эксперименте с этими субстратами быстрее увеличивалась численность микроорганизмов, соответственно возрастала степень окисления нефти, что приводило к количеству роста осуществляемых ферментативных реакций, следовательно, к наиболее эффективной деструкции нефти. Это подтверждено также динамикой изменения концентраций углекислого газа и растворённого кислорода в опытах.

PETROLEUM CONTAMINATION REMOVAL USING ASSOCIATION OF PETROLEUM- AND HYDROCARBON OXIDIZING MICROORGANISMS FIXED IN SORBENTS OF VARIOUS NATURE

Morozov N.V., Ivanov A.A., Ahmetov A.A.
Federal State Non-Profit Organization "Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety", 2-Nauchny gorodok, Kazan Tatarstan Russia 420075

The aim of this work was a search of easily oxidizing organic substances that could simultaneously be an active sorbent for fixation petroleum and hydrocarbon oxidizing microorganisms (PHOM) and a resource of petroleum and its derivatives decay bioinducing.

The following sorbents were used as substrates: activated carbon sawdust, ash, bank sand and peat in ratio from 2 to 5 mg/dm^3. The number of bacteria species used to study petroleum biodegradation process corresponded to a monoculture, three cultures and a consortium consisting of hydrocarbon oxidizing microorganism species from the following genera: *Alcaligenes, Micrococcus, Brevibacterium, Pseudomonas, Bacillus, Flavobacterium, Clostridium*.

The PHOM were introduced into media containing petroleum contaminants by spaying the cultures onto petroleum film surface, by scattering bacteria and sorbent mixture into media containing emulsified petroleum, or by the strains mechanical stirring with substrate in ratio 2:3.

Analyzing the obtained experimental data following patterns were drawn: 1. The greatest acceleration of petroleum film removal was observed in variants with sand, peat and sawdust introduction. 2. The PHOM mechanical stirring with the above-mentioned sorbents in ratio 2:3 (sand), 2:3 (peat), 2:3 (sawdust) and 2:3 (coal) were more efficient than spraying bacterial suspension biomass onto oil film surface.

The best sorbents promoting petroleum biodestruction process were determined to be peat, ash, sawdust. This data is confirmed by bacteria number growth dynamics based on the account viable colonies number in different periods of time. These were the very substrates that increased microorganisms number more rapidly and petroleum oxidation rate increased too that resulted in enlarging the number of enzymatic reactions, hence, to the most efficient petroleum destruction process. It is also confirmed by change of carbon dioxide and dissolved oxygen concentration dynamics in the experiments.

БИОПРЕПАРАТ «ОН-НОВО» И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ОЧИСТКИ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ НЕФТЕСОДЕРЖАЩИХ СТОЧНЫХ ВОД НА ОБЪЕКТАХ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА

Морозов Н.В., Иванов А.А., Жукова О.В., Ахметов А.А.
ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»
420075, Казань, Научный городок

Одним из приемлемых путей защиты водных ресурсов от загрязнения нефтью и нефтепродуктами является разработка биотехнологических схем основанных на применении консорциума или ассоциации нефтеокисляющих микрорганизмов. Именно микроорганизмы с большой лабильностью метаболизма, превращают сложные вещества в самые простые соединения, т.е. в H_2O и CO_2.

Целью работы является оптимизация условий биологической деградации нефтепродуктов в высококонцентрированном производственном стоке с биопрепаратом «ОН-НОВО» по схеме очистки, включающей: отстой, нейтрализацию, осветление в горизонтальном отстойнике длительностью 1,5 – 2 часа, очистка нефтяных загрязнений на специальной опытной установке, представляющей собой струйно-отстойный аппарат (СОА) и последующее 2-х часовое осветление во вторичном отстойнике.

Проведённые испытания с использованием биопрепарата на вновь созданной установке (СОА) и на её базе биотехнологической схеме подготовки высококонцентрированных стоков (нагрузка по ХПК 1600 мг/л и более) показали преемственность подобной технологии для снятия повышенных количеств нефтепродуктов за 1-1,5 часа, тогда как применение традиционных методов очистки, включая биохимическое окисление, позволяет достичь 80-82% эффективности за 16-20 часов.

Высокая степень участия консорциума биопрепарата в биоокислении нефтепродуктов в очищаемой сточной жидкости обусловлена подбором штаммов бактерий: 1. все штаммы обладают биоэмульгирующей и нефтеокисляющей активностью; 2. в препарат входят быстро и медленно растущие бактерии, что обеспечивает эффективность очистки; 3. бактерии биопрепарата активно растут при 15-33^{0}С и этим достигается полнота биодеградации нефтяных загрязнений в стоке.

THE ‘ON-NOVO” BIOLOGICAL PREPARATION AND ITS APPLICATION FOR CLEARING THE PETROLEUM-CONTAMINATED TECHNOLOGICAL SEWAGE IN AGRICULTURE

Morozov N.V., Ivanov A.A., Zhukov O. V, Ahmetov A.A.
Federal State Non-Profit Organization “Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety”,
2-Nauchny gorodok, Kazan Tatarstan Russia 420075

One of acceptable ways to protect water resources from contamination with petroleum and petroleum products is to develop biotechnological schemes based on application petroleum-oxidizing miccroorganisms consortium or association. Thgis is microorganisms that with the metabolic large lability transform complex substances into the elementary compounds, i.e. in H_2O and CO_2.

The aim of the work was an optimization of petroleum products biological degradation conditions in a highly-concentrated industrial drain using “ON-NOVO” biological preparation under the scheme of the clearing process including: sediment, neutralization, clarification in a horizontal setting tank during 1,5 - 2 hours, oil contaminants removal on the special pilot device representing the stream-settling apparatus (SSA) and subsequent 2 hour clarification in a secondary setting tank.

The performed investigations using biological preparation on a novel device (SSA) basing on a highly-concentrated industrial drain (load 1600 mg/l and more) showed usefulness of such technology to obtain increased number of petroleum products 1-1,5 hours whereas conventional methods of purification including biochemical oxidation allows to reach 80-82% of efficacy within 16-20 hours.

High degree biopreparation consortium participation in petroleum products biooxidation in sewage water being purified depends on bacteria strains selection: 1. All strains have bioemulsifying and petroleum-oxidizing activity; 2.the preparation includes rapidly and slowly growing bacteria that provides purification efficacy; 3. Biological preparation bacteria grow actively at 15-33^{0}C and it allows petroleum contaminants complete biodegradation in a drain.

СПОСОБЫ ФИЗИОТЕРАПИИ ДЛЯ ОБУЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ ПОЛЗАНИЮ НА ЧЕТВЕРЕНЬКАХ

Быковская Е.Ю., Жуковская В.А., Жуковский Ю.Г., Никитина Е.Р.
Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН

Для обучения ДЦП-детей двигательным навыкам ползания на четвереньках, мы разработали три варианта новых тренажёров. Вариант №1, который применяется на начальной стадии обучения (Патент RU 2272608, 2006 г.). В его основе — лоток под туловище пациента (с приспособлениями для фиксации к лотку тела пациента), содержащий две поперечные транспортные ручки, каждая из которых прикреплена одним концом к левой боковине лотка , а другим концом к правой боковине. Устройство используют следующим образом. Тренер-педагог укладывает ребёнка-пациента животом вниз на лоток, т.е. животом к лотку; фиксирует его тело к лотку приспособлениями для фиксации; берёт в каждую руку по транспортной ручке и поднимает их так, чтобы облегчить ребёнку-пациенту возможность полсти; даёт команду ребёнку-пациенту ползти вперёд, и помогает ему полсти вперёд, перемещая транспортные ручки в сторону движения. Вариант №2, который используется на второй стадии обучения. Для расширения функциональных возможностей устройства, мы предложили использовать в устройстве не цельные, а разъёмные транспортные ручки с фиксирующим соединительным устройством. Это позволяет использовать устройство не только в тех случаях, когда оно зафиксировано со стороны груди и живота пациента, но и в тех случаях, когда оно зафиксировано со стороны спины пациента. Это позволяет обучать ребёнка не только ползанию на четвереньках, но и вставанию на ноги, приседаниям, ходьбе на ногах, и др. Вариант №3, который используется на заключительных стадиях обучения. Для обучения ребёнка самостоятельному ползанию, в разных интересующих его направлениях, мы предложили использовать специальный жилет, который снабжён двумя жёсткими наплечниками. Каждый наплечник имеет по жёсткому крылообразному изогнутому страховочному стержню. Причём, страховочные стержни изогнуты так, что их опорные концы при нахождении пациента на четвереньках находятся впереди пациента, соответственно слева и справа от его тела, вблизи от опорной поверхности для ползания, не касаясь её. Стержни предохраняют ДЦП-ребёнка от падения при судорожных сгибаниях его рук. Предложенные тренажёры позволяют, повысить эффективность, безопасность и комфортность, а также уменьшить трудоёмкость и сложность обучения ребёнка ползанию на четвереньках. Они отмечены золотой медалью на Международной выставке «Высокие технологии – 2010».

THE PHYSIOTHERAPEUTIC METHODS FOR THE TEACHING OF PATIENTS TO THE QUADRUPEDAL CRAWLING

E.Yu. Bykovskaya, V.A. Zhukovskaya, Yu.G. Zhukovskii, E.R.Nikitina
Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of RAS

For training of CCP-children (of children with the diagnosis of a children's cerebral paralysis) to motive skills of quadrupedal crawling we suggested three variants of the new simulators. Variant №1, which applies in initial stage of training (Patent RU 2272608, 2006). The device has the tray for a body of the patient, with fittings (for the fixation of a body of the patient to the tray). The device contains two transverse transport handles, each of which with one end is connected with left side of the tray, and by other end — with right-hand side of the tray. The places of the connection on everyone of sides are separated in longitudinal direction (i.e. to the opposite ends of a tray) and are executed on disk hinges. The device is used as follows. The trainer — teacher puts the child by a stomach downwards on a tray, i.e. by a stomach to a tray; fixes his body by the fixtures; takes into each arm over one the transport handle and elevates them so that to facilitate to the child — patient an opportunity to quadrupedal creep; gives a command to the child — patient to creep forward, and helps him to creep forward, moving transport handles in direction of movement. Variant 2, which applies in second stage of training. For expansion of functionalities of the device, we have suggested to use in the device not whole (unbroken), but demountable transport handles with the fixative device of coupling. It allows to use the device not only when it is fixed on the part of a breast and a stomach of the patient but also when it is fixed on the part of a back of the patient. It allows to train the child not only the quadrupedal creeping, but also to lift onto feet from quadrupedal, to knee-bends, to go on feet, to sit down onto quadrupedal, etc. Variant 3, which applies in finish stages of training For the training of the child to independent crawling (in different directions which interest him), we offered the special waistcoat, which has two rigid upper shoulders. Everyone upper shoulder has one rigid wing-shaped the bent insurance rod. The insurance rods are bent so, that their basic ends at a locating of the patient quadrupedal find himself in front of the patient, accordingly at the left and on the right from of his body, near to a basic surface for crawling, but without contact with it. The rods protect the child from falling in the case of convulsive bendings his hands. The offered simulators allow to increase a efficiency, safety and comfort and to reduce labour input and complexity of the teaching of patients to the quadrupedal crawling. Suggested devices are noted by the gold medal at the International exhibition «High technology — 2010 ».

СПОСОБЫ ФИЗИОТЕРАПИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КОМБИНИРОВАННЫХ ГИМНАСТИЧЕСКИХ БРУСЬЕВ

Быковская Е.Ю.
Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН

Для проведения занятий с детьми-инвалидами по их обучению ходьбе, мы предложили 3 варианта комбинированных гимнастических брусьев, которые значительно повышают эффективность, безопасность и комфортность физиотерапии, и намного уменьшают её трудоёмкость. Вариант №1. Гимнастические брусья с дополнительно закреплённым в них креслом для отдыха пациента (Патент RU №2264202, 2005 г.). Предложенные брусья позволяют намного облегчить переход пациента (ДЦП-ребёнка) от упражнений на брусьях к креслу для отдыха, сохранить больше сил на тренировочные упражнения в ходьбе. Для проведения занятий на комбинированных брусьях необходим всего лишь один тренер-педагог, а не несколько, как на обычных гимнастических брусьях. Недостатком этого тренажёра являются

сложность обучения на нём слепых и слабовидящих пациентов. Слепой пациент нередко путает направление движения внутри брусьев, выходит за края брусьев, после чего падает. Для проведения занятий со слепыми детьми мы предложили второй вариант комбинированных гимнастических брусьев. Вариант №2. Для обеспечения правильной пространственной ориентировки и безопасности слепых пациентов, каждая из жердей гимнастических брусьев имеет индивидуальный характер поверхности, различимый тактильно, и имеет выступы, обозначающие диапазон допустимого самостоятельного продольного передвижения пациента внутри брусьев. Кроме того, на параллельных брусьях по краям жердей, поперёк им, расположена поперечина как граница допустимого самостоятельного продольного передвижения пациента внутри брусьев. Предлагаемые комбинированные брусья (Вариант №2) позволяют слепому пациенту тренироваться в ходьбе и перемещаться в брусьях самостоятельно, без поводыря-педагога. Недостатком известных тренажёров (Варианты № 1, № 2 или др.) является сложность обучения на них безногих пациентов. Самостоятельно пройти от брусьев к сиденью для отдыха безногий пациент обычно не может, и поэтому безногому пациенту приходится оказывать физическую помощь со стороны двух или более тренеров (по его сопровождению или переносу на руках). Вариант №3. Для работы с безногими пациентами мы предложили снабдить кресло брусьев подножкой, на которой расположены смягчающие прокладки под опорные оконечности культей левой и правой ног пациента, и снабдить подножку кресла регулятором высоты её установки по отношению к сиденью кресла, в соответствии с длиной более длинной культи ноги пациента. Вначале, в период подготовки к протезированию, пациент самостоятельно выполняет на комбинированных брусьях упражнения по формированию опороспособной культи, с уменьшенной болевой чувствительностью к нагрузкам. Держась руками за жерди брусьев, пациент осторожно самостоятельно переносит вес своего тела с сиденья кресла брусьев на культи ног, до возникновения прессорных болевых ощущений, и возвращается в исходное положение (положение «сидя в кресле»). После формирования у пациента безболезненной опороспособной культи, в период овладения протезом, тренер-педагог поэтапно, постепенно учит пациента навыкам самостоятельной ходьбы внутри брусьев на протезах. Предлагаемые устройства отмечены золотой медалью на Международной выставке «Мир биотехнологий – 2011».

THE PHYSIOTHERAPEUTIC METHODS WITH THE USE OF THE COMBINED GYMNASTIC BARS

E.Yu. Bykovskaya
Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of RAS

For conducting of physiotherapeutic occupations with children — the invalids we have offered 3 variants of the combined gymnastic bars which considerably raise efficiency, safety and comfort of physiotherapy, and much reduce its labour input. Variant 1. Gymnastic bars with additional armchair in in them for rest of the patient. (Patent RU №2264202, 2005). The suggested combined bars allow to facilitate the transition of the patient from exercises on bars to a seat (to a armchair) for rest, to keep more forces on training exercises in walking. Only one trainer — teacher is necessary for the conducting of occupations on the combined bars, instead of several trainers, as on usual gymnastic bars. The flaw of this simulator is complexity of training of blind and of patients which bad see. The blind patient quite often confuses a direction of movement inside bars, goes out beyond end of bars and then falls. For the conducting of physiotherapeutic occupations with blind children we have offered the second variant of the combined gymnastic bars. Variant 2. For the providing of correct spatial orientation and safety of blind children each of rod of gymnastic bars has individual rifling

(corrugation) of a surface, differentiated tactually, and has the ledges designating a range of allowable independent longitudinal movement of the patients in the bars. Besides in parallel gymnastic bars on ends of rods, across them, there is a transverse barrier as border of allowable independent longitudinal movement of the patients inside bars. The suggested device (variant №2) allows the blind patients to train in walking and to move inside of bars independently, without aid of the physiotherapist. The blind patient by the touch (tactilety) onto of character of corrugated surface of the rod, itself defines what kind of the corrugated rod (left or right) his each hand hold. That allows him precisely to define in what direction from him (behind or in front — when an disposition of his body across rods of bars; to the left or to the right — when an disposition of his body along rods of bars) the built-in armchair for rest is disposed. At the approach to edge of the rods of the bars the blind patient independently by touch finds out ledges — terminators of rods; that allows him to stop himself and to change a direction of moving inside bars onto the contrary. The flaw of the known simulators (variant 1 and variant 2) is complexity of training on them of patients without feet. The patient without feet usually cannot independently pass from bars to a seat for rest, and consequently he should obtain the physical aid on the part of one or two trainers (for his support or for his transportation on hands). Variant 3. For work with patients without feet we have suggested to supply an armchair of bars by a footboard (foothold) on which the softening shims to under basic foot-stumps the left and right legs of the patient are located, and have suggested to supply a footboard of an armchair by a regulator of height of its installation in relation to a seat of an armchair, according to length of longer foot-stump of the patient. In the beginning, during preparation for prosthesis, a patient carry out on the combined bars the exercises for formation of the basic painless foot-stump, with the reduced painful sensitivity to loadings. After formation of painless foot-stump, in period of teaching to use an artificial limb, the trainer — teacher, gradually teaches the patient the skills of walking inside bars on artificial limbs. Suggested devices are noted by the gold medal at the International exhibition « Biotech World — 2011 ».

РОССИЙСКО-ШВЕЙЦАРСКО-НЕМЕЦКИЙ СИМПОЗИУМ «ИННОВАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В БИОФАРМАЦЕВТИКЕ И ОБОРУДОВАНИЕ ДЛЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕДПРИЯТИЙ»

RUSSIAN-SWISS-GERMAN SYMPOSIUM "INNOVATIVE TECHNOLOGIES IN BIOPHARMACEUTICAL AND EQUIPMENT FOR PHARMACEUTICAL COMPANIES"

ДОКЛАДЫ
REPORTS

СВЕРХКРИТИЧЕСКАЯ ФЛЮИДНАЯ МИКРОНИЗАЦИЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ СУБСТАНЦИИ РИСПЕРИДОН

Егоров А.М.[1,2], **Баграташвили В.Н.**[3], **Попов В.К.**[3]
[1]*Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва*
[2]*ЗАО «РАФАРМА», Москва*
[3]*Институт проблем лазерных и информационных технологий РАН, г. Троицк*

Микронизация фармацевтических субстанций является одним из важных факторов, влияющих на биодоступность и эффективность лекарственных препаратов. Среди различных методов микронизации в последние годы эффективными являются сверхкритичекие флюидные технологии на основе диоксида углерода.

Известно, что различные механические и термические воздействия на субстанции приводят изменению их физико-химических свойств. Целью данной работы было изучение влияния микронизации и инкапсуляции в полимерные матрицы коммерчески доступной субстанции рисперидона технологией СКФ-CO_2.

Работа выполнялась при финансовой поддержке Министерства промышленности и торговли РФ (Контракт 10411.0810200.13.B08 Микронизация 2.1).

SUPERCRITICAL FLUID MICRONIZATION OF PHARMACEUTICAL SUBSTANCE RISPERIDONE

Egorov A.M.[1,2], **Bagratashvili V.N.**[3], **Popov V.K.**[3]
[1]*Department of Chemistry, Moscow State University, Moscow*
[2]*ZAO "Rafarma", Moscow*
[3]*Institute of Laser and Information Technologies, Troitsk*

Micronization of pharmaceutical substances is one of the most important factors influencing the bioavailability and efficacy of drugs. In recent years supercritical fluid technology based on carbon dioxide are the most effective among other methods of micronization.

It is known that a variety of mechanical and thermal impact on substance cause a change in their physico-chemical properties. The aim of this work was to study the effect of micronization and encapsulation in polymer matrices of commercially available substance risperidone by a technology of SCF-CO_2.

This work was supported by the Ministry of Industry and Trade of Russian Federation (Contract 10411.0810200.13.B08 Micronization 2.1).

ТЕХНОЛОГИИ ИНКАПСУЛЯЦИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ УСТАНОВОК ПСЕВДООЖИЖЕННОГО СЛОЯ И РАСПЫЛИТЕЛЬНОЙ СУШКИ

Гордиенко М.Г.

Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева,
Международный Центр трансфера фармацевтических и биотехнологий

Технологии инкапсулирования широко используются для защиты компонентов от негативных факторов окружающей среды (окисление, воздействие влаги); совмещение несовместимых компонентов в одном продукте; модификации кинетики высвобождения активных веществ; перевода жидких и вязких веществ, растворов и эмульсий в сухую дисперсную форму, удобную для транспортирования и хранения; других задач.

Сотрудниками Центра трансфера фармацевтических и биотехнологий были проведены исследования и изучены следующие способы инкапсулирования: 1. распылительной сушки водно-масляных эмульсий, суспензий (установка распылительной сушки MiniSprayDryerB-290, Buchi); 2. нанесения пленочных покрытий в аппаратахпсевдоожиженного слояна пеллеты, гранулы (установки псевдоожиженного слоя MiniGlatt, Glatt и MicroLab, Huettlin).

Распылительная сушка предварительно полученных одинарных и двойных эмульсий является перспективной технологией для инкапсуляции липофильных функциональных компонентов. К липофильным функциональным компонентам относятся жирорастворимые витамины, омега 3 жирные кислоты, коньюгированнаялинолевая кислота, каратиноиды (например, ликопин и β-каротин), жирорастворимые коферменты (например, коэнзим Q10), пищевые ароматизаторы и другие компоненты применяющиеся в фармацевтике, косметологии и нутрицевтике. Распылительная сушка также может быть применена при обезвоживании предварительно полученных суспензий, содержащих, например, микрокапсулы на основе альгината.

Оборудование для проведения совмещенных процессов смешения, сушки, грануляции и нанесения покрытий с применением псевдоожиженного слоя фирмы Huettlin позволяет производить мягкую, очень эффективную обработку чувствительных к температуре продуктов и обладает тем преимуществом, что различные технологические этапы могут осуществляться в одной и той же установке. За счет однородного перемешивания слоя и эффективного тепломассообмена его температура не превышает 28-35 ^{0}C в случае работы с водными растворами, и может быть снижена до 20-25 ^{0}C при использовании органических растворителей, что позволяет работать с термочувствительными лекарственными веществами, микроорганизмами.

Описание механизмов и явлений представлено на практических примерах, для которых определены ключевые факторы, влияющие на качественные характеристики получаемых продуктов, даны рекомендации по организации рассматриваемых процессов.

ENCAPSULATION TECHNOLOGIES BY USING FLUID-BED AND SPRAY DRYERS

Gordienko M.G.

Mendeleyev University of Chemical Technology of Russia,
International Centre Transfer of Pharmaceutical and Biotechnologies Technologies

Encapsulation technologies are widely used for substances protection from oxidation and moisture; putting two or more of incompatible substances into one particle; modification of substance release kinetics; conversation of liquid and viscous substances to free-flowing powders.

Staff of International Centre Transfer of Pharmaceutical and Biotechnologies Technologies experimental investigated such encapsulation technologies as: 1 – spray drying of water-oil emulsion

and suspension (equipment – Mini Spray Dryer B-290, Buchi); 2 – fluid-bed coating of pellets or granules (equipment – Mini Glatt, Glatt and Micro Lab, Huettlin).

Spray drying of pre-existing single and double emulsion is a promising technology for encapsulating of lipophilic functional components. The lipophilic functional components include fat-soluble vitamins, omega-3 fatty acids, conjugated linoleic acid, carotenoids (e.g. lycopene and β-carotene), fat-soluble coenzymes (e.g., coenzyme Q10), food flavorings and other ingredients applied in pharmaceuticals, cosmetics and nutraceuticals. Spray drying can be used also for drying of suspensions containing, for example, alginate microcapsules.

Fluid-bed drying, granulation and coating allow soft and very efficient processing of temperature sensitive products and have the advantage that the various process steps may be carried out in the same equipment. The fluid-bed equipment allows avoid high temperatures regimes due to the homogeneous mixing layer and the effective heat and mass transfer. During processing the material temperature does not exceed 28-35 0C in the case with aqueous solutions, and can be reduced to 20-25 0C using organic solvents. Such conditions makes possible to processing of sensitive drugs, microorganisms.

The paper descripts the mechanisms and phenomena presented in case studies, identify the key factors that influence on the quality characteristics of the products and gives recommendations on the organization of these processes.

FLUIDIZED BED SPRAY GRANULATION FOR PHARMACEUTICAL AND BIOTECHNOLOGICAL PRODUCTS

S. Heinrich
Institute of Solids Process Engineering and Particle Technology,
Hamburg University of Technology,
Denickestraße 15, 21073 Hamburg, Germany

The fluidized bed spray granulation is one of the most important production processes in the solids industry and very often applied in food, fine chemicals and pharmaceutical industries to create powders with defined product properties. Despite the wide usage of this process and the huge experimental and analytical work, which has been performed in recent decades, there still exist considerable gaps in the process understanding.

On the one hand Discrete Element Method (DEM) simulations which are coupled with Computational Fluid Dynamics (CFD) simulations are known to be a useful tool to describe the particle dynamics in a fluidized bed granulator. Nevertheless the mechanisms acting on the micro level are not described in detail yet. The wetting of the particles in the spray zone is a crucial step during the granulation process. Simplified models of spray zones are known with moisture equally distributed amongst particles, but they are not able to describe the wetting of single particles realistically. This work demonstrates that DEM coupled with CFD can be used to simulate the spray zone of a two-fluid nozzle and the wetting of single particles. The moisture distribution field observed in the simulations shows the influence of the radial and the axial distance to the nozzle tip and is validated by experimental data. The simulated moisture distribution is used to investigate the wetting of single particles in the spray zone. The results from the simulations not only provide important data concerning the dynamics between particles and droplets, such as collision frequency and collision velocities, but also the total mass of liquid that is deposited on the particle surface. This value was also measured and the experimental results are in good agreement with the data observed in the simulations.

On the other hand industrial production processes consist of different apparatuses and process substeps, which are connected into one chain by mass and energy balances. Therefore, to predict and to optimize the process behaviour, the whole process should be considered. Nowadays, the flowsheet

simulation of solids is state of the art for the calculation on the level of the macro processes. However, most of the models, which are used in the flowsheet simulations are semi-empirical, where the material microproperties and apparatus geometries are poorly considered. These models have a limited accuracy level and relative small parameter space, where they can be effectively used.

To increase the accuracy of the process description and to allow considering of the material microproperties and geometric specifies of apparatuses, the submodels which are relevant at different time and length scales, have been combined by interscale communication algorithms into one multiscale model (see Figure). The kinematics of particles in the apparatus is described on the microscale level using the coupling of DEM and CFD. The received results are used on the mesoscale for the calculation of heat and mass transfer to predict the wetting and drying of the particles. On the macroscale, the whole process is calculated by the developed solids flowsheet simulation system "SolidSim-Dynamics".

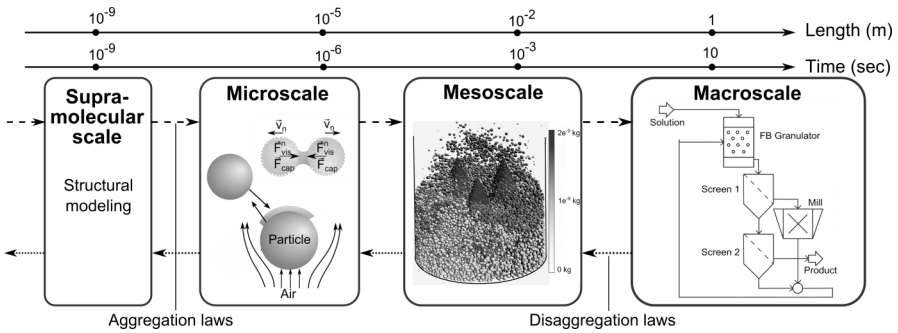


Figure. Structure of the multiscale simulation strategy for fluidized bed granulation modelling.

НОВАЯ НЕПРЕРЫВНАЯ ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ ВЫСОКОПОРИСТЫХ МИКРОПОРОШКОВ ПУТЕМ ДИСПЕРГИРОВАНИЯ И СУШКИ ПРИ ОТРИЦАТЕЛЬНЫХ ТЕМПЕРАТУРАХ

Hans Leuenberger[1], **Меньшутина Н.В.**[2]

[1]*Hans Leuenberger, Academician,*
Doctor of Technical Sciences,
Head Institute for innovation in industrial pharmacy and CEO Ifiip llc,
Kreuzackerweg 12, CH-4148 Pfeffingen,
Mailing address:Ifiip GmbH, Kreuzackerweg 12, CH-4148 Pfeffingen, Switzerland
[2]*Меньшутина Н.В., доктор технических наук, профессор*
декан факультета Информационных Технологий и Управления,
Российский Химико-Технологический Университет имени Д.И. Менделеева

Порошковые ингаляторы обладают рядом преимуществ по сравнению с другими ингаляционными способами введения лекарственных веществ, а именно: повышение стабильности препаратов, точности дозирования, удобства для пациентов (компактность). В случае белковых и пептидных препаратов, например, инсулин, которые подвержены деградации при длительном хранении в водном растворе, применение порошковых ингаляторов позволяет решить эту проблему. Однако, такие препараты относятся к высокомолекулярным веществам и для повышения их биодоступности требуется введение в состав так называемых активаторов адсорбции, к которым относят ПАВ, циклодекстрины, амфифильные полимеры и другие вспомогательные вещества, разрешенные к применению в фармацевтике.Для того, чтобы частицы проникли в нижние отделы легких, их размер должен быть от 1 до 5 мкм. Они могут быть получены вакуумной сублимационной сушкой с последующим размолом; фильтрованием

с вакуумным высушиванием; распылительной сушкой. Альтернативной технологией является предлагаемая технология.

Применение атмосферной сублимационной сушки с использованием монофазного распыления и псевдоожижения для получения наноструктурированных сферических микропорошков позволит решить ряд проблем, связанных с формой, размером частиц и структурой получаемого продукта. Использование данной технологии обезвоживания позволит получать термолабильные материалы с заданными морфологическими свойствами. В случае использования атмосферной сублимационной сушки, возможно значительно интенсифицировать процесс сушки, увеличить показатели по массопереносу. Это приведет к уменьшению времени, затрачиваемого на проведение процесса сушки и, как следствие, к уменьшению энергетических затрат.

Разрабатываемая технология и оборудование позволяет совместить преимущества распылительной, сублимационной сушки и сушки в фонтанирующем слое:

• распыление жидкости в поток холодного сушильного агента ультразвуковой форсункой обеспечивает формирование замороженных частиц правильной сферической формы определенного размера, что способствует получению порошков с узким распределением частиц по размеру;

• удаление влаги из материала за счет сублимации позволяет получать продукт с высокоразвитой внутренней структурой, который быстро растворяется;

• использование активного гидродинамического режима значительно интенсифицирует тепло- и массообмен, снижает время ведения процесса (по сравнению с сушкой вымораживанием под вакуумом);

• отсутствие вакуума, значительно меньшее время пребывания в аппарате способствуют снижению эксплуатационных затрат (по сравнению с классической сублимационной сушкой под вакуумом);

• проведение процесса при отрицательных температурах способствует сохраннению термочувствительных веществ и белков.

Разработанная технология была апробирована на ряде модельных веществ и композиций: декстран, маннитол, α2-интерферон, препараты на основе фосфолипидов, полимерные микропорошки для медицины.

NOVEL TECHNOLOGY FOR PRODUCING OF POROUS POWDERS BY SPAYING FREEZE DRYING

Hans Leuenberger, N.V. Menshutina

Hans Leuenberger, Academician, Doctor of Technical Sciences,
Head Institute for innovation in industrial pharmacy and CEO Ifiip llc,
Kreuzackerweg 12, CH-4148 Pfeffingen,
Mailing address:Ifiip GmbH, Kreuzackerweg 12, CH-4148 Pfeffingen, Switzerland
N.V. Menshutina, Ph.D, Professor, Dean of the Faculty of Information Technology and Management,
Director of th Russian-Swiss Science and Education Center shuttle Pharmaceutical and Biotechnology,
Mendeleev University of Chemical Technology of Russia, Moscow

Powder inhalers have a number of advantages in comparison with other ways of inhalable drug administration, for example: improvement of substances' stability, increasing of dosage accuracy, compactness and easier handling for patients.

In case of proteins and peptides, (e.g. insulin) that can become degraded during prolonged storage in water solution, application of powders can solve this issue. However, these substances are of high molecular mass and to increase their bioavailability special adsorption activators, surfactants,

cyclodextrins, amphiphilic polymers and other additional compounds should be included into composition. The size of particles to reach inferior lungs should be 1 to 5 micrometers. Such particles can be produced by vacuum drying with the following milling, by filtration and vacuum drying, spray drying. Proposed technology is an alternative to these ones.

Application of atmospheric freeze drying within monophase spraying and drying in spouted bed to produce nanostructured spherical particles allows to solve a number of issues with size and form of the product. This technology allows to produce heat-sensitive materials with designed properties. It also gives a reasonable intensification of the process by the increase of the mass-transfer, that results in less time needed for overall drying process and cost reduction due to energy savings.

Developed technology and equipment allows to combine advantages of spray drying, spouted bed drying and vacuum freeze drying.

- Spraying of the solution into the cold airflow by ultra-sonic nozzle provides formation of frozen particles of spherical form and narrow size distribution
- Moisture removal by sublimation allows to get product with large internal surface area that is high soluble
- Active hydrodynamics inside the chamber intensifies heat and mass-transfer and decreases overall process time (in comparison with vacuum freeze drying)
- No vacuum equipment, less process time results in costs reduction (in comparison with vacuum freeze drying)
- The process is under negative temperatures that allows to work with heat sensitive substances

Developed technology was tested with a number of model substances: dextran, mannitol, interpheron alpha-2a, phospholipids' based compositions, polymeric compositions.

СВЕРХКРИТИЧЕСКАЯ ФЛЮИДНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ КАК ИНСТРУМЕНТ ФРАКЦИОНИРОВАНИЯ И ОЧИСТКИ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ

Покровский О.И.

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

Завершающей стадией любого биотехнологического производства является процесс выделения целевого продукта в индивидуальном виде из культуральной жидкости. Большинство методов сепарации, применяемые для разделения компонентов сложных смесей природных веществ, так или иначе основаны на использовании растворимости и проводятся в жидкой фазе. В большинстве современных традиционных технологий очистки используются значительные количества органических растворителей, многие из которых дороги, пожароопасны и токсичны. При производстве сложных биотехнологических и фармацевтических продуктов практически всегда финальной стадией очистки является препаративная жидкостная хроматография, в том числе высокоэффективная (ВЭЖХ), позволяющая отделять целевые соединения не только от примесей иных классов, но и от близких по структуре веществ. Но применение этой технологии сопряжено с расходованием значительных количеств растворителей и с большими затратами времени. Особенно ярко это проявляется при разделении смесей изомеров, например, энантиомеров, поскольку энергии их взаимодействия с большинством возможных сорбентов очень близки, и набрать необходимую разницу в удерживании трудно.

Сверхкритическая флюидная хроматография (СФХ) – метод, родственный ВЭЖХ, в котором в роли основного компонента подвижной фазы выступает не традиционный растворитель, а сжатый газ или сверхкритический флюид. Подвижные фазы на основе сверхкритических

флюидов характеризуются гораздо более низкими вязкостями и более высокими коэффициентами диффузии веществ в них. Это позволяет проводить препаративные разделения на гораздо более высоких скоростях потока. Сравнимые по селективности разделения достигаются в СФХ за время в 3-5 раз меньше, чем в ВЭЖХ. В подавляющем большинстве случаем в современной практике в качестве такого компонента используется диоксид углерода, CO_2. Диоксид углерода – дешевое, легкодоступное, химически инертное, нетоксичное, негорючее вещество, что делает его особо выгодной заменой традиционным дорогостоящим органическим растворителям и позволяет резко снизить операционные затраты на очистку фармацевтических субстанций и биотехнологической продукции.

В большинстве случаев разделение в СФХ осуществляется по нормально-фазовому механизму, так как CO_2 – неполярное соединение, соответственно, подвижные фазы на его основе используются в сочетании с полярными сорбентами. Однако в последние годы бурно развиваются методы динамического модифицирования хроматографических систем применительно к СФХ, позволяющие существенно расширить круг задач, решаемых с помощью этой техники. Помимо нормально-фазовых, в СФХ реализуют такие механизмы разделения как HILIC, ион-парный, ионообенный, неводный обращенно-фазовый и т.д.

В докладе будут рассмотрены основные сферы применения современной препаративной сверхкритической флюидной хроматографии, ее преимущества перед традиционными методами, приведены примеры проведения препаративных выделений фармацевтических препаратов и биологически активных веществ из природного сырья и культуральных жидкостей с помощью СФХ.

SUPERCRITICAL FLUID CHROMATOGRAPHY AS AN INSTRUMENT FOR PHARMACEUTICAL AND BIOTECHNOLOGY PRODUCTS FRACTIONATION AND PURIFICATION

O.I. Pokrovskiy
Kurnakov Institute for General and Inorganic Chemistry,
Russia, Moscow, Leninskiy prospekt, 31

Final stage of every biotechnology and pharmaceutical manufacturing process is the separation of a fermentation broth or a synthetic mixture and purification of a desired active pharmaceutical ingredient (API). The majority of separation methods used nowadays for complex mixtures fractionation are based on solubility effects and are conducted in liquid phase. The disadvantage of this approach is that most organic solvents used in separation processes are expensive, flammable, toxic and ecologically non-friendly. The most commonly used method of high-value fragile end products purification in pharmaceutical and biotechnology industries is preparative liquid chromatography (LC), particularly high performance liquid chromatography (HPLC) which not only allows to separate admixtures of different chemical types but of closely related compounds as well. But the main disadvantage of HPLC is large disposals of organic solvents and large purification times. These drawback manifest themselves particularly pressingly when separation of isomers, especially enantiomers, take place. Due to close chemical nature of isomers it's rather difficult to pick up a sorbent allowing to gather sufficient chromatographic difference within one run. This causes the necessity of multiple chromatographic step which leads to exceptionally large solvent wastes.

Supercritical fluid chromatography (SFC) — method similar to HPLC, but the main component of the mobile phase in it is a dense gas or a supercritical fluid. Dense gas based mobile phases possess much lower viscosities then regular liquid and solute diffusion coefficients are much higher in supercritical fluids. It allows to carry on separations of comparable selectivity within 3 to 5 times

shorter time periods than in HPLC. Lower viscosity, high isothermal compressibility and surface tension absence in supercritical fluids leads to the fact that chromatographic efficiency on the same particles is higher in SFC than in HPLC. The overwhelming majority of today's SFC applications are performed with CO_2 as a supercritical fluid. Carbon dioxide is a cheap, readily available, chemically inert, non-toxic, non-flammable substance which makes it a very attractive alternative for traditional organic solvents and allows to reduce chromatographic operational costs for pharmaceutical and biotechnology products isolation and purification substantially.

Most separations in SFC are conducted in a normal-phase regime since CO_2 is a rather non-polar compounds and thus CO_2-based mobile phases are generally used with polar sorbents. Although in recent years application of dynamic modification techniques with regards to supercritical fluid chromatography appears to blossom. That gives rise to expand the field of SFC usage onto separation of types of chemical compounds previously unachievable by this method. Beside normal-phases such retention regimes as HILIC, ion-pair or even ion-exchange, non-aqueous reversed phase can be realised in SFC now.

Main areas of modern preparative supercritical fluid chromatography applicability will be considered in the report as well as advantages of SFC over relative techniques. Some examples of purification and isolation of pharmaceutical and biotechnology end products from synthetic mixtures, natural raw materials and fermentation broths will be given.

GMP COMPLIANT PRODUCTION OF BIOTECHNICAL PRODUCTS WITH THE HELP OF BARRIER/ISOLATION TECHNOLOGY, WORLDWIDE APPROVED BY FDA, EMEA, JAPANESE AUTHORITIES ETC

Dr. Paul Ruffieux,
Vice President, SKAN AG, Switzerland

In the last years more and more new pharmaceutical products, they have reached an international approval are ranged in the class biotechnical products. Forecasts are saying that till in the year 2010 and later minimal 70% of all new pharmaceutical they will have market introduction will be biotechnical products. Most of them will be injectables that mean they have to be produced under the highest protection level for sterility and more and more on highest levels of operator safety. The products can not be terminal sterilized but authorities are asking for the highest sterility assurance level for production and handling of the products till there are in the final form.

For such products most of the international guidelines are asking for an SAL of 10^6. To keep sterility and safety over the total process is isolation technology the optimal choice. One of the most critical issues is to be able to decontaminate the total systems without a negative impact to the product or the active. There we have developed in different studies procedures they will guarantee a low H2O2 residual in the isolators.

On the way through all production steps, from weighing operations of the actives till the finished product, will be highlighted the GMP requirements and how isolator system can assure all this requirements. This will be shown and discussed on the different types of isolators they are used today and there specifications. Very important steps will be:

- compounding, preparation of the solution, transfer to the filling line.
- Filling of the product, stoppering and closing or
- Filling, lyophilization, stopperingandclosing
- All decontamination processes incl. low H2O2 residuals, newest results
- Costcomparisons.
- Special points will highlight as:

- Special patented filter systems
- Cold filling
- Filling under inertisation

It will be discussed the filling of biotechnical products into prefilled syringes (BD Hypack or Bünder) incl. decontamination with e-beam of the tubs.

ПОЛУЧЕНИЕ МИКРО- И НАНОФОРМ БИОФАРМПРЕПАРАТОВ С ПОМОЩЬЮ СВЕРХКРИТИЧЕСКИХ ФЛЮИДНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Устинович К.Б.
Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН,
Россия, Москва, Ленинский проспект 31

Формирование частиц твердых материалов – важный технологический аспект изготовления современных фармацевтических препаратов. Размер и морфология частиц биологически активных субстанций существенно влияют на их фармакокинетику, определяя процессы растворения и всасывания в кровь. При создании инъекционных, ингаляционных лекарственных средств необходимо учитывать влияние формы частиц твердых субстанций. Чрезвычайную важность морфологические характеристики фармпрепаратов приобретают при разработке средств контролируемого выхода, пролонгированного действия и т.п. Существует несколько способов формирования частиц – механическое перемалывание, растирание, раздавливание, распылительная сушка, криогенная сушка и прочие. Методы, связанные с механическим либо термическим воздействием на материал, во многих случаях вызывают частичную деструкцию диспергируемых веществ. Методы криосушки и им подобные связаны с расходами больших количеств токсичных и дорогостоящих органических растворителей. Кроме того, в большинстве таких методов невозможно направленное формирование частиц нужной морфологии, а получаемые порошки характеризуются невоспроизводимым и неконтролируемым распределением по размерам.

В последние несколько лет интенсивно развивается комплекс новых подходов к формированию частиц фармацевтических препаратов, основанных на использовании сверхкритических флюидов. Сверхкритический флюид (СКФ) – состояние, в котором вещество обладает свойствами, промежуточными между свойствами газа и жидкости. С одной стороны, это плотная фаза, обладающая растворяющей способностью. С другой – это газоподобная среда с малой вязкостью и высокой проникающей способностью.

В докладе будут рассмотрены различные подходы к использованию сверхкритических флюидов для формирования частиц твердых материалов. Так, для измельчения субстанций, растворимых в диоксиде углерода в сверхкритическом состоянии (СК-CO_2) применяется метод, основанный на растворении целевого вещества во флюиде с последующим распылением раствора через узкое сопло. Сразу после выхода из камеры растворения СК-CO_2 вследствие падения давления превращается в газ, теряет свою растворяющую силу и улетучивается, вызывая тем самым моментальное осаждение ранее растворенных в нем веществ. Процесс происходит так быстро, что кристаллизация останавливается практически на стадии зародышеобразования.

Целый комплекс СКФ-методов микронизации основан на способности сверхкритического флюида выступать в качестве осадителя, или антирастворителя, твердых субстанций из растворов. Если целевую субстанцию растворить в растворителе, который хорошо смешивается с СК-CO_2, и затем распылить полученный раствор в CO_2 через сопло, то растворитель начинает быстро уходить из образовавшихся при распылении капель во флюид. При этом происходит резкое пересыщение раствора, и кристаллизация протекает очень быстро, фактически затормаживаясь на стадии нуклеации.

Морфология частиц и распределение по размерам в СКФ-методах могут варьироваться путем изменения рабочих параметров процессов – давления, температуры, геометрии распылительного сопла и пр. При использовании сверхкритических флюидов не происходит термо- и механодеструкции диспергируемых материалов, минимальны либо вовсе отсутствуют расходы органических растворителей. В настоящий момент СКФ-методы микронизации и формирования частиц твердых материалов начинают играть одну из ключевых ролей в фармацевтической отрасли, вытесняя менее экологически чистые и экономически привлекательные методы.

FORMATION OF MICRO- AND NANOPARTICLES OF BIOPHARMACEUTICAL PRODUCTS BY SUPERCRITICAL FLUID TECHNOLOGIES

K.B. Ustinovich

Kurnakov Institute for General and Inorganic Chemistry,
Russia, Moscow, Leninskiy prospekt, 31

Solid materials particle processing is an essential technological aspect of modern drugs manufacturing. Particles size and morphology affect the API pharmacokinetics defining dissolution and blood intake processes. Particle shape has to be taken into account when developing inhalation or injection administration products. Morphological characteristics are crucial for controlled release drugs and prolonged-action medications. There is a vast variety of methods for particle formation — mechanical milling, pressing and grinding, spray drying and freeze drying of emulsions and double emulsions etc. Methods involving substance exposure to mechanical or thermal action inescapably lead to partial destruction of APIs. Freeze drying and similar techniques often require expenses of large volumes of organic solvents. Besides the majority of these methods suffer from lack of ability to control particle size distribution and morphology.

In the past decades there has been a lot of research into the field of supercritical fluid technologies (SFT) application for micronization, impregnation and encapsulations of pharmaceutical substances. Supercritical fluid is a state of matter with properties somewhat intermediate between gas-like and liquid-like. On one hand, supercritical fluid is a dense matter able to solve chemical compounds, like liquids. On the other hand, it's a gas-like medium with no constant volume, low viscosity and high penetration strength. The most often substance used in SFT is carbon dioxide due to the fact that it's a non-toxic, non-flammable, chemically inert, cheap and readily available solvent with relatively low critical parameters (P_{cr}=74 bar, T_{cr} = 31°C) which in normal conditions is a gas.

A consideration of different approaches to using supercritical fluids for particle formation will be done in this report. For those APIs which are soluble in supercritical CO_2 they use a method based on dissolution of the substance in a fluid and then spraying the solution through a nozzle. Right after the dissolution chamber CO_2 immediately evaporate due to rapid pressure drop and thus loses its solvency which causes instantaneous nucleation of the solute. Oversaturation is so high at these conditions that crystallization basically stops at nucleation step with negligible further crystal growth.

A whole branch of SCF methods of micronization is based upon the ability of supercritical fluid to act as an antisolvent to polar substances. When a solution of polar target chemicals in an appropriate solvent miscible with SC-CO_2 is sprayed through a nozzle into a torrent of supercritical fluid the latter rapidly mixes with CO_2. That causes instantaneous oversaturation of the solution in «droplets» and thus very rapid nucleation which once again is not followed by extensive crystal growth.

Particle size and morphology can be affected in SFT methods via operating process parameters: pressure, temperature, flow-rates etc. When using supercritical fluids for micronization one avoids thermo- and mechanical destruction, toxic and VOC wastes are minimized or even lack at all, the

uniformity of API dispersion within a carrying material becomes achievable. By now not all theoretical grounds of supercritical fluid particle formation techniques are crystal clear, but nonetheless it can be stated for sure that these methods will play crucial role in pharmaceutical field, pushing less economically attractive and ecologically friendly techniques aside.

CRYSTAL CLOSED VIAL: A SAFER AND EASIER SOLUTION FOR ASEPTIC FILLING OF INJECTABLE DRUGS

Benoit Verjans
Chief Commercial Officer, Aseptic Technologies S.A., Belgium

Aseptic filling is still a significant source of patient contamination and is more and more complex. Aseptic Technologies has developed a new concept of aseptic filling based on the use of a clean and sterile, hence ready-to-fill vial. The vial, made of polymer materials, is molded and directly closed in ISO5 environment so it does not require cleaning procedure. The sterility is ensured by gamma-irradiation. As the vial is clean and sterile, it can be directly processed to filling. The filling is done with a needle passing through the stopper and dispensing the liquid. To restore the closure integrity, the stopper is immediately re-sealed by a laser. A cap is finally placed by snap fit.

The key advantages of the Crystal technology is to offer (1) a SAFER solution for the patient as the vial remains permanently closed, (2) an EASIER solution for the manufacturer as all the component preparation steps (washing, siliconization and sterilization) are eliminated and (3) a PREFERRED solution for the end-users as the vial is unbreakable and it is easier to handle, open, pierce and collect the liquid.

МЕМБРАННЫЕ БИОРЕАКТОРА: ИССЛЕДОВАНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ, МОДЕЛИРОВАНИЕ, ПРОЕКТИРОВАНИЕ

Иванов С.И.
ФГБОУ ВПО Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева,
125047, Москва, Миусская пл., 9

В настоящее время актуальным является разработка и использование оборудования, совмещающего в себе различные процессы, например, реакторы с мембранным разделением (PMP). Совмещение процессов позволяет добиваться высокого качества продуктов, ресурсо- и энергосбережения. Однако совмещение разных процессов в одном оборудовании или технологической схеме порождает новые задачи в проектировании и эксплуатации этого оборудования. Одной из возникающих задач является определение устойчивых режимов работы при переходе к непрерывным технологиям. Проблема устойчивости функционирования технологических процессов непосредственно связана с возникновением аварийных ситуаций и обеспечением безопасной работы химических и биотехнологических производств; повышением производительности схемы или аппарата; повышением качества продукта; контролем и управляемостью процессом.

В настоящей работе исследовалась устойчивость технологических процессов в технологической схеме, состоящей из реактора и мембранного модуля, и разрабатывался информационно-аналитический программный комплекс для исследования устойчивости, поддержки принятия решения, оценки эффективности, качества, надежности этого оборудования.

Разработанный информационно-аналитический программный комплекс для определения устойчивости РМР позволяет распространить исследование на различные типы реакций, а также может использоваться в качестве системы поддержки принятия решения при проектировании, оценки эффективности, качества и надежности РМР как сложных систем.

Разработанный блочный подход к созданию информационно-аналитического комплекса (ИАК) позволяет гибко использовать экспериментальные данные, справочную информацию и расчетные модули.Разработанный программный комплекс имеет общий характер и содержит различные блоки, включающиематематическое описание: различные кинетические модели, модель фильтрации, расчет устойчивости и прочие, позволяет проводить исследования по различным математическим моделям и вести предпроектные расчеты. Ниже представлены результаты моделирования непрерывных процессов биосинтеза лимонной (рис. 1) и молочной (рис. 2) кислот.

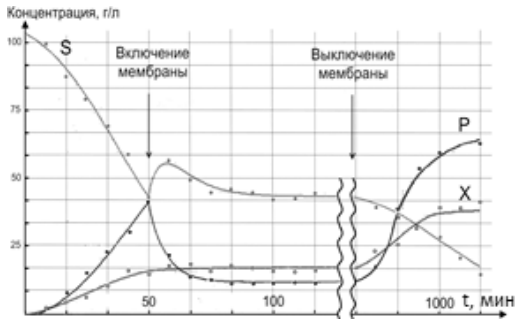


Рис. 1. Зависимость концентраций биомассы (X), субстрата (S), лимонной кислоты (P) от времени для непрерывного режима

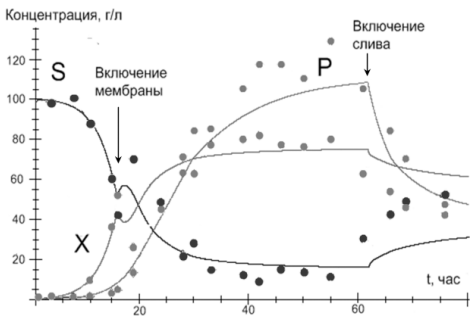


Рис. 2. Зависимость концентраций биомассы (X), субстрата (S), молочной кислоты (P) от времени для непрерывного процесса

По итогам работы можно сделать следующие выводы:

- Предложенный ИАК позволил для двух конкретных задачбиосинтеза молочной и лимонной кислот определить параметры ведения непрерывных процессов, позволяющие повысить эффективность технологической схемы.
- Исследование устойчивости позволило выявить параметры, изменение которых значимо влияет на процесс, и определить коридор параметров, в пределах которого достигается максимальный выход продукта. Было проанализировано влияние работы мембраны (селективности по биомассе, продукту, субстрату); скорости протока; для молочной кислоты – по скорости слива и стрессу микроорганизмов.
- Экспериментальные исследования подтвердили адекватность разработанного программного продукта, моделей и подхода к анализу устойчивости.
- Теоретически и экспериментально подтверждена возможность перехода от периодического к непрерывному процессу синтеза лимонной и молочной кислот в реакторах с мембранным разделением.

ПРОЦЕСС ИНКАПСУЛЯЦИИ В ПСЕВДООЖИЖЕННОМ СЛОЕ: ИССЛЕДОВАНИЕ И ПРОГНОЗИРОВАНИЕ КАЧЕСТВА ПОКРЫТИЯ

Голомидов Е.С.

Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева.
125480 Москва, улица Героев Панфиловцев, 20

Эта работа описывает подход к математическому моделированию процесса нанесения покрытий в псевдоожиженном слое, заключающийся в комбинации нескольких математических

инструментов: факторное планирование эксперимента и статистический анализ данных, балансы массы, энергии и числа частиц, а также нейронная сеть.

Проведение лабораторных опытов в сочетании с факторным анализом позволяет выявить ключевые факторы качества нанесенного покрытия в зависимости от параметров проведения процесса. Математическая модель процесса нанесения покрытия описывает тепло- и массообмен между тремя фазами – воздухом, частицами и каплями диспергируемого раствора для покрытия. И состоит из уравнений изменения влагосодержания и температуры каждой из трех фаз; уравнения для изменения количества полимерного покрытия на частице и уравнения изменения количества капель по высоте слоя и во времени, начальных и граничных условий. Адекватность модели подтверждена экспериментальными данными и имеет среднеквадратичное отклонение R = 0,95.

Математическое моделирование процесса нанесения покрытия позволяет рассчитывать высоту слоя, остаточное влагосодержание продукта, а также толщину слоя покрытия в зависимости от условий проведения процесса. Это позволяет значительно сократить временные и материальные задачи на начальном этапе разработки новой технологии.

В ходе работы были выявлены ключевые факторы, влияющие на качество нанесенного покрытия: сыпучесть, доля агломератов, и внешний вид полимерной пленки.

Сочетание различных математических инструментов позволяет определять оптимальные условия проведения процесса и прогнозировать качество покрытия при заданных параметрах.

ENCAPSULATION PROCESS IN A FLUIDIZED BED: A STUDY AND PREDICTION OF THE COATING QUALITY

Evgeny Golomidov

D.I. Mendeleyev University of Chemical Technology of Russia, Computer Aided Process Engineering Faculty, Geroev Panfilovtsev Str. 20, Moscow, 125480, Russia

This work describes an approach to modelling of fluidized bed coating, which implies the combination of several mathematical tools, such as experimental design and factorial analysis, heat, mass and population balances equations, and artificial neural network.

Application of the experimental design and factorial analysis allow to identify significant factors for coating quality from a large range of control process parameters and to narrow a range of their changes. Besides that experimental design was used to get a representative sampling with minimum of experiments. Rely on heat, mass and population balances into the fluid bed during coating process and hydrodynamics of fluid bed equipment the mathematical model was constructed. The adequacy of model was confirmed by experimental data with a root-mean-square deviation R=0.95.

Mathematical modelling of the coating process allows calculating bed height, process runtime, residual moisture of product, process efficiency and coating layer thickness in depending on process conditions. Estimating optimal conditions are input data for artificial neural network module to predict quality of coating product.

The key factors of coating quality were considered flowability, part of agglomerates, and appearance of coating film.

Combination of different mathematical tools allows to find optimal process conditions and to predict a good coating quality for this process parameters.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ РАСПЫЛИТЕЛЬНОЙ СУШКИ НА КАЧЕСТВЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ БИОМАССЫ *RHODOTORULA RUBRA*

Войновский А.А.
Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева.
125047 Москва, улица Героев Панфиловцев, 20

Каротиноидные пигменты – обширная группа соединений, обладающих высокой биологической активностью. Помимо провитаминного действия, каротиноиды являются мощными антиоксидантами, обеспечивающими в организме защиту макромолекул от повреждений. Поскольку дрожжи способны синтезировать широкий спектр каротиноидов, эта группа микроорганизмов может занять прочные позиции в современной биотехнологии. Обеспечение сохранности получаемых продуктов после микробиологического синтеза является актуальной задачей, которая может быть решена путем высушивания биомассы. В качестве культуры был выбран штамм *Rhodotorula Rubra*. Исследования распылительной сушки биомассы проводились на установке Mini Spray Dryer B-290, BÜCHI.

При планировании эксперимента был использован ортогональный план второго порядка. За основу был выбран полный факторный эксперимент для четырех факторов, количество опытов в центре плана было взято n_0=3, а в звездных точках $n_{зт}$=8. Звездное плечо было определено исходя из количества факторов и числа опытов в центре плана α^2=2.39. В качестве варьируемых параметров были выбраны X_1 – температура сушильного агента, X_2 – расход сушильного агента, X_3 – расход сжатого воздуха, X_4 – расход высушиваемой биосуспензии. В качестве выходных характеристик, определяющих качество сухого продукта, были взяты удельная антиоксидантная активность (АА, %) и остаточное влагосодержание (ОВ,%). В соответствии с полученными данными был проведен регрессионный анализ и получены регрессионные уравнения. Используя полученные уравнения регрессии, были найдены оптимальные условия для данных параметров. В дальнейшем была проведена свертка многокритериальной задачи методом утопической точки. Для полученной функции желательности был проведен регрессионный анализ и определены координаты оптимума. Исходя из полученных данных были найдены оптимальные условия для распылительной сушки биомассы *Rhodotorula Rubra*.

ПУРОЛАЗА И МИНИПЛАЗМИНОГЕН — ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ ДЛЯ ФИБРИНОЛИТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

Бибилашвили Р.Ш.
КНПК ФГБУП МЗиСО РФ
Россия, Москва, Черепковская 15а

Тромбозы являются одними из важнейших острых патологий сердечно сосудистой системы. Основой современной системы лечения пациентов является использование одного из двух природных активаторов плазминогена тканевого или урокиназного типа для быстрого растворения образовавшегося тромба. Оба активатора представленных на российском рынке «Тенектеплаза» и «Пуролаза» являются продуктами генноинженерной технологии и значительно отличаются по структуре от природных аналогов. Необходимость введения существенных изменений в структуру молекулы природного активатора в значительной степени обусловлено необходимостью применения препарата в концентрациях несколькими порядками величины превосходящими их физиологические концентрации и способностью этих молекул осуществлять помимо активации плазминогена целый ряд других, иногда нежелательных эффектов, в частности влияющих на гемостаз.

Будут обсуждены вопросы связанные с фармакодинамикой «Пуролазы» на основе опыта ее использования в России для лечения острого инфаркта миокарда и необходимости введения коррекции в виде дополнительного введения плазминогена для компенсации системного падения ее концентрации при фибринолитической терапии. Для этой цели предполагается использовать разрабатываемый в настоящее время Препарат на основе генноинженерного модифицированного человеческого плазминогена.

БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ ПРОИЗВОДСТВА НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ – ОТ СТАЛИ К ПЛАСТИКУ

Новиков Юрий Николаевич
Информационно-Технический центр «Сарториус» — ООО «Сарторос»
107014, Стромынка 13, Москва, Россия.

В современной модели биофармацевтического производства одним из главных технологических новшеств стало использование пластиковых одноразовых элементов практически во всех стадиях технологических процессов. Возможность ускоренного запуска производств, их гибкость по объему и ассортименту продуктов, лучшее соответствие нормам стерильности и удешевление оборудования – все эти факторы уже давно приняты западным (и уже – восточным) биофармацевтическим сообществом.

Вопросы применимости и эффективности одноразовых систем рассматриваются на практических примерах ведущих мировых производителей.

- причины роста интереса к одноразовым системам
- «одноразовая фабрика» как идеальная модель; нерешенные вопросы
- виды и конструкции современных одноразовых биореакторов
- масштабирование
- применение перфузии
- одноразовые сенсоры – ключевые технологические элементы
- вопросы инжиниринга современных биопроцессов
- проблемы и новые вопросы в применении одноразовых систем
- российские особенности и практика применения
- перспективы развития

Ведущим европейским поставщиком — компанией Sartorius-Stedim Biotech производятся практически все требуемые элементы современных биопроцессов — одноразовые биореакторы, емкости, фильтры, хроматографические адсорберы. Единый поставщик технологических решений для всех стадий биопроцессов – уникальное явление в современной биофармацевтике – формирует новую модель отношений между производителями субстанций и поставщиками оборудования и технологий.

BIOPHARMACEUTICAL PRODUCTION OF A NEW GENERATION — FROM STEEL TO PLASTIC

Yury Novikov
Service and Consulting centre "Sartorius" — OOO "Sartoros"
107014, Stromynka 13, Moscow, Russia

Using of disposable plastic systems in almost of all stages of the bioprocesses is the major technological innovation in the modern model of biopharmaceutical manufacturing. Accelerated production, flexibility in scale and product range, better compliance with the standards of sterility and reduce the cost of equipment — all these factors have been accepted by the Western (and already — Eastern) biopharmaceutical community.

Problems of applicability and effectiveness of single-use systems are considered on case studies of leading manufacturers.

- Reasons for the interest in a single-use systems
- "Disposable factory" as an ideal model; still pending issues
- Types and design of modern disposable bioreactors
- Scaleabilty issues
- The use of perfusion
- Disposable sensors — the key technology elements
- Questions of modern bioprocess engineering
- Challenges and emerging issues in the use of disposable systems
- Russian practice
- Prospects of development

Sartorius-Stedim Biotech – the leading European supplier – produces the widest range of the required elements of modern bioprocesses — disposable bioreactors, tanks, filters, chromatographic adsorbers. A whole provider of technology solutions for all stages of bioprocesses — a unique phenomenon in modern biopharmaceuticals — creates a new model of relations between producers of substances and suppliers of equipment and technology

МЕЖДУНАРОДНЫЙ СИМПОЗИУМ «НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОЕ СОТРУДНИЧЕСТВО: РОССИЯ – EMBL (ЕВРОПЕЙСКАЯ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРИЯ) В ОБЛАСТИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ»

INTERNATIONAL SYMPOSIUM "SCIENTIFIC AND TECHNICAL COOPERATION: RUSSIA — EMBL (EUROPEAN MOLECULAR BIOLOGY LABORATORY) IN MOLECULAR BIOLOGY"

РОЛЬ ИНСУЛЯТОРНЫХ БЕЛКОВ dCTCF И CP190 В РЕГУЛЯЦИИ ТРАНСКРИПЦИИ У ДРОЗОФИЛЫ

Георгиев П.Г.[1], **Максименко О.Г.**[1], **Стахов В.Л.**[1], **Четверина Д.А.**[1], **Ерохин М.М.**[1], **Бончук А.Н.**[1], **Комарынец О.В.**[1], **Фурлонг Е.Е.**[2]
[1]*Институт биологии гена РАН, Москва, Россия;*
[2]*Европейская лаборатория молекулярной биологии (EMBL), Гейдельберг, Германия.*

Инсуляторы представляют собой особый класс регуляторных элементов, который модулируют дистанционные взаимодействия между энхансерами и промоторами. В последнее время накапливается все больше данных, которые демонстрируют ключевую роль инсуляторных комплексов в поддержание специфичных дальних взаимодействий и архитектуры хроматина в ядре. У дрозофилы было найдено четыре ДНК- связывающих инсуляторных белка dCTCF, Su(Hw), Zw5 и BEAF. У позвоночных пока обнаружен только один белок гомологичный dCTCF дрозофилы. Белок CP190 является компонентом Su(Hw), dCTCF и BEAF инсуляторных комплексов. Согласно наиболее популярной модели CP190 является основным фактором, который формирует функционально активные инсуляторы. Недавно нами были идентифицированы 12 ДНК- связывающих белков, которые взаимодействуют с CP190. BTB домен белка CP190 нужен для взаимодействия с новыми белками. Наиболее детально было исследовано взаимодействие между белками CP190 и dCTCF. Результаты текущих исследований будут представлены в докладе.

ROLE OF INSULATOR PROTEINS dCTCF AND CP190 IN T RANSCRIPTION REGULATION OF DROSOPHILA

Georgiev P.G.[1], **Maksimenko O.G.**[1], **Stachov V.L.**[1], **Chetverina D.A.**[1], **Erochin M.M.**[1], **Bomchuk A.N.**[1], **Komarinec O.V.**[1], **Furlong E.E.**[2]
[1]*Institute of Gene Biology RAS, Moscow, Russia;* [2]*European Molecular Biology Laboratory (EMBL), Heidelberd, Germany.*

Chromatin insulators are special regulatory elements involved in modulation of enhancer–promoter interactions. Recent data demonstrate that insulator complexes mediate effective distant interactions. Therefore, it may well be that insulator proteins are components of enhancer bound complexes that are capable of specific long-distance interactions with promoters. In Drosophila four insulator complexes were described: dCTCF, Su(Hw), Zw5 and BEAF. In vertebrates only homolog of CTCF has been identified yet. CP190 in *Drosophila* is an essential component of three different insulator complexes: Su(Hw), dCTCF, and BEAF. According to the current model, CP190 is the main factor necessary for the

formation of active insulator complexes. Recently we identified 12 novel DNA-binding transcription factors that interact with CP190 and are expressed at the embryo stage. The BTB domain of CP190 is essential for interaction with these proteins. Interaction of CP190 with dCTCF was examined in detail. Current results of this study will be presented.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РЕНТГЕНОВСКИХ ЛАЗЕРОВ И ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСОКПИИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОСТРАНСТВЕННЫХ СТРУКТУР БЕЛКОВ И ПОЛИПЕТИДОВ.

Шайтан К.В., Соколова О.С., Д.А.Долгих, Кирпичников М.П.
Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет 119991 Москва, Ленинские горы, д.1, стр.12
E-mail: k.v.shaitan@molsim.org

Обсуждаются перспективы использования рентгеновских лазеров на свободных электронах (XFEL) для определения пространственной структуры белков и полипептидов, в частности, мембранных белков в сочетании с методами просвечивающей электронной криомикроскопии (ЭМ). Основным преимуществом ЭМ является возможность использование не кристаллических образцов. Недостаток – низкое пространственное разрешение. Однако в сочетании с методами моделирования структуры белков по гомологии и докингом полипептидной последовательности в получаемые структуры низкого разрешения удается провести интерпретацию пространственной структуры (в частности, ионных каналов). Использование XFEL в перспективе также должно дать возможность определения пространственной структуры индивидуальной молекулы. Огромный потенциал этого метода заключается также в возможности определения структурных (конформационных) изменений белка при его функционировании с фемтосекундным разрешением, что открывает новую эру в структурной биологии. Однако полноценное использование XFEL требует решения серьезных экспериментальных и теоретических проблем, а также сочетания на данном этапе различных методов (ЭМ, биоинформатики и др.), которые также обсуждаются в докладе.

X-RAY LASERS AND CRYO-ELECTRON MICROSCOPY TECHNIQUES FOR DETERMINATION OF PROTEIN AND POLYPEPTIDE 3-D STRUCTURES

Shaitan K.V., Sokolova O.S., Dolgikh D.A., Kirpichnikov M.P.
Biology Faculty M.V.Lomonosov Moscow State University, Moscow 119991
E-mail: k.v.shaitan@molsim.org

The perspectives of using X-ray free electron lasers (XFEL) in combination with cryo-electron microscopy (cryo-EM) for determining the overall structure of proteins and polypeptides, including the membrane-embedded proteins are discussed. The main advantage of cryo-EM is that this method does not require crystallization of protein for structural studies. The main disadvantage is that this method routinely provides low spatial resolution. The last couple years experience, however, revealed the unique combination of methods, when cryo-EM data have been interpreted using molecular modeling and docking of crystal structures into electron density. We have demonstrated that this combined approach is especially useful for solving the structures of human ion channels. The perspectives of using XFEL to determine the overall structure of a single molecule are also discussed. This structural method has a great potential to determine the conformational changes of a protein molecule within ultra fast time scale, which opens up the new era in structural biology. Yet to fully understand how

to interpret the XFEL data, the investigators have to overcome a number of serious experimental and theoretical problems, including combination of XFEL with other structural methods (cryo-EM, bioinformatics etc).

ДИНАМИКА СВЕРХБЫСТРЫХ СТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ БИООБЪЕКТОВ

Саркисов О.М.[1], **Шайтан К.В**[2]., **Надточенко В.А.**[1], **Островский М.А**[2]., **Кирпичников М.П**[2].

[1]*Институт химической физики имени Н.Н.Семенова, РАН, 119991, Москва, ул. Косыгина, д.4*
[2]*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет 119991 Москва, Ленинские горы, д.1, стр.12*
E-mail: k.v.shaitan@molsim.org

Ключевым фактором, определяющим поведение биологических объектов, является динамика структурных переходов, индуцированная физическими и химическими воздействиями. Успехи лазерной физики дали в руки химиков и биологов новый инструмент – импульсы света фемтосекундной длительности. Появились новые области исследований, которые получили название фемтохимия и фемтобиология. В этих областях быстро развиваются новые направления: динамика физико-химических процессов на фемто-субпикосекундной временной шкале; когерентные фотохимические или фотобиологические процессы; физико-химические процессы, инициируемые многофотонным поглощением фемтосекундного излучения. Примерами являются: первичный акт зрения, который представляет цис-транс изомеризацию ретииналя и протекает за время ~ 200фс; когерентное управление динамикой переноса электрона в реакционном центре фотосистемы 1 и изомеризация в зрительных и бактериальных родопсинах; многофотонное поглощение фемтосекундного излучения для создания фемтосекундных оптических скальпелей и использование их в микрохирургии биотканей, эмбрионов, клеток и субклеточных структур.

Однако, во всех этих направлениях прорыв был ограничен, так как он касался только спектральных изменений хромофоров. Так, например, разделение заряда в фотосинтезе и изомеризация хромофора в первичных процессах зрения экспериментально детектируются только по кинетике спектральных изменений. Прямой экспериментальной информации о динамике структурных изменений как в хромофоре, так и в белковом окружении на основании только фемтосекундной спектроскопии получить невозможно. Дальнейшее развитие фундаментальных представлений о функционировании живой материи требует получения прямой экспериментальной информации о динамике структурных изменений в биообъектах. Важно понимать также, каким образом когерентное управление проявляется в структурных переходах биополимеров. Для развития лазерной микрохирургии клеток и субклеточных структур очевидна также необходимость разработки экспериментальных методов детектирования динамики структурных изменений. Во всех этих направлениях сочетание рентгеновского лазера (XFEL) и фемтосекундной оптической техники обещает быть весьма плодотворным.

Рентгеновские лазеры на свободных электронах позволяют за времена порядка десятков фс получить дифракционную картину от биообъекта. Сочетание таких импульсов с уже развитой фемтосекундной оптической спектроскопией позволит достичь значительных успехов в понимании фундаментальных биологических процессов и наметить пути направленной модификации белковых структур для использования в прикладных задачах. В фемтосекундной спектроскопии стандартным методом является метод «возбуждение – зондирование». При этом в качестве зондирущего обычно используется импульс суперконтинуума в широкой спектральной области. Однако, в случае XFEL импульсы рентгеновского излучения можно

использовать в качестве зондирующих, а оптический импульс — в качестве возбуждающего. В этом случае можно будет получать уникальную по своей ценности информацию о динамике структурных изменений с фемтосекундным разрешением.

Для решения такой задачи требуется существенное развитие имеющихся экспериментальных комплексов, позволяющих управлять измерениями в фемтосекундном диапазоне одновременно от оптического и рентгеновского лазеров.

В качестве первых задач можно предложить:

-исследование динамики фотоиндуцированных структурных превращений в родопсине, бактериородопсине и родственных белковых структурах

-исследование взаимосвязи динамики разделения зарядов и динамики белковой глобулы в пигмент белковых комплексах фотосинтеза.

-исследование динамики структурных превращений в биологической клетке и в биологической ткани после облучения интенсивным лазерным импульсом.

Предполагается проведение измерений с нанокристаллами этих белков.

Возникает также комплекс технических задач:

- Создание экспериментального комплекса для проведения измерений типа возбуждение-зондирование. Возбуждение осуществляется фемтосекундным импульсом видимого диапазона. Зондирование – задержанный во времени относительно возбуждения рентгеновский импульс.

Подзадачами являются: решение проблемы синхронизации фс импульсов видимого диапазона с рентгеновскими импульсами и реализации контролируемой задержки между этими импульсами; решение проблемы накопления сигнала рентгеновских импульсов зондирования.

-Создание системы микрофлюидик для получения суспензии микрокристаллов, для подачи микрокристаллов в измерительную кювету и для манипулирования микрокристаллами в предметной плоскости измерительной кюветы (область пространственного пересечения фс импульса возбуждения и рентгеновского импульса зондирования).

Подзадачами являются: создание лазерного голографического манипулятора (оптического твизера) для разделения микрокристаллов белка по фракциям (размер, форма и т.п.), для отбора и контроля качества микрокристалла, подаваемого в предметную плоскость измерительной кюветы; создание лазерного оптического твизера для удержания микрокристалла в предметной плоскости измерительной кюветы; разработка системы контроля за состоянием микрокристалла облучаемого фс рентгеновскими импульсами и системы автоматической замены разрушенного микрокристалла аналогичным неповрежденным; разработка методов определения последовательных структур белка (биоткани) при изменении времени задержки между импульсами возбуждения и зондирования.

ULTRAFAST DYNAMICS OF STRUCTURAL TRANSFORMATIONS IN BIOLOGICAL OBJECTS

Sarkisov O.M[1]., Shaitan K.V[2]., Nadtochenko V.A[1]., Ostrovsky M.A[2]., Kirpichnikov M.P[2].

[1]*N.N. Semenov Institite of Chemical Physics, RAS, Moscow 119991*

[2]*Biology Faculty M.V.Lomonosov Moscow State University, Moscow 119991*

E-mail: k.v.shaitan@molsim.org

A key factor in determining the behavior of biological objects is the dynamics of structural transformation induced by physical or chemical effects. Advances in laser physics give a new tool — the light pulses of femtosecond duration. There are new areas of research, which are called femtochemistry and femtobiology. In these areas, rapidly developing new areas are the dynamics of physico-chemical processes on the femtosecond time scale of subpicosecond, coherent photochemical

or photobiological processes, physico-chemical processes initiated by multiphoton absorption of femtosecond radiation. For examples, the primary act of vision occurs with characteristic time of 200fs. Multiphoton fs laser excitation can be used for for microsurgery of biological cells, tissues, embryos etc. Coherent control of electron transfer dynamics in the reaction center of photosystem 1 and isomerization in the visual and bacterialrhodopsin can be realized after femtosecond pulse excitation. However, information about structural transformations at short times initiated by fs pulse is limited, since it concerned only the spectral changes of the chromophores. For example, the charge separation in photosynthesis and isomerization of the chromophore in the primary processes of the experimentally detected only on the kinetics of spectral changes. Direct experimental information on the dynamics of structural changes in chromophore and the protein environment on the basis only of femtosecond spectroscopy can not be obtained. Further development of the fundamental concepts about the functioning of living matter requires obtaining direct experimental information on the dynamics of structural changes in biological objects. It is important to understand also how coherent control is manifested in the structural transitions of biopolymers. For the development of laser microsurgery of cells and subcellular structures is evident the need to develop experimental methods for the detection of the dynamics of structural change. In all these areas a combination of x-ray laser (XFEL) and femtosecond optical technique promises to be very fruitful.

Time resolution of X-ray free-electron lasers is tens fs. The combination of these X-pulses with femtosecond optical spectroscopy promises significant progress in the understanding of fundamental biological processes and identify ways to modify protein structures designed for use in applications. In femtosecond spectroscopy standard method is the pump-probe. In the current case X-pulse should be probe pulse and UV-VIS fs pulse should be pump. The delay between pump and probe can be varied in control way. By this it can be possible to receive a unique information about the dynamics of structural transformations with femtosecond resolution. To solve this problem requires a substantial development of the existing experimental systems that allow control measurements in the femtosecond range of both optical and X-ray lasers.

The objectives of the project:

-study of the dynamics of the photoinduced structural changes in rhodopsin, bacteriorhodopsin and of related protein structures

-study the relationship between the dynamics of charge separation and the dynamics of the protein globule of pigment-protein complexes of photosynthesis.

-study the dynamics of structural changes in biological cell and biological tissue irradiated by an intense laser pulse in relation with the cell microsurgery problem.

Supposed to perform measurements with micro-and nano-crystals of rhodopsin and photosyntesis proteins

The technical tasks:

-to develop pump-probe setup when pump is UV-VIS femtosecond pulse and probe is X-pulse delayed in time relative to the pump;

Subtasks: to develop a synchronization of pump fs UV_VIS pulse with X-probe-pulse and the implementation of a controlled delay between the pump and probe pulses; to develop a data acquisition for detection of X-ray probe pulses.

-to develop system laser optical traps – tweezers for manipulation of microcrystals

-to design microfluidics for formation of a suspension of microcrystals; to feed the microcrystals in the measure cuvette; to manipulate micro-crystals in the area of spatial cross-fs pump pulse and the X-ray probe pulse; to develop the system for control of microcrystal quality.

Subtasks: to design a holographic laser manipulator (optical tweezers) for the separation of micro-crystals of the protein on fractions (size, shape, etc.) for the selection and quality control of the microcrystal feed in measurecell; to develop a laser optical traps to fix the microcrystals in the cross

area of UV-VIS pulse and X-pulse; to develop a control system for the state of the microcrystal irradiated by X-ray fs pulses and the system for automatically rebuild the destroyed microcrystal by similar intact; to develop of methods for determining the sequence of protein (tissue) structures when the time delay between the pump and probe pulses.

ОТ КРИСТАЛЛОГРАФИИ ЛИГАНДОВ К РАЦИОНАЛЬНОМУ ДИЗАЙНУ ЛЕКАРСТВ

Ciarán Carolan [1], **Victor Lamzin** [1], **Егоров А.М., Григоренко В.Г**

[1]*European Molecular Biology Laboratory (EMBL),*
c/o DESY, Notkestrasse 85, 22603 Hamburg, Germany
[2]*Химический ф-т МГУ имени М.В. Ломоносова,*
Россия, Москва, 119992, Ленинские Горы д.1, стр.11)

Лиганды как биологические субстраты, так и эндогенные модуляторы играют исключительную роль в живых системах и во-многом отвечают за поддержание гомеостаза. Идентификация связанных лигандов и моделирование структуры их взаимодействий с белками и нуклеиновыми кислотами являются фундаментальными задачами для понимания функций макромолекул. Программное обеспечение ARP/wARP, разработанное нами для построения атомных структур с использованием карт электронных плотностей в кристаллографии включает усовершенствованный модуль построения лигандов. Метод основан на соответствии формы и размера ряда лигандов-кандидатов – каждый в различных конформациях – электронной плотности, и может быть рассчитан очень быстро.

Молекулы лекарств часто взаимодействуют с биологическими макромолекулами подобно эндогенным лигандам, связываясь с теми же сайтами и используя схожие возможности взаимодействия. Таким образом мы усовершенствовали наше программное обеспечение для поиска лекарств на основе структурной информации. Программа выявляет потенциальные лекарства-кандидаты, которые могут, по крайней мере в одной из возможных конформаций, связываться с целевой мишенью. Также при рассчётах учитываются заряды атомов для сохранения выгодных контактов обеспечивая при этом возможность для новых взаимодействий с целевым белком. База данных из 8 миллионов соединений-кандидатов анализируется в течение 2-х часов на однопроцессорном настольном компьютере.

Разработанный нами подход был использован для поиска новых ингибиторов бета-лактамаз, которые в большинстве случаев ответственны за механизм устойчивости к антибиотикам внутрибольничных бактериальных штаммов. Мы создали эффективную систему экспрессии рекомбинантной бета-лактамазы класса А TEM-1 в клетках *E.coli* для изучения в условиях *in vitro*/*in vivo*. Для известных ингибиторов, связывающихся в активном центре фермента, так и действующих аллостерически, с помощью разработанного программного обеспечения были выбраны 550 соединений для дальнейшего скрининга in vitro. В результате были выявлены соединения, обладающие наилучшими параметрами ингибирования, причём одно из найденных соединений на порядок превосходило по эффективности ингибирования рекомбинантной бета-лактамазы TEM-1 все известные в настоящее время ингибиторы. Найденные соединения в настоящее время анализируются в условиях *in vivo* на культурах клеток *E.coli*.

FROM CRYSTALLOGRAPHIC LIGAND FITTING TO STRUCTURE-BASED DRUG DISCOVERY

Ciarán Carolan[1], **Victor Lamzin**[1], **Alexey Egorov**[2], **Vitaly Grigorenko**[2]
[1]*European Molecular Biology Laboratory (EMBL), c/o DESY, Notkestrasse 85, 22603 Hamburg, Germany) and* [2]*Department of Chemistry, Lomonosov Moscow State University, Moscow 119992, Russia*

Ligand molecules — both biological substrates or endogenous macromolecular modulators — play a crucial role in human systems and are largely responsible for the maintenance of homeostasis. The identification of bound ligands and structural modelling of their interactions with a protein or nucleic acid are fundamental to understanding macromolecular function. The ARP/wARP software suite that we developed for the building of atomic structures in crystallographic electron density maps includes an advanced ligand-building module. The method relies on features that match the shape and size of a series of candidate ligands — each in a variety of conformations — to the density, and can be calculated exceedingly rapidly.

Drug molecules often interact with biological macromolecules in a manner analogous to endogenous ligands, occupying the same pockets and exploiting similar interaction possibilities. Based on this realisation, we have advanced our software to be applicable to structure-based drug discovery. The software identifies drug candidates that can, in at least one feasible conformation, bind similarly to the target template. Atomic charge information is also considered in order to retain advantageous contacts while also providing for possible new interactions with the host protein. A database of 8 million candidate compounds is analysed in a couple of hours on a single CPU desktop computer.

We applied the method to identify new inhibitors of the beta-lactamase enzyme responsible for much of the antibiotic resistance that is developing into an immense clinical issue. We have developed the effective model expression system for class A TEM-1 beta-lactamase production in *E.coli* for *in vitro*/*in vivo* testing. Four known inhibitors, binding both at the active and allosteric sites of the enzyme, were used as input, and a total of 550 compounds suggested by the software were screened in vitro. Better inhibitors were identified based on each of the four template molecules, with one demonstrating an order of magnitude better inhibition of recombinant TEM-1 beta-lactamase than any similar agent reported previously. These compounds are now being analysed in vivo and the results will be reported if available.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗОБРАЖЕНИЯ С ПОМОЩЬЮ РЕНТГЕНОВСКИХ ЛАЗЕРОВ НА СВОБОДНЫХ ЭЛЕКТРОНАХ

Гровс М.[1], **Ламзин В.С.**[1], **Донцова О.А.**[2] **Зверева М.Э.**[2], **Родина Е.В.**[2]
[1]*Европейская лаборатория молекулярной биологии (EMBL),*
DESY, Notkestrasse 85, 22603 Гамбург, Германия
[2]*Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, г. Москва 119992, Россия*

Моделирование белковых комплексов и биологических систем с высоким разрешением было до недавнего времени практически невозможно. Рентгеновская кристаллография — основной метод для определения структуры в современной структурной биологии — требует кристаллический образец, для получения экспериментальных данных, и получение таких образцов для больших молекулярных машин, часто бывает трудно, если не сказать невозможно. Последние достижения в области технологий визуализации белковых комплексов и других биосистем начинают менять это утверждение. Когерентное дифракционное изображение с использованием синхротронного источника позволило продвинуться в визуализации биологических систем такого рода. В настоящее время в Стэнфорде и Гамбурге развивается

этот новый подход и техника по строительству и эксплуатации полностью когерентного рентгеновского лазеры на свободных электронах (ЛСЭ). В преддверии наличия этих источников, мы начали обширные совместные исследования, мы надеемся, что будет использован весь потенциал новых средств.

ЛСЭ обеспечивает интенсивное короткоимпульсное излучение (с длинной импульса от 100 до 10 фемтосекунд или короче). В течение этого короткого периода времени радиационные повреждения не успевают существенно нарушать исходное положение атомов, при этом рентгеновское излучение, попадающее на образец со скоростью 300000 км / с успеет пройти на несколько мм дальше. Все фотоны, рассеянные от образца с размером меньше этого расстояния приведут к когерентному дифракционному рассеянию, которое можно измерить. Этот эффект известен как «дифракция до разрушения», поскольку радиационный распад молекулы, вызванный излучением произойдет после прохождения излучения через образец. Это явление открывает спектр возможностей для проведения новых экспериментов по визуализации биологических одиночных частиц (например, крупных комплексов, клеточных органелл или вирусов), либо в естественных условиях выращенных макромолекулярных нанокристаллов. В этой презентации мы вкратце описываем процессы, связанные с получением ЛСЭ изображений и представляем некоторые наши последние данные для биологических образцов. Мы будем также подробно представлять планы будущих экспериментов для получения изображений биологических объектов и контрольного образца качества, которые мы намерены провести с нашими русскими коллегами.

BIOLOGICAL IMAGING WITH X-RAY FREE ELECTRON LASERS

Matthew Groves [1], **Victor Lamzin**[1],
Olga Dontsova [2], **Zvereva Maria** [2], **Rodina Elena** [2]
[1]*European Molecular Biology Laboratory (EMBL),*
c/o DESY, Notkestrasse 85, 22603 Hamburg, Germany
[2]*Department of Chemistry, Lomonosov Moscow State University, Moscow 119992, Russia*

The modeling of protein complexes and biological systems to a high resolution has been, until recently, almost impossible. X-ray crystallography – the foremost method for structure determination in contemporary structural biology – requires a crystalline sample as experimental input, and the provision of such samples for large molecular machines is often difficult if not impossible. Advances in imaging technologies are beginning to change this, however. Coherent diffractive imaging on synchrotron sources has already allowed the visualisation of biological systems of this nature. More recent developments at Stanford and Hamburg are now evolving this technique further through the construction and operation of fully coherent X-ray Free-Electron Lasers (FELs). In anticipation of the availability of these sources, we have begun extensive collaborative efforts that we hope will leverage the full potential of the facilities.

The high flux and repetition rate of the femtosecond-long X-ray pulses allow diffractive data to be collected at doses far above those currently used, as the sample scatters all incident photons before the destructive process is completed (so called diffraction before destruction). This phenomenon offers a spectrum of opportunities to carry out novel experiments for imaging of biological single particles (for example large complexes, cellular organelles or viruses) or *in vivo* grown macromolecular nanocrystals. In this presentation we will briefly describe the processes involved in FEL imaging and present some of our recent data from biological samples. We will also detail future plans for biological imaging experiments and sample quality control that we intend to carry out with our Russian collaborators.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ КОМПОНЕНТОВ И ОСОБЕННОСТЕЙ РАБОТЫ ТЕЛОМЕРАЗЫ H. POLYMORPHA: ПУТЬ К ПОНИМАНИЮ КОНТРОЛЯ КОЛИЧЕСТВА ДЕЛЕНИЙ КЛЕТКИ.

Зверева Мария[1], **Александр Малявко**[1], **Смекалова Елена**[1], **Петрова Ольга**[1], **Родина Елена**[1], **Донцова Ольга**[1] , **Мэтью Гровс** [2], **Виктор Ламзин** [2]

[1]*Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, г. Москва 1199992, Россия*

[2]*Европейская лаборатория молекулярной биологии (EMBL), DESY, Notkestrasse 85, 22603 Гамбург, Германия*

Теломераза является ключевым ферментом в поддержании длины теломер в клетках эукариот. Теломеры поддерживают стабильность хромосом, защищая их от разрушения, а также участвуют в контроле количества клеточных делений. Теломеры укорачиваются с каждым делением клетки. Как только теломеры достигают критической длины, клетка вступает в состояние сенессенса и в дальнейшем умирает от апоптоза. Чтобы избежать этого процесса некоторые типы клеток (в частности, половые, стволовые и раковые клетки) используют компенсаторные механизмы — одним из таких механизмов является активация теломеразы. Следует отметить малочисленные данные о структуре теломеразных компонентов: данные доступны только для некоторых теломеразных белков. Знание структуры полного комплекса теломеразы позволит разработать соединения, блокирующие активный центр фермента, что необходимо для нормализации контроля количества делений клеток в раковых опухолях. Белки из термофильных организмов обычно более устойчивы, чем их аналоги из других организмов. Таким образом, в рамках данного проекта мы выбрали для работы теломеразу из термотолерантных дрожжей Hansenula polymorpha. Основными компонентами теломеразы являются теломеразы РНК (TR) и белковая субъединица — теломеразная обратная транскриптаза (TERT). Эти два компонента являются достаточными для активности теломеразы in vitro, в то время как в естественных условиях необходимы дополнительные белки : Est1, Est3 и Cdc13 в S. cerevisiae. Мы определили основные компоненты теломеразы дрожжей Hansenula polymorpha. Мы оптимизировали условия для выделения H. polymorpha TERT и его N-концевого домена при экспрессии в E.coli. Показали функциональную активность выделенного полноразмерного белка TERT, и мы находимся на пути к определению условий кристаллизации для последующего разрешения структуры TERT и его N-концевого домена. Мы также определили возможные гены других белков теломеразы Hansenula polymorpha (Est1, Est3) и проверили их пригодность для структурных исследований.

Исследования особенностей функционирования теломеразы Hansenula polymorpha помогут понять механизм ее участия в ограничении длины теломер в клетке.

IDENTIFICATION OF COMPONENTS AND FEATURES OF a *H. POLYMORPHA* TELOMERASE COMPLEX: TOWARDS AN UNDERSTANDING OF CELL DIVISION CONTROL

Zvereva Maria [1] , Malyavko Aleksandr [1], Smekalova Elena [1], Petrova Olga [1], Rodina Elena [1], Dontsova Olga [1], Matthew Groves [2], Victor Lamzin [2]

[1]*Department of Chemistry, Lomonosov Moscow State University, Moscow 1199992, Russia*

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

Telomerase is the key player in maintaining telomere length in eukaryotic cells. Telomeres maintain the stability of chromosomes by protecting them from degradation and fusion, and participate in the process of cell senescence. Telomeres are shortened with each cell division. As soon as telomeres reach a critical length, the cell enters senescence and dies. To avoid this process some cells types (in particular germ, stem and cancer cells) use compensatory mechanisms — one such mechanism is the telomerase activation. Research in this field suffers from a lack of structural data on the telomerase complex since only limited structural data are available on telomerase proteins. Knowledge of the structure of the full telomerase complex would allow the development of specific agents that inhibit telomerase activity – potential anticancer drugs. Proteins from thermophilic organisms are usually more stable than their analogs from the other organisms. Therefore, within this project we plan to work with telomerase from the thermotolerant yeast Hansenula polymorpha. The main components of the telomerase are telomerase RNA (TR) and protein subunit – telomerase reverse transcriptase (TERT), also known as Est2 in S. cerevisiae. These two components are sufficient for telomerase activity in vitro, while additional proteins are required for telomere elongation in vivo (Est1, Est3 and Cdc13). We have identified the main components of Hansenula polymorpha telomerase. We have optimized the conditions for isolation of the H. polymorpha TERT and its N-terminal domain and we are on the way to identifying crystallization conditions. We have also identified possible genes for other telomerase proteins (Est1 and Est3) and plan to test their suitability for structural studies.

Investigation of functional properties of Hansenula polymorpha telomerase will allow us to derive the mechanism of controlled telomere length restriction.

ПУРОЛАЗА И МИНИПЛАЗМИНОГЕН — ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ ДЛЯ ФИБРИНОЛИТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

Бибилашвили Р.Ш.
КНПК ФГБУП МЗиСО РФ
Россия, Москва, Черепковская 15а

Тромбозы являются одними из важнейших острых патологий сердечно сосудистой системы. Основой современной системы лечения пациентов является использование одного из двух природных активаторов плазминогена тканевого или урокиназного типа для быстрого растворения образовавшегося тромба. Оба активатора представленных на российском рынке «Тенектеплаза» и «Пуролаза» являются продуктами генноинженерной технологии и значительно отличаются по структуре от природных аналогов. Необходимость введения существенных изменений в структуру молекулы природного активатора в значительной степени обусловлено необходимостью применения препарата в концентрациях несколькими порядками величины превосходящими их физиологические концентрации и способностью этих молекул осуществлять помимо активации плазминогена целый ряд других, иногда нежелательных эффектов, в частности влияющих на гемостаз.

Будут обсуждены вопросы связанные с фармакодинамикой «Пуролазы» на основе опыта ее использования в России для лечения острого инфаркта миокарда и необходимости введения коррекции в виде дополнительного введения плазминогена для компенсации системного падения ее концентрации при фибринолитической терапии. Для этой цели предполагается использовать разрабатываемый в настоящее время Препарат на основе генноинженерного модифицированного человеческого плазминогена.

БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ ПРОИЗВОДСТВА НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ – ОТ СТАЛИ К ПЛАСТИКУ

Новиков Юрий Николаевич
Информационно-Технический центр «Сарториус» — ООО «Сарторос»
107014, Стромынка 13, Москва, Россия.

В современной модели биофармацевтического производства одним из главных технологических новшеств стало использование пластиковых одноразовых элементов практически во всех стадиях технологических процессов. Возможность ускоренного запуска производств, их гибкость по объему и ассортименту продуктов, лучшее соответствие нормам стерильности и удешевление оборудования – все эти факторы уже давно приняты западным (и уже – восточным) биофармацевтическим сообществом.

Вопросы применимости и эффективности одноразовых систем рассматриваются на практических примерах ведущих мировых производителей.

- причины роста интереса к одноразовым системам
- «одноразовая фабрика» как идеальная модель; нерешенные вопросы
- виды и конструкции современных одноразовых биореакторов
- масштабирование

- применение перфузии
- одноразовые сенсоры – ключевые технологические элементы
- вопросы инжиниринга современных биопроцессов
- проблемы и новые вопросы в применении одноразовых систем
- российские особенности и практика применения
- перспективы развития

Ведущим европейским поставщиком — компанией Sartorius-Stedim Biotech производятся практически все требуемые элементы современных биопроцессов — одноразовые биореакторы, емкости, фильтры, хроматографические адсорберы. Единый поставщик технологических решений для всех стадий биопроцессов – уникальное явление в современной биофармацевтике – формирует новую модель отношений между производителями субстанций и поставщиками оборудования и технологий.

BIOPHARMACEUTICAL PRODUCTION OF A NEW GENERATION — FROM STEEL TO PLASTIC

Yury Novikov
Service and Consulting centre "Sartorius" — OOO "Sartoros"
107014, Stromynka 13, Moscow, Russia

Using of disposable plastic systems in almost of all stages of the bioprocesses is the major technological innovation in the modern model of biopharmaceutical manufacturing. Accelerated production, flexibility in scale and product range, better compliance with the standards of sterility and reduce the cost of equipment — all these factors have been accepted by the Western (and already — Eastern) biopharmaceutical community.

Problems of applicability and effectiveness of single-use systems are considered on case studies of leading manufacturers.

- Reasons for the interest in a single-use systems
- «Disposable factory» as an ideal model; still pending issues
- Types and design of modern disposable bioreactors
- Scaleabilty issues
- The use of perfusion
- Disposable sensors — the key technology elements
- Questions of modern bioprocess engineering
- Challenges and emerging issues in the use of disposable systems
- Russian practice
- Prospects of development

Sartorius-Stedim Biotech – the leading European supplier – produces the widest range of the required elements of modern bioprocesses — disposable bioreactors, tanks, filters, chromatographic adsorbers. A whole provider of technology solutions for all stages of bioprocesses — a unique phenomenon in modern biopharmaceuticals — creates a new model of relations between producers of substances and suppliers of equipment and technology

НОВЫЕ МИШЕНИ И НОВЫЕ ПОДХОДЫ ДЛЯ СОЗДАНИЯ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Дмитриев А.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины»
Северо-Западного отделения Российской академии медицинских наук
197376, Санкт-Петербург, ул. академика Павлова, д.12

Взаимодействие патогенных микроорганизмов с организмом хозяина является сложным и многофакторным процессом. Многие микроорганизмы политропны – они способны поражать многочисленные органы и ткани человека и вызывать разнообразные патологические процессы. Во многом это определяется наличием факторов патогенности, способствующих адгезии микроорганизма, колонизации, проникновению в организм хозяина и уклонению от его иммунного ответа, а также регуляцией экспрессии соответствующих генов вирулентности в ответ на быстро изменяющиеся условия окружающей среды.

Регуляция экспрессии факторов патогенностиможет происходить на уровне транскрипции, трансляции или пост-трансляционно. В данной работе на модели патогенных стрептококков изучена регуляция экспрессии факторов патогенности глобальными белками-регуляторами (Rgg, MutR) и двухкомпонентной регуляторной системойBgrRS, осуществляемая на уровне транскрипции.С этой целью сконструированы мутантные штаммы по генам *rgg, mutR, bgrR, bgrS*. Показано участие перечисленных генов в контроле экспрессиикак отдельных генов, так и оперонов, что отражается на фенотипических характеристиках штаммов. Разработаны модели оценки патогенных свойств стрептококков и показано участие белков-регуляторов в формировании вирулентного фенотипа.

Наиболее перспективным для дальнейшего изучения является ген *mutR*. Штамм, мутантный по этому гену, являетсяавирулентным как при внутрибрюшинной модели инфекции, так и при прямом бактерицидном тесте. Таким образом, регуляторы транскрипции (или кодирующие их гены-регуляторы) патогенных микроорганизмов могут расцениваться в качестве потенциальных мишеней для создания антибактериальных препаратов нового поколения.

THE NOVEL APPROACHES AND THE NEW TARGETS FOR DISCOVERING ANTIBACTERIAL AGENTS

Dmitriev A.V.

Federalstatebudgetinstitution "Researchinstituteofexperimentalmedicine" of the North-WestbranchoftheRussianacademyofthemedicalsciences

197376, Saint-Petersburg, acad. Pavlovstr., 12

Interactionofpathogenicbacteriawithhumanhostisa complex process. Various pathogenic bacteria are able to infect numerous tissues and organs of human and cause different pathologies. The presence of virulence factors is important for bacteria: these factors providethe abilities for bacterial cells to adhere, to colonize, to penetrate into the human host and to escape action of the host immune system. In addition, itis extremely important that bacteria are able to sense changing environments and regulate expression of the virulence genes.

Regulation of the virulence genes expression can occur at transcriptional, translational or post-translational levels. In the present work transcriptional regulation of the virulence factors mediated by the global regulators, Rgg and MutR, and two-component regulatory system BgrRS were studied in *Streptococcus pyogenes* and *Streptococcus agalactiae*. Inordertoanalyzetheroleof*rgg, mutR, bgrR, bgrS*genesthecorresponding isogenicmutant strains were constructed. Thesegeneswerefoundtoregulatenotonlythe individual genes, but also operons that were reflected on the phenotypic characteristics of the strains. The experimental models for analysis of the virulent phenotypes of streptococci were designed, and the role of transcriptional regulatory genes in this process was revealed.

The gene *mutR* was found to be the most interesting for further analysis: the *mutR* mutant strain was avirulent when studied in both intraperitoneal model of infection and survival assay in the whole human blood. Thus, the transcriptional regulatory genes and/or encoded regulatory proteins of pathogenic bacteria can be considered as potential targets for discovering novel antibacterial agents.

ОГЛАВЛЕНИЕ
CONTENTS

ПЛЕНАРНОЕ ЗАСЕДАНИЕ «ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ДЛЯ БИОФАРМАЦЕВТИКИ»

PLENARY SESSION "FUNDAMENTAL RESEARCHES FOR BIOPHARMACEUTICALS"

СФЕРОИДИЗОВАННЫЕ МАТЕРИАЛЫ НА ОСНОВЕ СТЕКЛА ДЛЯ ЯДЕРНОЙ МЕДИЦИНЫ
Саркисов П.Д., Сигаев В.Н., А. Палеари, О.Б. Егоров, И.В. Синюков 12

SPHEROIDIZED GLASS-BASED MATERIALS FOR NUCLEAR MEDICINE
Sarkisov P.D., Sigaev V.N., A. Paleari,O.B. Egorov, I.V. Sinyukov 12

INNOVATIVE VACCINE DEVELOPMENT: ACADEMIC ALLIANCES WITH SANOFI PASTEUR
Roman M. Chicz 13

СЕКЦИЯ 1 «БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ» SECTION 1 "BIOPHARMACEUTICALS PREPARATIONS"

СПОНСОР СЕКЦИИ

SPONSOR SECTION

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ ORAL REPORTS

СТРУКТУРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ БЫЧЬЕГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА И ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНОГО ДЕКСТРАНА В ВОДЕ
Антонов Ю.А., Журавлева И.Л. 15

STRUCTURAL INVESTIGATION OF THE INTERACTION BETWEEN BOVINE SERUM ALBUMIN AND HIGH MOLECULAR WEIGHT DEXTRAN IN WATER
Antonov Y.A., Zhuravleva I.L. 16

НОВАЯ ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ ВАКЦИНА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА В
Аракелов С.А. 16

THE CHALLENGE TO PRODUCE BIOLOGICALS OF HIGH QUALITY: CULTIVATION OF ANIMAL CELLS IN SERUM-FREE MINIMAL MEDIA
Ferruccio Messi 17

ИССЛЕДОВАНИЕ ОСТАТОЧНОГО СОДЕРЖАНИЯ АНТИБИОТИКОВ В ВАКЦИНАХ С ПОМОЩЬЮ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА
Гальвидис И.А., Буркин М.А.. 18

DETERMINATION OF ANTIBIOTIC RESIDUES IN VACCINES USING ENZYME IMMUNOASSAY
Galvidis I.A., Burkin M.A. 18

РАЦИОНАЛЬНАЯ ОПТИМИЗАЦИЯ АПТАМЕРОВ ДЛЯ ЛЕКАРСТВЕНОГО ПРИМЕНЕНИЯ. ПРОБЛЕМЫ И РЕШЕНИЯ
Головин А.В., Копылов А.М., Решетников Р.В., Мудрик Н.Н. 19

RATIONAL IMPROVEMENT APTAMERS TO GAIN THERAPEUTICS VALUE. PROBLEMS AND SOLUTIONS
Golovin A., Kopylov A., Reshetnikov R., Mudrik N. 20

АНТИКОАГУЛЯЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ТРОМБИН-СВЯЗЫВАЮЩИХ АПТАМЕРНЫХ ДНК
Копылов А.М., Головин А.В., Решетников Р.В., Турчанинов Т.Р., Юминова А.В., Завьялова Е.Г., Мудрик Н.Н., Пантелеев Д.Ю., Павлова Г.В. 20

ANTICOAGULANT ACTIVITY OF THROMBIN-BINDING DNA APTAMERS
Kopylov A.M., Golovin A.V., Reshetnikov R.V., Turchaninov T.R., Yuminova A.V., Zavyalova E.G., Mudrik N.N., Panteleyev D.Yu., Pavlova G.V. 21

РЕКОМБИНАНТНАЯ ВАКЦИНА ПРОТИВ ГЕПАТИТА В: РЕШЕННЫЕ И НЕРЕШЕННЫЕ ВОПРОСЫ
Кюрегян К.К., Михайлов М.И., Николаев Т.М., Калинин С.П.. 22

ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ПРЕПАРАТ НА ОСНОВЕ ПЕПТИДА МОЛОКА ЧЕЛОВЕКА – ЛАКТАПТИНА
Рихтер В.А., Коваль О.А., Каледин В.И., Фомин А.С., Потапенко М.О., Кулигина Е.В., Семенов Д.В. 23

ANTITUMOR DRUG ON THE BASIS OF THE HUMAN MILK PEPTIDE — LACTAPTIN
Richter V.A., Koval' O.A., Kaledin V.I., Fomin A.S., Potapenko M.O., Kuligina E.V., Semenov D.V. 23

NOVEL AND EXPERIMENTAL VACCINES AGAINST FLAVIVIRUSES DEVELOPED BY SANOFI PASTEUR
Alexander Rumyantsev 24

ТЕХНОЛОГИИ ФРАКЦИОНИРОВАНИЯ ОСАДКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ВИРУСБЕЗОПАСНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ
Староверов С.М., Красильников И.В. 25

FRACTIONATION TECHNOLOGY FOR PRODUCTION OF VIRUS SAFE COMPONENTS FROM BLOOD PLASMA PRECIPITATES
Staroverov S.M., Krasilnikov I.V. 26

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ И МЕДИЦИНСКИЕ БИОТЕХНОЛОГИИ ОТ ТП «МЕДИЦИНА БУДУЩЕГО»
Огородова Л.М., Жданов В.В. 26

PHARMACEUTICAL AND MEDICAL BIOTECHNOLOGIES FROM TP "MEDICINE OF FUTURE"
Ogorodova L.M., Zhdanov V.V. 27

МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА К ТИРЕОИДНОЙ ПЕРОКСИДАЗЕ В ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ
Зубков А.В., Кузьмина Н.С. 28

THE MONOCLONAL ANTIBODIES TO THE THYROID PEROXIDASE (TPO) IN THE AUTOIMMUNE DISEASES DIFFERENTIAL DIAGNOSIS
Zubkov A.V., Kuzmina N.S. 28

ВАЛИДАЦИЯ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ СТАДИЙ ПО ЭЛИМИНАЦИИ И ИНАКТИВАЦИИ ВИРУСОВ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ ВНУТРИВЕННОГО ИММУНОГЛОБУЛИНА G ЧЕЛОВЕКА
Зубкова Н.В., Красильников И.В., Лобастова А.К., Казьянин А.В., Лаптева Л.К., Кюрегян К.К., Глотова Т.И.. 29

VALIDATION OF TECHNOLOGICAL STAGES ON ELIMINATION AND INACTIVATION OF VIRUSES IN THE MANUFACTURE OF INTRAVENOUS HUMAN IMMUNOGLOBULIN G
Zubkova N.V., Krasilnikov I.V., Lobastova A.K., Kazyanin A.V., Lapteva L.K., Kyuregyan K.K., Glotova T.I. 30

ПОСТЕРЫ
POSTERS

ДЕЙСТВИЕ НЕКОТОРЫХ ГИДРОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ НА СПОРЫ И БИОМАССУ ГРИБА PYTHIUM
Белов А.А., Марквичев Н.С., Буланов А.Г., Титова Д.Г., Васильева А.В. 32

ACTION OF SOME HYDROLYTIC ENZYMES ON THE DISPUTES AND THE BIOMASS OF THE FUNGUS OF PYTHIUM
A.A.Belov, N.S.Markvicev, A.G.Bulanov, D.G. Titova, A.V.Vasileva 33

ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА РЕКОМБИНАНТНЫХ ИЗОФОРМ ЛИПИД-ТРАНСПОРТИРУЮЩЕГО БЕЛКА ЧЕЧЕВИЦЫ
Богданов И.В., Финкина Е.И., Баландин С.В., Стукачева Е.А., Овчинникова Т.В. 34

PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF RECOMBINANT LENTIL LIPID TRANSFER PROTEIN ISOFORMS
Bogdanov I.V., Finkina E.I., Balandin S.V., Stukacheva E.A., Ovchinnikova T.V. 34

ВЛИЯНИЕ α-ЛИПОЕВОЙ КИСЛОТЫ НА МОЗГ КРЫС ПОСЛЕ ТЯЖЕЛОЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ
Дроздов К.А., Полякова Н.В., Клименко В.Е., Полещук А.В. 35

INFLUENCE OF *α*-LIPOIC ACID IN RATS AFTER HEAVY CRANIOCEREBERAL TRAUMA
Drozdov K.A., Polyakova N.V., Klimenko V. Ye., Aleksey V. Poleshchuk 36

ТЕРМОДИНАМИЧЕСКАЯ СТАБИЛЬНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ГЛОБУЛЯРНЫХ БЕЛКОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УСЛОВИЙ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С ХИТОЗАНОМ В РАСТВОРЕ
Феоктистова Н.А., Плащина И.Г. 37

THERMODYNAMIC STABILITY OF SOME GLOBULAR PROTEINS IN AQUEOUS SOLUTIONS IN DEPENDING ON INTERACTION CONDITIONS WITH CHITOSAN
Feoktistova N.A., Plashchina I.G. 37

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПРЕПАРАТИВНОГО ПОЛУЧЕНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПЕПТИДА ЛАКТАПТИНА
Фомин А.С., Коваль О.А., Кулигина Е.В., Семенов Д.В., Потапенко М.О., Трошкова Г.П., Рихтер В.А. 38

DEVELOPMENT OF PREPARATIVE-SCALE TECHNOLOGY OF ANTITUMOR PEPTIDE LACTAPTIN
Fomin A.S., Koval O.A., Kuligina E.V., Semenov D.V., Potapenko M.O., Troshkova G.P., Richter V.A. 39

СКРИНИНГ ИНГИБИТОРОВ ТЕЛОМЕРАЗНОЙ АКТИВНОСТИ
Готовцева В.Ю., Бибикова М.В., Жданов Д.Д., Коваленко Н.А.. 39

SCREENING FOR INHIBITORS OF TELOMERASE ACTIVITY
Gotovtseva V.Y., Bibikova M.V., Zhdanov D.D., Kovalenko N.A. 40

СРЕДСТВА ДОСТАВКИ В ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА БЕТУЛИНА – ПРИРОДНОГО ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО СОЕДИНЕНИЯ, ПОЛУЧЕННОГО CO_2 - ЭКСТРАКЦИЕЙ ИЗ КОРЫ БЕРЕЗЫ
Каштанов Е.А., Урьяш В.Ф., Кокурина Н.Ю., Кочеткова М.С.. 40

MEANS OF DELIVERY OF BETULIN – NATURAL ANTITUMORAL COMPOUND OBTAINED BY CO_2-EXTRACTION FROM BITCH BARK TO THE HUMAN ORGANISM
Kashtanov E.A., Uryash V.F., Kokurina N.Yu. and Kochetkova M.S. 41

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ШТАММОВ BACILLUS MEGATERIUM
Маланичева И.А., Козлов Д.Г., Зенкова В.А., Катруха Г.С., Резникова М.И., Тарасова О.Д., Синеокий С.П., Ефременкова О.В. 42

ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF BACILLUS MEGATERIUM
Malanicheva I.A., Koslov D.G., Zenkova V.A., Katrukha G.S., Resnikova M.I., Tarasova O.D., Sineokiy S.P., Efremenkova O.V. 42

НОВЫЕ АНТИБИОТИКИ, ОБРАЗУЕМЫЕ ШТАММАМИ BACILLUS SUBTILIS
Козлов Д.Г., Маланичева И.А., Зенкова В.А., Катруха Г.С., Резникова М.И., Борщевская Л.Н., Тарасова О.Д., Синеокий С.П., Ефременкова О.В. 43

NEW ANTIBIOTICS PRODUCED BY STRAINS OF BACILLUS SUBTILIS
Koslov D.G., Malanicheva I.A., Zenkova V.A., Katrukha G.S., Resnikova M.I., Borshchevskaya L.N., Tarasova O.D., Sineokiy S.P., Efremenkova O.V. 44

РАЗРАБОТКА И ХАРАКТЕРИЗАЦИЯ НАНОКАПСУЛИРОВАННОЙ ФОРМЫ РЕКОМБИНАНТНОГО ЭРИТРОПОЭТИНА ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ ПЕРОРАЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ
Колесова М.Е., Хрипко О.П., Вараксин Н.А., Рябичева Т.Г., Нечаева Е.А. 44

DEVELOPMENT AND CHARACTERIZATION OF NANOENCAPSULATED RECOMBINANT HUMAN ERYTHROPOIETIN FOR ORAL USE
Kolesova M.E., Khripko O.P., Varaksin N.A., Rjabicheva T.G., Nechaeva E.A. 45

РАЗРАБОТКА ЛИПОСОМАЛЬНЫХ И ЭМУЛЬСИОННЫХ СИСТЕМ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ НА ОСНОВЕ КАТИОННЫХ ДИМЕРНЫХ АМФИФИЛОВ
Колоскова О.О., Кононова К.И., Буданова У.А., Себякин Ю.Л. 46

DEVELOPMENT OF LIPOSOMAL AND EMULSION DRUG DELIVERY SYSTEMS BASED ON CATIONICDIMERIC AMPHIPHILES
Koloskova O.O., Kononova K.I., Budanova U.A., Sebyakin Yu.L. 46

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ИНТЕРФЕРОНА-ГАММА
Курбанова Е., Гусарова В., Соколова И., Воробьева Т., Резяпкин А., Духовлинов И., Гусаров Д., Баирамашвили Д.. 47

DEVELOPMENT OF THE TECHNOLOGY FOR THE PRODUCTION OF RECOMBINANT HUMAN INTERFERON-GAMMA
E.Kurbanova, V.Gusarova, I.Sokolova, T.Vorobjeva, A.Rezyapkin, I.Dukhovlinov, D.Gusarov, D.I.Bairamashvili.. 48

ВОЗМОЖНОСТИ РЕГУЛИРОВАНИЯ ПРОДУКЦИИ ОКСИДА АЗОТА В МАКРОФАГАХ
Куроптева З.В., Байдер Л.М., Белая О.Л., Наглер Л.Г., Богатыренко Т.Н. 48

POSSIBILITIES FOR REGULATION OF NITRIC OXIDE IN MACROPHAGES
Kuropteva Z.V., Baider L.M., Belaia O.L., Nagler L.G., Bogatyrenko T.N. 49

АМИНОГЛИКОЗИДНЫЕ АНТИБИОТИКИ, ОБРАЗУЕМЫЕ МУТАНТНЫМИ ШТАММАМИ STREPTOALLOTEICHUS CREMEUS SUBSP. TOBRAMYCINI
Лапчинская О.А., Гладких Е.Г., Погожева В.В., Орлова Г.И., Лаврова М.Ф., Пономаренко В.И., Федорова Г.Б., Катруха Г.С. 50

ANTIBACTERIAL AMINOGLYCOSIDES ANTIBIOTICS PRODUCED BY MUTANT STRAINS STREPTOALLOTEICHUS CREMEUS SUBSP. TOBRAMYCINI
Lapchinskaya O.A., Pogozheva V.V., Orlova G.B., Lavrova M.F., Ponomarenko V.I., Fedorova G.B., Katrukha G.S. 51

ПОВЫШЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ЛИЗОЦИМА ПОД ДЕЙСТВИЕМ МЕТИЛРЕЗОРЦИНА
Мартиросова Е.И., Плащина И.Г. 51

IMPROVE THE FUNCTIONAL PROPERTIES OF HEN EGG WHITE LYSOZYME BY THE ACTION OF METHYLRESORCINOL
Martirosova E.I., Plashchina I.G. 52

НОВЫЙ ЛИПИД-ТРАНСПОРТИРУЮЩИЙ БЕЛОК ИЗ УКРОПА ANETHUM GRAVEOLENS
Мельникова Д.Н., Финкина Е.И., Баландин С.В., Овчинникова Т.В. 53

A NOVEL LIPID TRANSFER PROTEIN FROM THE DILL ANETHUM GRAVEOLENS
Melnikova D.N., Finkina E.I., Balandin S.V., Ovchinnikova T.V. 54

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫХ МЕТОДОВ АНАЛИЗА ДЛЯ ПОСТАДИЙНОГО КОНТРОЛЯ ПРОЦЕССА ПОЛУЧЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ФОЛЛИКУЛОСТИМУЛИРУЮЩЕГО ГОРМОНА ЧЕЛОВЕКА
Парамонова Д.К., Воробьева Т.В., Гурьева Л.Ю., Гусаров Д.А., Баирамашвили Д.И. 54

MANUFACTURE OF THE RECOMBINANT FOLLICLE-STIMULATING HORMONE: APPLICATION OF THE INSTRUMENTAL METHODS OF ANALYSIS FOR ITS IN-PROCESS CONTROL
Paramonova D.K, Vorobjeva T.V., Gurjeva LYu, Gusarov D.A., Bairamashvili D.I. 55

ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫХ МИКРОЧАСТИЦ С ИНГИБИТОРАМИ ПРОТЕАЗ ПРИ ПЕРОРАЛЬНОЙ ДОСТАВКЕ БЕЛКОВ
Печенкин М.А., Балабушевич Н.Г., Зоров И.Н., Изумрудов В.А., Клячко Н.Л., Кабанов А.В., Ларионова Н.И. 55

THE PROTECTIVE EFFECT OF POLYELECTROLYTE MICROPARTICLES CONTAINING PROTEASE INHIBITORS IN ORAL PROTEIN DELIVERY
Pechenkin M.A., Balabushevich N.G., Zorov I.N., Izumrudov V.A., Klyachko N.L., Kabanov A.V., Larionova N.I. 56

РАЗРАБОТКА НОВОГО ВИРУСНОГО ВЕКТОРА ДЛЯ СУПЕРЭКСПРЕССИИ ЦЕЛЕВЫХ БЕЛКОВ В РАСТЕНИИ И ПОЛУЧЕНИЯ ВИРУСОПОДОБНЫХ ЧАСТИЦ
Путляев Е.В., Смирнов А.А. 57

A NEW VIRAL VECTOR DEVELOPMENT FOR TARGET PROTEINS SUPEREXPRESSION AND VIRUS-LIKE PARTICLES PRODUCTION IN PLANTS
Putlyaev E V, Smirnov A A 57

МЕТОД ПРЕДСКАЗАНИЯ *DE NOVO* СТРУКТУРЫ АПТАМЕРОВ, СВЯЗЫВАЮЩИХСЯ С БЕЛКАМИ
Щербинин Д.С., Гнеденко О.В., Воронина С.А., Радько С.П., Иванов А.С., Веселовский А.В. 58

A NEW APPROACH FOR *DE NOVO* PREDICTION OF APTAMERS INTERACTING WITH PROTEINS
Shcherbinin D.S., Gnedenko O.V., Voronina S.A., Radko S.P., Ivanov A.S., Veselovsky A.V. 59

ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СОЕВОГО МОЛОКА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИФИДОСОДЕРЖАЩИХ ФЕРМЕНТИРОВАННЫХ ПРОДУКТОВ
Сидоренко А.В., Новик Г.И., Зелинская Д., Коложин-Краевская Д. 59

EVALUATION OF SUITABILITY OF SOY MILK AS A RAW MATERIAL FOR THE PRODUCTION OF BIFIDOBACTERIA CONTAINING FERMENTED PRODUCTS
Sidarenko A.V., Novik G.I., Zielinska D., Kolozyn-Krajewska D. 60

СНИЖЕНИЕ ПОБОЧНЫХ ЭФФЕКТОВ ТРОМБОЛИТИЧЕСКОГО АГЕНТА ПУТЕМ РЕГУЛИРОВАНИЯ СКОРОСТИ ЕГО ВЫСВОБОЖДЕНИЯ ИЗ МИКРОКАПСУЛ
Тюпа Д.В., Медведева А.С., Мухаметова Л.И., Айсина Р.Б. 61

DECREASE IN SIDE EFFECTS OF THROMBOLYTIC AGENT BY REGULATION OF IT RELEASE RATE FROM MICROCAPSULES
Tiupa D.V., Medvedeva A.S., Mukhametova L.I., Aisina R.B. 61

БАКТЕРИОЦИНЫ, ОБРАЗУЕМЫЕ *LACTOCOCCUS LACTIS* SUBSP. *LACTIS* 194-K С ШИРОКИМ СПЕКТРОМ АНТИМИКРОБНОГО ДЕЙСТВИЯ
Устюгова Е.А., Тимофеева А.В., Стоянова Л.Г., Федорова Г.Б., Катруха Г.С. 62

BACTERIOCINS FORMED BY *LACTOCOCCUS LACTIS* SUBSP. *LACTIS* 194-K WITH A BROAD SPECTRUM OF ANTIMICROBIAL ACTION
Ustyugova E.A., Timofeeva A.V., Stoyanova L.G., Fedorova G.B., Khatruha G.S. 63

КОВАЛЕНТНАЯ МОДИФИКАЦИЯ ОКСИНТОМОДУЛИНА ЧЕЛОВЕКА ПОЛИСИАЛОВОЙ КИСЛОТОЙ ПРИВОДИТ К УВЕЛИЧЕНИЮ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ АНОРЕКСИГЕННОГО ЭФФЕКТА
Воробьев И.И., Мацкевич В.А., Ковнир С.В., Орлова Н.А., Кнорре В.Д., Джейн С., Генкин Д.Д., Габибов А.Г., Мирошников А.И. 64

N-TERMINAL CONJUGATE OF HUMAN OXYNTHOMODULIN AND POLYSIALIC ACID HAS A PROLONGED ANOREXIC EFFECT IN MICE MODEL
Ivan Vorobiev, Viktor Matskevich, Sergey Kovnir, Nadezhda Orlova, Vera Knorre, Sanjay Jain, Dmitry Genkin, Alexandre Gabibov, Anatoly Miroshnikov 65

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ТАНКИРАЗЫ В КЛЕТКАХ ПЕЧЕНИ В НОРМЕ И ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПОВРЕЖДЕНИИ ТКАНИ
Жожикашвили А.С., Никифорова А.И., Манских В.Н., Дюжева Т.Г., Куимов А.Н. 66

TANKYRASE ACTIVITY ASSAY IN LIVER CELLS IN NORMAL CONDITIONS AND AFTER INDUCED TISSUE INJURY
Zhozhikashvili A.S., Nikiforova A.I., Manskikh V.N., Dyuzheva T.G., Kuimov A.N. 66

ВЛИЯНИЕ ОГРАНИЧЕННОЙ ТЕРМОАГРЕГАЦИИ БЫЧЬЕГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА НА ЕГО КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ С ЖЕЛАТИНОЙ
Журавлева И.Л., Антонов Ю.А. 67

THE EFFECT OF THE LIMITED THERMOAGREGATION OF BSA ON ITS COMPLEX FORMATION WITH GELATIN
I.L.Zhuravleva and Y.A. Antonov 67

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРЕПАРАТОВ ФЕНОЗАН И ИХФАН-10 НА МЕМБРАНЫ ЭРИТРОЦИТОВ МЕТОДОМ АСМ *IN VIVO*
Албантова А.А., Миль Е.М., Алексеева О.М., Бинюков В.И. 68

STUDY OF INFLUENCE OF MEDICINES SUCH AS FENOZAN AND ICHFAN-10 AT ERYTHROCYTE MEMDRANE BY AFM METHOD *IN VIVO*
Albantova A.A., Mil E.M., Alekseeva O.M., Binjukov V.I. 68

БИОПОТЕНЦИАЛ ПЕПТИДОВ МАЛОЙ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МАССЫ ПРОБИОТИЧЕСКИХ МИКРООРГАНИЗМОВ ДЛЯ СОЗДАНИЯ БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ
Головин М.А., Ганина В.И. 69

BIOPOTENTIAL OF LOW MASS PEPTIDES OF PROBIOTIC MICROORGANISMS FOR BIOPHARMACEUTICALS PREPARATIONS CREATION
Golovin M.A., Ganina V.I. 70

ОЗОНИРОВАННАЯ КРОВЬ КАК ЭФФЕКТИВНЫЙ НОВЫЙ БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ПРЕПАРАТ
Гриневич Т.В., Зайцев В.Я., Коровина Г.В., Разумовский С.Д. 70

OZONATED BLOOD AS AN EFFECTIVE NEW BIOPHARMACEVTIC REMEDY
Grinevich T.V., Zaitsev V. Ya., Korovina G.V., Razumovskii S.D. 71

ХАРАКТЕРИСТИКИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МЕЖГЕННЫХ, ИНТРОННЫХ И ЭКЗОННЫХ MIRNA С MRNA ГЕНОВ УЧАСТВУЮЩИХ В ОНКОГЕНЕЗЕ
Исабекова А.С., Берилло О.А., Хайленко В.А., Иващенко А.Т. 71

DESCRIPTIONS OF INTERACTIONS OF INTERGENIC, INTRONIC AND EXONIC MIRNAS WITH MRNAS GENES INVOLVING IN CARCINOGENESIS
Issabekova A.S., Berillo O.A., Khailenko V.A., Ivachshenko A.T. 72

ХАРАКТЕРИСТИКИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ НЕКОТОРЫХ СЕМЕЙСТВ MIRNA С MRNA ГЕНОВ ARABIDOPSIS THALIANA
Бари А.А., Хайленко В.А., Оразова С.Б., Иващенко А.Т. 73

THE CHARACTERISTICS OF INTERACTION SOME MIRNA FAMILIES WITH MRNAS OF *ARABIDOPSIS THALIANA* GENES
Bari A.A., Khailenko V.A., Orazova S.B., Ivachshenko A.T. 73

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ГРИБОВ РОДА *TRICHODERMA* В ОТНОШЕНИИ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ
Катруха Г.С., Федорова Г.Б., Садыкова В.С. 74

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF *TRICHODERMA* SPECIES TOWARDS GRAM-POSITIVE BACTERIA
Katrukha G.S., Fedorova G.B., Sadykova V.S. 75

МОДИФИКАЦИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ДЕЙСТВИЯ ЦИТОСТАТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ СОПОЛИМЕРАМИ N-ВИНИЛПИРРОЛИДОНА И 2-МЕТИЛ-5-ВИНИЛПИРИДИНА
Кедик С.А., Панов А.В., Кочкина Ю.В., Еремин Д.В. 75

PARAVARIATION OF CYTOSTATIC DRUGS ANTINEOPLASTIC ACTION BY THE COPOLYMERS OF N-VINYLPYRROLIDONE AND 2-METHYL-5-VINYLPYRIDINE
S.A. Kedik C, A.V. Panov, J.V. Kochkina, D.V. Eremin 76

ВЛИЯНИЕ БЫЧЬЕГО ЛАКТОФЕРРИНА НА РОСТ КЛЕТОК КОЖИ ЧЕЛОВЕКА
Комолова Г.С., Ионова И.И, Воротеляк Е.А., Титова М.Е. 77

EFFECT OF BONINE LACTOFERRIN ON THE GROWTH OF HUMAN SKIN CELLS
G.S. Komolova, I.I. Ionova, E.A. Vorotelyak, M.E. Titova 77

ВЫБОР ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИИ МОЧЕПОЛОВОЙ СФЕРЫ
Козлова З.Г. 78

SELECTION OF MEDICINAL PREPARATIONS FOR TREATING URINO-GENITAL ILLNESSES
Kozlova Z.G. 79

ОБОСНОВАНИЕ СОСТАВА ЭНТЕРАЛЬНОЙ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЙ СМЕСИНА ОСНОВЕ «КОЛОСТРУМА»
Краснова И.С., Коробейникова Т.В. 79

EXPLANATION OF ENTERAL IMMUNONUTRITION ON THE BASIS OF "COLOSTRUM"
Krasnova I.S., Korobeinikova T.V. 80

ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДОВ КОНТРОЛЯ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ХОЛЕРЫ И БЕШЕНСТВА
Лобовикова О.А., Шульгина И.В., Никифоров А.К., Павлова В.И., Бронникова В.С. 81

CONTROL METHODS VALIDATION OF IMMUNOBIOLOGICAL MEDICINES FOR CHOLERA AND RABIES PREVENTION
Lobovikova O.A., Shulgina I.V., Nikiforov A.K., Pavlova V.I., Bronnikova V.S. 81

РАЗРАБОТКА ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ ТЕСТОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ДЕВЯТНАДЦАТИ КЛАССОВ ПСИХОАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В МОЧЕ ЧЕЛОВЕКА
Морозова В.С., Мягкова М.А., Морозов С.В., Пушкина В.В.. 82

DEVELOPMENT OF IMMUNOCHROMATOGRAPHIC TESTS FOR THE DETECTION OF NINETEEN GROUPS OF PSYCHOACTIVE SUBSTANCES IN HUMAN URINE
Morozova V.S., Myagkova M.A., Morozov S.V., Pushkina V.V. 83

НОВАЯ ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ СУБСТАНЦИИ *FUSARIUM SAMBUCINUM*
Неманова Е.О., Русинова Т.В., Горшина Е.С., Бирюков В.В. 83

A NEW PRODUCTION TECHNOLOGY OF PHARMACEUTICAL SUBSTANCE OF THE STRAIN *FUSARIUM SAMBUCINUM*
E.O. Nemanova, T.V.Rusinova, E.S. Gorshina, V.V. Biryukov 84

ПРИРОДНЫЕ ПЕПТИДНЫЕ АНТИБИОТИКИ И ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА ИХ ОСНОВЕ
Овчинникова Т.В. 85

NATURAL PEPTIDE ANTIBIOTICS AND THEIR THERAPEUTIC POTENTIAL AS ANTI-INFECTIVE DRUGS
T.V. Ovchinnikova 86

ИЗУЧЕНИЕ КИНЕТИКИ ВЫСВОБОЖДЕНИЯ НАЛТРЕКСОНА ИЗ МИКРОСФЕР НА ОСНОВЕ СОПОЛИМЕРА МОЛОЧНОЙ И ГЛИКОЛЕВОЙ КИСЛОТ
Петрова Е.А., Кедик С.А., Тихонова Н.В., Сапельников М.Д., Блынская Е.В., Панов А.В. 86

THE INVESTIGATION OF THE NALTREXONE RELEASE KINETICS FROM THE MICROSPHERES BASED ON POLY-(D,L-LACTIDE-CO-GLYCOLIDE)
Petrova E.A., Kedik S.A., Tikhonova N.V., Sapelnicov M.D., Blinskaya E.V., Panov A.V. 87

ГИПЕРЭКСПРЕССИЯ РЕЦЕПТОРА ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА – КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОГО И ПРОГНОСТИЧЕСКОГО МАРКЕРА ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ
Пивень Н.В., Лухверчик Л.Н., Бураковский А.И., Братаус Е.В., Полегенькая Н.В. 88

OVEREXPRESSION OF THE EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR – CLINICAL, DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC MARKER OF CANCER
Piven N.V., Lukhverchyk L.N., Burakovski A.I., Brataus E.V., Paliahenkaya N.V. 88

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ ДЛЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ РАЗЛИЧНЫХ ШТАММОВ БРУЦЕЛЛ
Плотникова Э.М., Панкова Е.В. 89

USE OF MONOCLONAL ANTIBODIES FOR BRUCELLA STRAINS DIFFERENTIATION
Plotnikova E.M., Pankova E.V. 90

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ СЫВОРОТОЧНЫХ ИНГИБИТОРОВ КРОВИ С ИММОБИЛИЗОВАННОЙ ФОРМОЙ КОМПЛЕКСНОГО ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА
Смагина В.В., Авраменко Г.В. 90

INTERACTION INHIBITORS OF BLOOD WHEY WITH THE IMMOBILIZATION FORM OF A COMPLEX PROTEOLYTIC PREPARATION
Smagina V.V, Avramenko G.V. 91

МЕТОД АНАЛИЗА ПРЕПАРАТОВ КАННАБИСА, ОСНОВАННЫЙ НА РЕАКЦИИ ЛАТЕКСНОЙ АГГЛЮТИНАЦИИ
Солодухина Н.М., Мягкова М.А., Грицкова И.А. 92

METHOD OF THE ANALYSIS OF PREPARATIONS OF THE CANNABIS, BASED ON REACTION OF LATEX AGGLUTINATION
Solodukhina N.M., Myagkova M.A., Gritskova I.A. 93

ПОЛУЧЕНИЕ ТРОМБОЛИТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ИЗ ГРИБА РОДА COPRINUS
Тозик Е.В., Шамцян М.М., Чефу С.Г., Петрищев Н.Н. 93

PRODUCING THE THROMBOLYTIC AGENT FROM A MUSHROOM GENUS COPRINUS
E.V. Tozik, M.M. Shamtsyan, S.G. Chefu, N.N. Petrishev 94

ВЛИЯНИЕ Z-ЛИГУСТИЛИДА ИЗ *ANGELICA SINENSIS* НА ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС У АСТРОЦИТОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ В-АМИЛОИДА
Цой А.К.Шалахметова Т.М., Умбаев Б.А. 95

POTENTIAL APPLICATION OF LIPASE – MEDIATED ACYLATION OF 7,8-DIHYDROXY 4-METHYL COUMARIN IN THE SYNTHESIS OF ITS NOVEL MONO-ESTERS
Vinod Kumar, Firdaus Jahan, Shailendra Raghuwanshi and R.K.Saxena. 96

ОСОБЕННОСТИ ПОВРЕЖДЕНИЯ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ ФИБРОБЛАСТОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ АЛКИЛИРУЮЩЕГО АГЕНТА
Вайсфельд Л.И. 96

FEATURES OF DAMAGE OF CULTIVATED FIBROBLASTS UNDER INFLUENCE OF THE ALKILATING AGENT
Weisfel'd L.I. 97

СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ СОПОЛИМЕРА N-ВИНИЛПИРРОЛИДОНА И 2-МЕТИЛ-5-ВИНИЛПИРИДИНА С РАЗЛИЧНЫМ МОНОМЕРНЫМ СОСТАВОМ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОПТИМАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ПРИ СОЗДАНИИ ГОТОВОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ
Ерёмин Д.В., Кедик С.А., Панов А.В., Малиновская Г.О.. 98

SYNTHESIS AND RESEARCH OF COPOLYMER N-VINYLPIRROLIDONE AND 2-METHYL-5-VINYLPYRIDINE WITH VARIOUS MONOMERIC COMPOSITION FOR DEFINITION OF OPTIMUM CHARACTERISTICS AND FORMULATION OF THE NEW DOSAGE FORM
Eremin D.V., Kedik S.A., Panov A.V., Malinovskaya G.O. 98

СЕКЦИЯ 2. «БИОТЕХНОЛОГИЯ ГЕННО-ИНЖЕНЕРНЫХ ПРОДУЦЕНТОВ
SECTION 2 "BIOTECHNOLOGY GENETIC ENGINEERING PRODUCERS"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

СОЗДАНИЕ ВЫСОКОТЕХНОЛОГИЧНОГО ПРОИЗВОДСТВА ИНТЕРФЕРОНА БЕТА-1А И ЭПОЭТИНА БЕТА ЧЕЛОВЕКА НА ОСНОВЕ ГЕННО-МОДИФИЦИРОВАННЫХ ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ ПРОДУЦЕНТОВ
Хамитов Р.А., Серегин Ю.А., Сауткина Е.Н. 100

DEVELOPMENT OF HIGH-TECH PRODUCTION OF HUMAN INTERFERON BETA-1A AND EPOETIN BETA USING GENETICALLY MODIFIED EUKARYOTIC CELL LINES
Khamitov R.A., Seregin Y.A., Sautkina E.N. 100

ПЕКАРСКИЕ ДРОЖЖИ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* — ПРОДУЦЕНТЫ БЕЗМЕТИОНИНОВЫХ ФОРМ ИНТЕРФЕРОНА АЛЬФА-2В И СОМАТРОПИНА ЧЕЛОВЕКА: НОВЫЕ РЕАЛИИ ДЛЯ СТАРЫХ БЕЛКОВ
Козлов Д.Г., Чеперегин С.Э., Губайдуллин И.И., Казаченко К.Ю., Ефремов Б.Д., Честухина Г.Г., Залунин И.А., Котлова Е.К., Рябиченко В.В., Булушова Н.В., Яковенко А.Р., Казаров А.А., Глазунов А.В., Черноморова Н.О., Ездаков И.Н. 101

BAKER'S YEAST *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* AS A PRODUCER OF METHIONINELESS FORMS OF HUMAN INTERFERON ALPHA 2B AND SOMATROPIN: NEW REALITIES FOR OLD PROTEINS
Kozlov D.G., Cheperegin S.E., Gubaydullin I.I., Kazachenko K.Y., Efremov B.D., Chestukhina G.G., Zalunin I.A., Kotlova E.K., Ryabichenko V.V., Bulushova N.V., Yakovenko A.R., Kazarov A.A., Glazunov A.V., Chernomorova N.O., Ezdakov I.N. 102

ГУМАНИЗАЦИЯ МЫШИНОГО АНТИТЕЛА НА ПРИМЕРЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА OM-RCA-01, РАЗРАБАТЫВАЕМОГО КОМПАНИЕЙ ОНКОМАКС
Тимофеев И.В., Завелева Э.В., Low W. 102

HUMANIZATION OF MONOCLONAL ANTIBODY OM-RCA-01 (ONCOMAX LTD.)
Tsimafeyeu I., Zaveleva E., Low W. 103

ГЕННОТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ: ОТ РАЗРАБОТКИ ДО ВЫХОДА НА РЫНОК (НА ПРИМЕРЕ ПЕРВОГО ОТЕЧЕСТВЕННОГО ГЕНОТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА «НЕОВАСКУЛГЕН»
Деев Р.В., Киселев С.Л., Исаев А.А. 104

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПЕГИЛИРОВАННЫХ ИНТЕРФЕРОНОВ
Чистяков В.В., Абрамович Р.А., Обидченко Ю.А. 104

COMPARATIVE TECHNOLOGICAL CHARACTERISTICS AND PHARMACOLOGICAL PROPERTIES OF PEGYLATED INTERFERON
Chistyakov V.V, Abramovich R.A, Obidchenko Y.A. 105

ХИМЕРНЫЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА, ЗАЩИЩАЮЩИЕ ОТ ЗАБОЛЕВАНИЯ КЛЕЩЕВЫМ ЭНЦЕФАЛИТОМ
Тикунова Н.В. 106

CHIMERIC THERAPEUTIC ANTIBODY ABLE TO PROTECT FROM TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS
Tikunova N.V. 106

ДИКОРАСТУЩИЕ КОЛХИДСКИЕ ОРХИДЕИ И ИХ СОХРАНЕНИЕ КАК ОБЪЕКТОВ ПРОСВЕЩЕНИЯ И ПРОДУЦЕНТОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СУБСТАНЦИЙ
Аверьянова Е.А., Харута Л.Г.Рыбалко А.Е., Скипина К.П. 107

ПОСТЕРЫ
POSTERS

СРАВНЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ И ИММУНОХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ РЕКОМБИНАНТЫХ scFv И Fab ФРАГМЕНТОВ АНТИТЕЛ TnIMAB, СПЕЦИФИЧНЫХ К ТРОПОНИНУ I СЕРДЦА ЧЕЛОВЕКА
Альтшулер Е.П., Серебряная Д.В., Постников А.Б., Катруха А.Г. 108

COMPARISON OF BIOCHEMICAL AND IMMUNOCHEMICAL PROPERTIES OF THE RECOMBINANT scFv AND Fab FRAGMENTS OF ANTIBODIES TnIMAB SPECIFIC TO HUMAN CARDIAC TROPONIN I
Altshuler E.P., Serebryanaya D.V., Postnikov A.B., Katrukha A.G.. 109

МОДЕЛИРОВАНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ RIBA И RIBG ШТАММОВ *BACILLUS SUBTILIS* И СОЗДАНИЕ НА ИХ ОСНОВЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ НА ОКСИДАТИВНЫЙ СТРЕСС
Филиппенков И.Б., Белодед А.В., Склярова С.А., Миронов А.С., Кузнецов А.Е. 109

MODELING OF EXPRESSION OF RIBA AND RIBG GENES IN *BACILLUS SUBTILIS* STRAINS AND CREATION OF BIOLOGICAL TEST-SYSTEM TO OXIDATIVE STRESS ON THEIR BASIS
Filipenkov I.B., Beloded A.V., Mironov A.S., Sklyarova S.A., Kusnetzov A.E. 110

ПОЛНОРАЗМЕРЫЕ АНТИТЕЛА ЧЕЛОВЕКА, НЕЙТРАЛИЗУЮЩИЕ ВИРУС НАТУРАЛЬНОЙ ОСПЫ И ВИРУС ОСПЫ ОБЕЗЬЯН
Хлусевич Я.А., Тикунова Н.В., Морозова В.В., Бормотов Н.И., Беланов Е.Ф., Булычев Л.Е., Сергеев А.Н. 111

FULLY HUMAN ANTIBODY NEUTRALIZING *VARIOLLA VIRUS* AND *MONKEYPOX VIRUS*
Khlusevich Ya. A., Tikunova N.V., Morozova V.V., Bormotov N.I., Belanov E.F., Bulychev L.E., Sergeev A.N. 111

ГЕНЕРАЦИЯ ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ ЛИНИЙ-ПРОДУЦЕНТОВ ФАКТОРА СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ IX ЧЕЛОВЕКА БЕЗ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СТАДИЙ АМПЛИФИКАЦИИ ЦЕЛЕВОГО ГЕНА
Ковнир С.В., Орлова Н.А., Усакин Л.А., Воробьев И.И., Габибов А.Г. 112

HIGH-LEVEL FACTOR IX PRODUCER CELL LINES GENERATION WITHOUT THE TARGET GENE AMPLIFICATION STAGE
Kovnir S.V., Orlova N.A., Usakin L.A., Vorobiev I.I., Gabibov A.G. 112

ПОЛУЧЕНИЕ ЭУКАРИОТИЧЕСКОЙ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИЙ — ПРОДУЦЕНТА ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ПРОТЕКТИВНОГО АНТИТЕЛА ПРОТИВ ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА
Матвеев А.Л., Байков И.К., Бабкина И.Н., Рихтер В.А., Тикунова Н.В. 113

SELECTING OF EUKARYOTIC CELL LINES-PRODUCER OF RECOMBINANT THERAPEUTIC NEUTRALIZING ANTIBODIES AGAINST TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS
Matveev A.L., Baykov I.K.., Babkina I.N., Richter V.A., Tikunova N.V. 114

ПОЛУЧЕНИЕ ЛИНИИ-ПРОДУЦЕНТА ФАКТОРА СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ VIII ЧЕЛОВЕКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НЕТРАНСЛИРУЕМЫХ ОБЛАСТЕЙ ГЕНА ФАКТОРА ЭЛОНГАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ 1 АЛЬФА КИТАЙСКОГО ХОМЯЧКА
Орлова Н.А., Ковнир С.В., Воробьев И.И., Габибов А.Г., Воробьев А.И. 114

GENERATION OF A HIGH-LEVEL FACTOR VIII PRODUCER CELL LINE USING EXPRESSION SYSTEM BEARING UNTRANSLATED REGIONS OF THE ELONGATION FACTOR 1 ALPHA GENE OF CHINESE HAMSTER
Orlova N.A., Kovnir S.V., Vorobiev I.I.,Gabibov A.G., Vorobiev A.I.. 115

КОНСТРУИРОВАНИЕ ГЕННО-ИНЖЕНЕРНЫХ АНАЛОГОВ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ПЕПТИДА ЖЕНСКОГО МОЛОКА ЛАКТАПТИНА
Потапенко М.О., Савельева А.В., Фомин А.С., Семенов Д.В., Коваль О.А., Кулигина Е.В., Рихтер В.А. 115

ENGINEERING OF RECOMBINANT ANALOGUES OF CYTOTOXIC FACTOR OF HUMAN MILK LACTAPTINE
Potapenko M.O., Saveleva A.V., Fomin A.S., Semenov D.V., Koval O.A., Kuligina E.V., Richter V.A. 116

СЕГРЕГАЦИОННО СТАБИЛИЗИРОВАННЫЙ ПЛАЗМИДНЫЙ ВЕКТОР pHYP ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ В БАКТЕРИАЛЬНОЙ СИСТЕМЕ ЭКСПРЕССИИ
Усакин Л.А., Орлова Н.А., Шендер В.О., Воробьев И.И. 117

SEGREGATIONALLY STABILIZED PLASMID VECTOR pHYP FOR RECOMBINANT PROTEINS PRODUCTION IN BACTERIAL EXPRESSION SYSTEM
Usakin L.A., Orlova N.A., Shender V.O., Vorobiev I.I.. 117

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

ПРИСУТСТВИЕ ФОСФОЛИПИДОВ В МОЛОКЕ ПОВЫШАЕТ НИТРИТ ВОССТАНАВЛИВАЮЩУЮ АКТИВНОСТЬ КСАНТИНОКСИДАЗЫ
Алтайулы С., Аликулов З.. 118

THE PRESENCE OF PHOSPHOLIPIDS INCREASES NITRITE REDUCTASE ACTIVITY OF MILK XANTHINE OXIDASE
Altaiuly S., Alikulov Z.. 120

КЛОНИРОВАНИЕ МНОГОКОПИЙНЫХ CPG-МОТИВОВ В СОСТАВЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ПЛАЗМИДЫ
Коровашкина А.С., Квач С.В., Зинченко А.И. 121

CLONING OF MULTI-COPY CPG MOTIFS IN BACTERIAL PLASMID
Korovashkina A.S., Kvach S.V., Zinchenko A.I. 122

ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ СИНТЕЗ ЦИКЛИЧЕСКОГО 3′,5′-ДИГУАНИЛАТА И ЕГО 2′-ДЕЗОКСИПРОИЗВОДНОГО
Коровашкина А.С., Квач С.В., Квач М.В., Рымко А.Н., Зинченко А.И. 122

ENZYMATIC SYNTHESIS OF 3′,5′-CYCLIC DIGUANYLATE AND ITS 2′-DEOXY DERIVATIVE
Korovashkina A.S., Kvach S.V., Kvach M.V., Rymko A.N., Zinchenko A.I. 123

УНИВЕРСАЛЬНАЯ СИСТЕМА ЭКСПРЕССИИ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ НА ОСНОВЕ ШТАММА *ASPERGILLUS AWAMORI* РЕКОМБИНАНТНЫХ ПРОДУЦЕНТОВ ФЕРМЕНТОВ
Середа А.С., Костылева Е.В., Цурикова Н.В., Римарева Л.В., Поляков В.А., Рожкова А.М., Винецкий Ю.П., Синицын А.П. 123

THE UNIVERSAL EXPRESSION SYSTEM FOR *ASPERGILLUS AWAMORI* RECOMBINANT ENZYME PRODUCERS OBTAINING
Rojkova A.M., Sinitsyn A.P., Vinetsky U.P., Sereda A.S., Tsurikova N.V., Polyakov V.A., Rimareva L.V. 124

ЦЕЛЛЮЛАЗНЫЕ ФЕРМЕНТЫ ГРИБА ASPERGILLUS TERREUS ВЫДЕЛЕННЫЕ ИЗ ПОЧВ УЗБЕКИСТАНА
Умаров Б.Р., Хамидова Х.М. 125

CELLULOTIC ENZYMES OF THE FUNGUS *ASPERGILLUS TERREUS* ISOLATED FROM THE SOILS OF UZBEKISTAN
Umarov B.R., Khamidova Kh.M. 125

НАУЧНЫЕ ОСНОВЫ РАЦИОНАЛЬНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ШАМПАНСКИХ АСД
Романенков Р.Д., Мартыненко Н.Н. 126

THE SCIENTIFIC BASIS FOR THE RATIONAL USE OF CHAMPAGNE ADY
Romanenkov R.D., Martynenko N.N. 126

ПРОВЕДЕНИЕ КЛИНИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА КАНЦЕРОЛИЗИН, СОЗДАННОГО НА ОСНОВЕ МУТАНТНОГО АДЕНОВИРУСА 5-ГО ТИПА
Шишкина Л.Н., Михайлова И.Н., Карпова Е.В., Г.В. Вдовиченко, М.П. Богрянцева, В.А. Терновой, И.В. Плясунов, Кабанов А.С., Скарнович М.О., Иванова М.Ю., Индикова И.Н., Бурдюков М.С., Синельников И.Е., Нечипай А.М., Игнатьев Г.М., Демидов Л.В., Сергеев А.Н. 127

CARRYING OUT OF CLINICAL TRIALS OF THE ANTICANCER CANCEROLYSIN PREPARATION CREATED ON THE BASIS OF MUTANT TYPE 5 ADENOVIRUS
L.N. Shishkina, I.N. Mikhailova, E.V. Karpova, G.V. Vdovichenko, M.P. Bogryantseva, V.A. Ternovoi, I.V. Plyasunov, A.S. Kabanov, M.O. Skarnovoch, M.Yu. Ivanova, I.N. Indikova, M.S. Burdyukov, I.E. Sinelnikov, A.M. Nechipai, G.M. Ignatyev, L.V. Demidov, A.N. Sergeev . .128

ПУРОЛАЗА И МИНИПЛАЗМИНОГЕН — ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ ДЛЯ ФИБРИНОЛИТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ
Бибилашвили Р.Ш. 128

СЕКЦИЯ 3. «КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В МЕДИЦИНЕ»
SECTION 3 “CELLULAR TECHNOLOGY IN MEDICINE”

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ КАК РЕГУЛЯТОРЫ РЕГЕНЕРАТИВНЫХ И РЕПАРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ
Ткачук В.А., Парфенова Е.В., Калинина Н.И., Рубина К.А., Сысоева В.Ю. 129

СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ (ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ В БИОМЕДИЦИНСКОЙ ПРАКТИКЕ)
Васильев А.В., Терских В.В., Е.В. Киселева 129

НЕЙРАЛЬНЫЕ, ПРОГЕНИТОРНЫЕ И ГЕМОПОЭТИЧЕСКИЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ В ТЕРАПИИ ГЛИОМ
Чехонин В.П., Баклаушев В.П. 130

НСК В ТЕРАПИИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ
Александрова М.А. 130

РОЛЬ МАКРОФАГОВ В РЕГУЛЯЦИИ РЕПАРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ В ЦНС И ИХ ВОЗМОЖНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ПРИ ПАТОЛОГИИ ЦНС
Черных Е.Р., Кафанова М.Ю., Шевела Е.Я., Сахно Л.В, Останин А.А., Козлов В.А. 131

THE ROLE OF MACROPHAGES IN CNS REPAIR AND THEIR POSSIBLE APPLICATION IN CNS PATHOLOGY
Chernykh E.R., Kafanova M.Yu, Shevela E.Ya., Ostanin A.A., Kozlov V.A.. 132

ПРОБЛЕМЫ АДРЕСНОЙ КОРРЕКЦИИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*
Козлов В.А. 132

THE PROBLEM OF THE ADDRESS CORRECTION OF THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF STEM CELLS *IN VITRO*
Kozlov V.A 133

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ ОЦЕНКИ ТОКСИЧНОСТИ НАНОЧАСТИЦ ОКИСЛОВ МЕТАЛЛОВ
Суетина И.А., Подчерняева Р.Я., Гущина Е.А., Лопатина О.А., Поклонов В.А., Остроумов С.А. 134

USING CELL TECHNOLOGIES TO ASSESS THE TOXICITY OF NANOPARTICLES OF METAL OXIDES
Suetina I.A., Podchernyaeva R. Ya., Gushina E.A., Lopatina O.A., Poklonov V.A., Ostroumov S.A. 135

ДЕНДРИТНЫЕ КЛЕТКИ: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ПОДХОДЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ ДЛЯ ТЕРАПИИ ИНФЕКЦИОННЫХ И ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ
Сенников С.В., Курилин В.В., Лопатникова Ю.А.. 136

DENDRITIC CELLS. EXPERIMENTAL APPROACHES AND PERSPECTIVES OF THEIR APPLICATION FOR TREATMENT OF INFECTIOUS DISEASES AND CANCER
Sennikov S.V., Kurilin V.V., Lopatnikova Y.A. 137

АНАЛИЗ СВОЙСТВ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК, СУЩЕСТВЕННЫХ ДЛЯ ПОНИМАНИЯ ПЕРВОПРИЧИН СТАРЕНИЯ
Халявкин А.В., Крутько В.Н. 137

THE ANALYSIS OF THE PROPERTIES OF STEM CELLS THAT ARE ESSENTIAL FOR UNDERSTANDING THE UNDERLYING CAUSES OF AGING
Khalyavkin A.V., Krutko V.N.. 138

ПОСТЕРЫ
POSTERS

ВЛИЯНИЕ БЕЛКОВ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА НА ПРИКРЕПЛЕНИЕ К СУБСТРАТУ И СТРУКТУРУ АКТИНОВОГО ЦИТОСКЕЛЕТА МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА
Монахова В.С., Пинаев Г.П. 139

INFLUENCE OF EXTRACELLULAR MATRIX PROTEINS TO ATTACHMENT FOR SUBSTRATE AND STRUCTURE OF ACTIN CYTOSKELETON OF MULTIPOTENT MESENCHYMAL STROMAL CELLS FROM BONE MARROW
Monahova V.S., Pinaev G.P. 140

ИЗУЧЕНИЕ АДГЕЗИВНЫХ СВОЙСТВ ПРОБИОТИЧЕСКОГО ШТАММА *ENTEROCOCCUS THAILANDICUS* С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЛИНИИ КЛЕТОК CACO-2
Нгуен Тхи Минь Кхань, Машенцева Н.Г.. 141

STUDY THE ADHESIVE PROPERTIES OF STRAIN ENTEROCOCCUS THAILANDISCUS USING CACO-2 CELL LINE
Nguyen Thi Minh Khanh, Mashentseva N.G. 141

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КЛЕТОЧНЫХ НОСИТЕЛЕЙ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ РЕЗОРБИРУЕМЫХ ПОЛИГИДРОКСИАЛКАНОАТОВ РАЗЛИЧНОГО ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА
Николаева Е.Д., Шишацкая Е.И., Волова Т.Г., Горева А.В.. 142

COMPARATIVE INVESTIGATION OF PHA SCAFFOLDS WITH VARIOUS CHEMICAL COMPOSITIONS
Nikolaeva E.D., Shishatskaya E.I., Volova T.G., Goreva A.V.. 142

СТАБИЛИЗАЦИЯ ОКСИДАЗЫ D-АМИНОКИСЛОТ ИЗ ДРОЖЖЕЙ *TRIGONOPSIS VARIABILIS* ГИДРОФОБИЗАЦЕЙ А-СПИРАЛЕЙ МЕТОДОМ НАПРАВЛЕННОГО МУТАГЕНЕЗА
Рыженкова К.В., Комарова Н.В. 143

STABILIZATION OF D-AMINO ACID OXIDASE OBTAINED FROM *TRIGONOPSIS VARIABILIS* YEAST USING HYDROPHOBIZATION OF A -HELIXES WITH SITE-DIRECTED MUTAGENESIS METHOD
Ryzhenkova K.V., Komarova N.V. 144

ПОЛУЧЕНИЕ БИОМЕДИЦИНСКИХ КОНСТРУКЦИЙ В ВИДЕ МАТРИКСОВ ИЗ ПГА ДЛЯ ЗАДАЧ КЛЕТОЧНОЙ И ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ
Шумилова А.А., Шишацкая Е.И. 144

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

ИЗУЧЕНИЕ СПОСОБНОСТИ ВИРУСА ЛЕЙКОЗА КРС АКТИВИРОВАТЬ ТОЛЛ-ПОДОБНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ
Артемичева Н.М., Жарова Ю.П.. 146

STUDING THE ABILITY OF BOVINE LEUKEMIA VIRUS TO ACTIVATE TOLL-LIKE RECEPTORS
Artemicheva N.M., Zharova Y.P.. 146

МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТРОМАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ ПОВЫШАЮТ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ С ОСТРОЙ АТАКОЙ ЯЗВЕННОГО КОЛИТА
Лазебник Л.Б., Князев О.В., Коноплянников А.Г. 147

MESENCHYMAL STROMAL CELLS INCREASES THE EFFECTIVENESS OF ANTI-INFLAMMATORY THERAPY TO PATIENTS WITH ACUTE ATTACK OF ULCERATIVE COLITIS
Lazebnik L., Knyazev O., Konoplyannikov A. 148

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТРАНСМИССИВНЫХ ГЕНОВ АНТИБИОТКОУСТОЙЧИВОСТИ В КЛЕТКАХ ПРОБИОТИЧЕСКИХ КУЛЬТУР
Семёнышева Е.И., Бирюков Е.Г., Ганина В.И., Машенцева Н.Г. 148

DEFINITION OF TRANSMISSIBLE GENES FOR ANTIBIOTIC RESISTANCES IN CELLS OF PROBIOTIC CULTURES
Semenysheva E.I., Biryukov E.G., Ganina V.I., Mashentseva N.G.. 149

ЭКПРЕССИЯ ПОВЕРХНОСТНОГО ЭМБРИОНАЛЬНОГО АНТИГЕНА 1 (SSEA-1) В СПЕРМАТОГОНИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ХРЯКА *IN VITRO*
Васильева С.А., Савченкова И.П.. 150

EXPRESSION OF SURFACE EMBRYONIC ANTIGEN 1 (SSEA-1) IN BOAR SPERMATOGONIAL CELLS *IN VITRO*
Vasilieva S.A., Savchenkova I.P.. 150

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОБИОТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ НОВОГО МИКРООРГАНИЗМА *ENTEROCOCCUSTHAILANDICUS*, ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ НАЦИОНАЛЬНОЙ КОЛБАСЫ ВЬЕТНАМА
Трушанова И.Н., Нгуен Тхи Минь Кхань, Машенцева Н.Г. 151

DETERMINATION OF PROBIOTIC PROPERTIES OF A NEW MICROORGANISM *ENTEROCOCCUS THAILANDICUS*, ISOLATED FROM THE NATIONAL SAUSAGE VIETNAM
Trushanova I.N., Nguyen Thi Minh Khanh, Mashentseva N.G.. 151

СЕКЦИЯ 4. «ДОКЛИНИЧЕСКИЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ ИСПЫТАНИЯ ПРИ РАЗРАБОТКЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ»
SECTION 4 "PRECLINICAL AND CLINICAL TRIALS FOR DRUG DEVELOPMENT"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

СОЗДАНИЕ СОВРЕМЕННОЙ ЛАБОРАТОРИИ ДЛЯ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В РОССИИ
L. Bachdasarian; R. Bulthuis; E. Smulders 153

SETTING UP A MODERN LABORATORY FOR PRE-CLINICAL RESEARCH IN RUSSIA
L. Bachdasarian; R. Bulthuis; E. Smulders 153

ASSESSING NON-INVASIVE MULTIPLE-INPUT MODELING OF TUMOR GROWTH WITH APPLICATION TOWARDS SUBJECT-SPECIFIC ON-LINE MONITORING, VIRTUAL SENSORS AND CONTROL
Derrick K. Rollins, Sr. 154

ДОКЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА МЕТАБОЛИЗМА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ
Гилеп А.А., Янцевич А.В., Гайдукевич И.В., Сушко Т.А., Муха Д.В., Усанов С.А. 155

HUMAN RECOMBINANT DRUG METABOLIZING ENZYMES IN PRECLINICAL STUDIES OF DRUGS
Gilep AA., Yantsevich AV., Haidukevich I.V., Sushko T.A., Mukha D.V., Usanov SA. 155

ДОКЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ
Гуськова Т.А. 156

PRECLINICAL SAFETY EVALUATION OF BIOPHARMACEUTICAL MEDICINES
Guskova T.A. 156

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ *IN VIVO* МОДЕЛИРОВАНИЯ
Коршунов В.А., Илюшкина И.А., Дьяченко И.А. 157

GENOMIC ASPECTS OF *IN VIVO* MODELING
Vyacheslav A. Korshunov, Irina A. Ilushkina, Igor A. Dyachenko. 158

НОВЫЙ МЕХАНИЗМ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ДЕЙСТВИЯ L-ЛИЗИН-А-ОКСИДАЗЫ ИЗ МИКРОСКОПИЧЕСКОГО ГРИБА РОДА TRICHODERMA
Лукашева Е.В., Маклецова М.Г., Лукашев А.Н., Березов Т.Т.. 158

L-LYSINE A-OXIDASE FROM TRICHODERMA FUNGUS: NEW MECHANISM OF ANTICANCER ACTION
Lukasheva E.V., Makletsova M.G., Lukashev A.N., Berezov T.T.. 159

ВЫЯВЛЕНИЕ УЧАСТНИКОВ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ С ПОМОЩЬЮ ГИАЛУРОНИДАЗНОГО ТЕСТА МЕТОДОМ ЛАЗЕРНОЙ ДОПЛЕРОВСКОЙ ФЛУОМЕТРИИ
Максименко А.В., Турашев А.Д., Федорович А.А., Тищенко Е.Г., Рогоза А.Н.. 159

ELICITATION OF PARTAKER FOR PATHOLOGICAL MICROCIRCULATION DISTURBANCES WITH HELP OF HYALURONIDASE TEST BY LASER DOPPLER FLOWMETRY
Maksimenko A.V., Turashev A.D., Fedorovich A.A., Tischenko E.G., Rogoza A.N. 160

ОРГАНИЗАЦИЯ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ В СООТВЕТСТВИИ С ПРИНЦИПАМИ GLP
Мурашев А.Н. 161

ORGANIZATION OF PRECLINICAL STUDIES ACCORDING GLP PRINCIPLES
Arkadi N. Murashev 161

КОМПЬЮТЕРНОЕ ПРОГНОЗИРОВАНИЕ В ОЦЕНКЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ
Поройков В.В., Глориозова Т.А., Лагунин А.А., Филимонов Д.А.. 162

COMPUTER-AIDED PREDICTIONS IN ESTIMATING THE EFFICACY AND SAFETY OF PHARMACEUTICALS
Poroikov V.V., Gloriozova T.A., Lagunin A.A., Filimonov D.A.. 162

ПРИМЕНЕНИЕ LIMS ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ
Ржевский Д.И., Идзиковский В.И., Мезенцева О.В. 163

THE USE OF LIMS DURING NONCLINICAL TRIALS
Rzhevsky D.I., Idzikovsky V.I., Mezentseva O.V. 164

СИСТЕМА ПОИСКА НОВЫХ ИНГИБИТОРОВ ТРАНСЛЯЦИИ
Сергиев П.В., Остерман И.А., Прохорова И.В., Ордабаев Е., Сысоев В., Нестерчук М.В., Сергеева О.В., Головина А.Я., Головин А.В., Шишкина А.В., Сумбатян Н.В., Коршунова Г.А., Евфременкова О.В., Донцова О.А. 164

A SCREENING SYSTEM FOR TRANSLATION INHIBITORS
P.V. Sergiev, I.A. Osterman, I.V. Prokhorova, Y. Ordabayev, V. Sysoev, M.V. Nesterchuk, O.V. Sergeeva, A.Ya. Golovina, A.V. Golovin, A.V. Shishkina, N.V. Sumbatyan, G.A. Korshunova, O.V. Evfremenkova, O.A. Dontsova 165

ДОКЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ДЕЙСТВИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ
Янцевич А.В., Муха Д.В., Шкель Т.В., Диченко Я.В., Бритиков В.В., Лущик А.Я., Усанов С.А. 165

PRECLINICAL EVALUATION OF THE EFFICIENCY OF DRUGS
Yantsevich AV., Mukha D.V., Shkel T.V., Dichenko Ya.V., Britikov V.V., Luschik A.Ya., Usanov S.A. 166

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЕЛИЧИН LD_{50} ДЛЯ ГРЫЗУНОВ И LC_{50} ДЛЯ ЭМБРИОНОВ И ВЗРОСЛЫХ РЫБ DANIO RERIO.
Золотарёв К.В., Беляева Н.Ф. 166

COMPARATIVE ANALYSIS OF LD_{50} VALUES FOR RODENTS AND LC_{50} VALUES FOR DANIO RERIO ADULT FISH AND EMBRYOS
K. Zolotarev, N. Belyaeva 167

КОМПЬЮТЕРНОЕ КОНСТРУИРОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗ БИБЛИОТЕК ФРАГМЕНТОВ
Фильц О.А., Лагунин А.А., Филимонов Д.А., Поройков В.В. 167

AN APPLICATION OF IN SILICO APPROACH TO FRAGMENT-BASED DRUG DESIGN
O. A. Filz, A. A. Lagunin, D. A. Filimonov, V. V. Poroikov 168

ПОСТЕРЫ
POSTERS

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С БИОМЕМБРАНАМИ АДАПТОГЕНА ФЕНОЗАНА И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ
Алексеева О.М., Миль Е.М., Бинюков В.И., Албантова А.А., Вольева В.Б., Комиссарова Н.Л., Белостоцкая И.С., Голощапов А.Н., Бурлакова Е.Б. 169

THE INTERACTION OF ADAPTOGEN — PHENOZAN AND ITS DERIVATIVES WITH BIOMEMBRANES
Alekseeva O.M., Mil E.M., Binyukov V.I., Albantova A.A., Vol,eva V.B., Belostotskaya I.S., Komissarova N.L., Goloshapov A.N., Burlakova E.B. 169

ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ ЛИМОНА И ОРЕГАНО В ЭКСПЕРИМЕНТАХ НА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ
Алинкина Е.С., Воробьева А.К., Мишарина Т.А., Фаткуллина Л.Д., Бурлакова Е.Б. 170

ESTIMATION OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF LEMON AND OREGANO ESSENTIAL OILS IN EXPERIMENTS ON LABORATORY ANIMALS
Alinkina E.S., Vorobyova A.K., Misharina T.A., Fatkullina L.D., Burlakova E.B. 171

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ И КЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИННОВАЦИОННОГО СИНБИОТИЧЕСКОГО НАПИТКА, СОДЕРЖАЩЕГО БИФИДОБАКТЕРИИ И КОМПЛЕКС ПОЛИСАХАРИДОВ ИЗ БУРОЙ ВОДОРОСЛИ F. EVANESCENS
Кузнецова Т.А., Запорожец Т.С., Беседнова Н.Н., Звягинцева Т.Н., Имбс Т.И. 171

EXPERIMENTAL AND CLINICAL EVALUATION OF INNOVATIVE SYNBIOTIC DRINK CONTAINING BIFIDOBACTERIA AND COMPLEX POLYSACCHARIDES FROM BROWN ALGAE F. EVANESCENS
Kuznetsova T.A, Zaporozhets T.S., Besednova N.N., Zvyagintsev T.N., Imbs T.I. 172

ДЕЙСТВИЕ ГИБРИДНОГО АНТИОКСИДАНТА ИХФАНА В ОПЫТАХ *IN VIVO* КАК ПЕРСПЕКТИВНОГО СРЕДСТВА ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА
Подчуфарова Д.Е., Фаткуллина Л.Д., Бурлакова Е.Б. 173

THE EFFECT OF HYBRID ANTIOXIDANT ICHFAN IN EXPERIMENTS *IN VIVO* AS A PROMISING MEDICINE FOR THE CORRECTION OF OXIDATIVE STRESS
Podchufarova D.E., Fatkullina L.D., Burlakova E.B. 173

ОПРЕДЕЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ С ПОМОЩЬЮ БИОТЕСТ-СИСТЕМ *IN VITRO*
Дубинская В.А., Поляков Н.А., Ефремов А.А., Быков В.А. 174

DETERMINATION OF BIOLOGICAL ACTIVIY OF ESSENTIAL OILS BY THE TEST-SYSTEM *IN VITRO*
V.A. Dubinskaya, N.A. Polyakov, A.A. Efremov, V.A. Bykov. 174

ПРОТИВОЯЗВЕННОЕ ДЕЙСТВИЕ ПЕПТИДОВ АЛЬФА- ЛАКТАЛЬБУМИНА И ЛАКТОФЕРРИНА
Самохина Л.С. 175

ANTIULCEROGENIC ACTION OF PEPTIDES OF ALPHA-LACTALBUMINE AND LACTOFERRIN
L.S. Samokhina. 176

ВЛИЯНИЕ ПРИЕМА МАЛЫХ ДОЗ ЭФИРНОГО МАСЛА ОРЕГАНО НА УСТОЙЧИВОСТЬ МЫШЕЙ К ОНКОЛОГИЧЕСКИМ ПРОЦЕССАМ
Воробьева А.К., Алинкина Е.С.,Фаткуллина Л.Д., Мишарина Т.А., Бурлакова Е.Б. 176

THE EFFECT OF LOW DOSES ADMINISTRATION OF OREGANO ESSENTIAL OIL ON MICE RESISTANCE TOWARDS ONCOGENESIS
Vorobyova A.K., Alinkina E.S., Fatkullina L.D., Misharina T.A., Burlakova E.B. 177

МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ АНТИСТРЕССОРНЫХ СВОЙСТВ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПРЕПАРАТОВ
Жигачева И.В., Бурлакова Е.Б., Голощапов А.Н.. 177

MODEL FOR SEARCH THE ANTISTRESS PROPERTIES OF BIOLOGICALL ACTIVE DRUGS
Zhigacheva I.V., Burlakova E.B., Goloschapov A.N. 178

ИССЛЕДОВАНИЕ ТОКСИЧНОСТИ ОКТАЭДРИЧЕСКИХ КЛАСТЕРНЫХ КОМПЛЕКСОВ РЕНИЯ НА КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА DKL – 29
Зубарева К.Э., Хрипко О.П., Шестопалов М.А. 179

TOXICITY RESEARCH OF OCTAHEDRAL RHENIUM CLUSTER COMPLEXES ON HUMAN CELL CULTURE DKL – 29
Zubareva K.E., Khripko O.P., Chestopalov M.A. 179

ПУБЛИКАЦИЯ
PUBLICATIONS

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ МНОГОКОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА НУКЛЕОТИДОВ НА АНТИВИРУСНУЮ АКТИВНОСТЬ
Агеевец В.А., Квитко К.В., Шабанова М.Е., Баурина М.М. 180

MULTICOMPONENT COMPOSITION OF THE MEDICAL PRODUCT OF NUCLEOTIDES AND ITS ANTIVIRUS ACTIVITY
Ageevets V.A., Kvitko K.V., Shabanova M.E., Baurina M.M.. 181

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ ДЛИТЕЛЬНОГО ПРИЕМА МЫШАМИ ЭФИРНОГО МАСЛА ОРЕГАНО
Бурлакова Е.Б., Мишарина Т.А., Фаткуллина Л.Д., Воробьева А.К., Алинкина Е.С. 182

ESTIMATION OF EFFICIENCY AND SAFETY OF LONG-TERM DIETARY SUPPLEMENTATION OF OREGANO ESSENTIAL OIL ON MICE
Burlakova E.B., Misharina T.A., Fatkullina L.D., Vorobyova A.K., Alinkina E.S. 183

ВЛИЯНИЕ ОКТАНОЛА НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ БУТИРИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ К ДИИЗОПРОПИЛФТОРФОСФАТУ
Быковская Е.Ю., Жуковский Ю.Г., Кузнецова Л.П., Никитина Е.Р., Сочилина Е.Е. 183

THE INFLUENCE OF OCTANOL ON SENSITIVITY OF BUTYRYLCHOLINESTERASE TO DIISOPROPYL FLUOROPHOSPHATE
E.Yu. Bykovskaja, Yu.G. Zhukovskij, L.P. Kuznetsova, E.R. Nikitina, E.E. Sochilina 184

ВЛИЯНИЕ НЕЙРОМЕДИАТОРНЫХ СИСТЕМ МОЗГА НА ПОВЕДЕНИЕ И ВОКАЛИЗАЦИЮ КРЫС В УЛЬТРАЗВУКОВОМ ДИАПАЗОНЕ
Каркищенко Н.Н., Фокин Ю.В., Каркищенко В.Н., Касинская Н.В., Алимкина О.В. 185

IMPACT OF NEUROMEDIATOR BRAIN SYSTEMS ON BEHAVIOR AND VOCALIZATION OF RATS IN ULTRASONIC RANGE
Karkischenko N.N., Fokin Yu.V., Karkischenko V.N., Kasinskaya N.V., Alimkina O.V. 185

ИЗУЧЕНИЕ ИНГИБИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ МЕТАБОЛИТОВ И ЭКСТРАКТОВ ГРИБОВ РОДА TRICHODERMA НА ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ
Громовых Т.И., Садыкова В.С., Свирщевская Е.В., Зубарева Е.С.. 186

STUDY OF THE EFFECT OF TRICHODERMA METABOLITES AND EXTRACTS FOF THE INHIBITION OF CANCER CELLS
Gromovykh T.I., Sadykova V.S., Svirshevskaya E.V., Zubareva E.S. 186

ИЗУЧЕНИЕ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ КАТИОННЫХ АЛКИЛЬНЫХ ГЛИЦЕРОЛИПИДОВ С РАЗЛИЧНЫМИ СПЕЙСЕРНЫМИ ГРУППАМИ
Маркова А.А., Плявник Н.В., Шмендель Е.В., Морозова Н.Г., Маслов М.А., Чупин В.В., Штиль А.А. 187

THE CITOTOXICITY STUDIES OF THE CATIONIC ALKYLGLYCEROLIPIDS WITH DIFFERENT SPACER GROUPS
Markova A.A., Plyavnik N.V., Shmendel E.V., Morozova N.G., Maslov M.A., Chupin V.V., Shtil A.A. 188

ОН-ЛАЙН ПРОГНОЗ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ СКРИНИНГ В РЯДУ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРИМИДИНДИОНОВ И ПИРРОЛИДИНГИДРАЗИДОВ 1,4-НАФТОХИНОНА
Стасевич М.В., Комаровская-Порохнявец Е.З., Воскене А., Вайцкялёнене Р., Мицкявичюс В., Поройков В.В., Филимонов Д.А., Дружиловский Д.А., Новиков В.П. 188

ON-LINE PREDICTION OF BIOLOGICAL ACTIVITY AND EXPERIMENTAL SCREENING IN ORDER OF DERIVATIVES OF PYRIMIDINEDIONES AND PYRROLIDINEHYDRAZIDES OF 1,4-NAPHTHOQUINONE
Stasevych M.V., Komarovska-Porohnyavets O.Z., Voskene A., Vaytskyalenene P., Mickevičius V., Poroikov V.V., Filimonov D.A., Druzhilovsky D.A., Novikov V.P. 189

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ХОЛИНЭСТЕРАЫ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ОЖОГОВОГО ШОКА
Жуковский Ю.Г., Кузнецова Л.П., Никитина Е.Р., Сочилина Е.Е. 190

RESEARCH OF POSSIBILITY OF APPLICATION CHOLINESTERASE FOR TREATMENT OF THE BURN SHOCK
Yu. G. Zhukovskij, L.P. Kuznetsova, E.R. Nikitina, E.E. Sochilina. 190

СЕКЦИЯ 5 «ПРИМЕНЕНИЕ НАНОБИОТЕХНОЛОГИИ В МЕДИЦИНЕ» SECTION 5 “APPLICATIONS OF NANOBIOTECHNOLOGIES IN MEDICINE”

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ ORAL REPORTS

ПРИМЕНЕНИЕ ПОЛИМЕРНЫХ СИСТЕМ ДОСТАВКИ ДЛЯ ТРАНСПОРТА ПЕПТИДОВ С НЕЙРОТРОФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ ЧЕРЕЗ ГЕМАТО-ЭНЦЕФАЛИЧЕСКИЙ БАРЬЕР
Балабаньян В.Ю., Елизарова О.С., Солев И.Н., Литвинова С.А., Гарибова Т.Л., Воронина Т.А. 192

THE DELIVERY OF NEUROTROPHIC PEPTIDES TO CENTRAL NERVOUS SYSTEM USING POLIMERIC SYSTEMS
Balabanyan V.Y., Yelizarova O.S., Solev I.N., Litvinova S.A., Garibova T.L., Voronina T.A. 192

БЕЛОК VirE2 СТИМУЛИРУЕТ ТРАНСПОРТ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ В КЛЕТКИ HeLa
Чумаков М.И., Гусев Ю.С., Мазилов С.И., Волохина И.В. 193

VirE2 PROTEIN IMPROVES OLIGONUCLEOTIDE TRANSPORT TO HeLa CELLS
Chumakov M.I., Gusev Yu.S., Mazilov S.I.,Volokhina I.V. 194

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ФОСФОЛИПИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДЛЯ ТРАНСПОРТА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ
Дружиловская О.С., Прозоровский В.Н., Медведева Н.В., Ипатова О.М. 194

PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF PHOSPHOLIPID NANOPARTICLES AND THEIR USE FOR THE TRANSPORT OF DRUGS
Druzhilovskaya OS, Prozorovskii VN, Medvedev NV, OM Ipatova 195

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НАНОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДСТВ ДЛЯ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ
Дыгай А.М., Жданов В.В., Зюзьков Г.Н. 195

PHARMACOLOGICAL PROPERTIES OF NANOTECHNOLOGICAL REMEDIES FOR REGENERATIVE MEDICINE
Dygai A.M., Zhdanov V.V., Zyuz`kov G.N.. 196

НАНОЧАСТИЦЫ КАК КОМПОНЕНТЫ ИММУНОДИАГНОСТИЧЕСКИХ ТЕСТ-СИСТЕМ
Дзантиев Б.Б. 197

NANOPARTICLES AS COMPOUNDS OF IMMUNODIAGNOSTIC TEST-SYSTEMS
Dzantiev B.B. 197

ВОЗМОЖНОСТИ СОЗДАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ С НАНОЧАСТИЦАМИ МЕТАЛЛОВ
Егорова Е.М. 198

THE POSSIBILITIES FOR THE CREATION OF MEDICINES WITH METAL NANOPARTICLES
Egorova E.M. 199

ПРИМЕНЕНИЕ НАНОЧАСТИЦ И НАНОМАТЕРИАЛОВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ
Гмошинский И.В., Распопов Р.В. 199

UTILIZATION OF NANOPARTICLES AND NANOMATERIALS IN FOOD
Gmoshinski I.V., Raspopov R.V. 200

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ *IN VIVO* НАНОЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ PLGA, КОНЪЮГИРОВАННЫХ С РЕКОМБИНАНТНЫМ С-КОНЦЕВЫМ ДОМЕНОМ АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИНА
Годованный А.В., Горшкова Л.Б., Дубовик Е.Г., Никольская Е.Д., Посыпанова Г.А., Северин С.Е. 201

INVESTIGATION OF ANTITUMOR ACTIVITY *IN VIVO* OF DOCETAXEL-CONTAINING PLGA NANOPARTICLES CONJUGATED WITH RECOMBINANT C-TERMINAL DOMAIN OF ALPHA-FETOPROTEIN
Godovannyi A.V., Gorshkova L.B., Dubovik E.G., Nikol'skaya E.D., Posypanova G.A., Severin S.E. 201

ВЫСОКОСКОРОСТНОЙ СКАНИРУЮЩИЙ ЗОНДОВЫЙ МИКРОСКОП ДЛЯ МЕДИЦИНЫ
Горелкин П.В., Яминский И.В. 202

HIGH-SPEED ATOMIC FORCE MICROSCOPY FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS
P.V. Gorelkin, I.V. Yaminskii. 203

ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ
Громов А.В., Бартов М.С., Соболева Л.А., Субботина М.С., Грунина Т.М., Карпова Т.А., Мишина Д.М., Никитин К.Е., Семихин А.С., Галушкина З.М., Сергиенко О.В., Карягина А.С., Лунин В.Г. 203

NEW GENERATION OSTEOPLASTIC MATERIALS
Gromov A.V., Bartov M.S., Soboleva L.A., Subbotina M.S., Grunina T.M., Karpova T.A., Mishina D.M., Nikitin K.E., Semikhin A.S., Galushkina Z.M., Sergienko O.V., Karyagina A.S., Lunin V.G. 204

НЕОБРАТИМЫЙ ХИМИЧЕСКИЙ АСМ-ФИШИНГ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ НИЗКОКОПИЙНЫХ БЕЛКОВ
Иванов Ю.Д., Шумов И.Д., Плешакова Т.О., Крохин Н.В., Широнин А.В., Даничев В.В., Загуменный М.Н., Устинов В.С., Смирнов Л.П., Зиборов В.С. и Арчаков А.И. 205

IRREVERSIBLE CHEMICAL AFM-FISHING FOR THE DETECTION OF LOW-COPIED PROTEINS
Ivanov Yu.D., Shumov I.D., Pleshakova T.O., Krokhin N.V., Shironin A.V., Danichev V.V., Zagumenniy M.N., Ustinov V.S., Smirnov L.P., Ziborov V.S. and Archakov A.I.. 205

ФАРМАКОКИНЕТИКА И ЭФФЕКТИВНОСТЬ L-ДОФА (ЛЕВОДОПА) В СОСТАВЕ НАНОЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ ПЛГА
Кондрашева И.Г., Найденова А.А., Заварзина В.В., Василенко Е.А., Дубовик Е.Г., Гамбарян П.Г., Черников В.А., Рябцева М.С., Воронцов Е.А., Барсегян Г.Г. 206

PHARMACOKINETICS AND EFFICIENCY OF L-DOPA (LEVODOPA) INCLUDED IN PLGA NANOPARTICLES
Kondrasheva I.G., Naydenova A.A., Zavarzina V.V., Vasilenko E.A., Dubovik E.G., Gambaryan P.G., Chernikov V.A., Ryabtseva M.S., Vorontsov E.A., Barseghyan G.G. 206

ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИНЦИПЫ ПОЛУЧЕНИЯ ЛИПОСОМНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В КЛИНИКЕ
Краснопольский Ю.М., Степанов А.Е., Швец В.И. 207

TECHNOLOGICAL PRINCIPLES FOR THE DEVELOPMENT OF LIPOSOMAL DRUGS AND ITS CLINICAL USING
Krasnopolsky Yu. M., Stepanov A.E., Shvets V.I. 208

МОДИФИЦИРОВАННЫЕ КОМПОЗИЦИОННЫЕ МАТЕРИАЛЫ НА ОСНОВЕ НАНОДИСПЕРСНОГО УГЛЕРОДА ДЛЯ ИЗБИРАТЕЛЬНОЙ СОРБЦИИ ПАТОГЕННЫХ ЧАСТИЦ БЕЛКОВОЙ ПРИРОДЫ
Пьянова Л.Г., Лихолобов В.А., Бакланова О.Н., Седанова А.В., Годовикова Т.С., Кнорре Д.Г. 208

ПРИМЕНЕНИЕ НАНОРАЗМЕРНЫХ ВИРУСНЫХ ВЕКТОРОВ ДЛЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ МОДИФИКАЦИИ МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК ПУПОВИННОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА
Соловьева В.В., Исламов Р.Р., Киясов Р.Р., Грибова И.Ю., Тутыхина И.Л., Шмаров М.М., Ризванов А.А. 209

ЧИСТОЕ ЖЕЛЕЗО КАК БИОМАТЕРИАЛ ДЛЯ ДЕГРАДИРУЕМЫХ СТЕНТОВ: ИЗУЧЕНИЕ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ КЛЕТОК
Тавакалян Н.Б., Оганесян А.Н., Овсепян М.Р., Оганесян М.Г., Бояджян А.С., Pompella A. 210

PURE IRON AS A BIOMATERIAL FOR DEGRADABLE STENTS: CELL VIABILITY STUDIES
Tavakalyan N.B., Hovhannesyan A.N., Hovsepyan M.R., Hovhannisyan M.G., Boyajyan A.S., Pompella A. 211

ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ, СОЗДАВАЕМЫЕ НА ПРИНЦИПАХ САМОСБОРКИ
Ткачук А.П., Аксёнова Е.А., Шарапова Н.Е., Лящук А.М., Семихин А.С., Галушкина З.М., Сергиенко О.В., Карягина А.С., Лунин В.Г. 211

DEVELOPMENT OF SELF-ASSEMBLY IMMUNOBIOLOGICAL PREPARATIONS
Tkachuk A.P., Aksenova E.A., Sharapova N.E., Lyashchuk A.M., Semikhin A.S., Galushkina Z.M., Sergienko O.V., Karyagina A.S., Lunin V.G.. 212

ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ НАНОТЕХНОЛОГИЙ И ПРОДУКЦИИ НАНОИНДУСТРИИ
Тутельян В.А., Хотимченко С.А., Гмошинский И.В.. 213

ESTIMATION OF NANOTECHNOLOGIES AND NANOPARTICLES SAFETY
Tutelyan V.A., Khotimchenko S.A., Gmoshinski I.V. 213

PURE INSULIN MICROBEADS FOR PULMONARY DELIVERY
Dmitry Volodkin, Stephan Schmidt, Katja Uhlig, Helmuth Mohwald, Regine von Klitzing, Claus Duschl. 214

ПОСТЕРЫ
POSTERS

МАГНИТНЫЕ БИОСОВМЕСТИМЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ ОКСИДА ЖЕЛЕЗА ДЛЯ МРТ-ДИАГНОСТИКИ
Абакумов М.А., Сандалова Т.О., Нуколова Н.В., Юсубалиева Г.М., Гриненко Н.Ф., Баклаушев В.П., Вишвасрао Х., Сокольски-Папков М., Кабанов А.В., Чехонин В.П. 215

MAGNETIC BIOCOMPATIBLE IRON OXIDE NANOPARTICLES FOR MRI-DIAGNOSTICS
Abakumov M.A., Sandalova T.O., Nukolova N.V.,Yusubalieva G.M., Grinenko N.F., Baklaushev V.P., Vishvasrao H., Sokolsky-Papkov M., Kabanov A.V., Chekhonin V.P.. 216

ВЛИЯНИЕ ФОСФОЛИПИДОВ НА НИТРИТ ВОССТАНАВЛИВАЮЩУЮ АКТИВНОСТЬ КСАНТИНОКСИДАЗЫ В МОЛОКЕ
Алтайулы С., Аликулов З.. 217

EFFECT OF PHOSPHOLIPIDS RESTORES THE ACTIVITY OF XANTHINE OXIDASE NITRITE IN MILK
Altaiuly S., Alikulov Z.. 218

МОДИФИЦИРОВАННЫЕ МУЛЬТИВАЛЕНТНЫЕ НЕОГЛИКОКОНЪЮГАТЫ ШИРОКОГО СПЕКТРА ДЕЙСТВИЯ НА ОСНОВЕ D-ГАЛАКТОЗЫ И D-МАННОЗЫ
Большебородова А.К., Курочкина Н.А, Ильин А.А., Себякин Ю.Л. 220

MODIFIED MULTIVALENT NEOGLYCOCONJUGATES FOR NUMEROUS SCIENTIFIC APPLICATIONS ON THE BASIS OF D-GALACTOSE AND D-MANNOSE
Bolsheborodova A.K., Kurochkina N.A., Ilin A.A., Sebyakin J.L. 220

СОЗДАНИЕ БИОСОВМЕСТИМЫХ МАГНИТОУПРАВЛЯЕМЫХ НАНОСИСТЕМ ДЛЯ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ
Бычкова А.В., Розенфельд М.А., Леонова В.Б., Сорокина О.Н., Коварский А.Л. 221

THE CREATION OF BIOCOMPATIBLE MAGNETICALLY TARGETED NANOSYSTEMS FOR A SMART DELIVERY OF THERAPEUTIC PRODUCTS
A.V. Bychkova, M.A. Rosenfeld, V.B. Leonova, O.N. Sorokina, A.L. Kovarski 221

РАЗРАБОТКА ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО МЕТОДА ЭКСПРЕСС-ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИБИОТИКА ОФЛОКСАЦИНА
Бызова Н.А., Жердев А.В., Еремин С.А., Lei H.-T., Sun Y., Дзантиев Б.Б.. 222

DEVELOPMENT OF IMMUNOCHROMATOGRAPHIC TEST SYSTEM FOR EXPRESS DETECTION OF ANTIBIOTIC OFLOXACIN
Byzova N.A., Zherdev A.V., Eremin S.A., Lei H.-T., Sun Y., Dzantiev B.B.. 223

СТРУКТУРА И СТАБИЛЬНОСТЬ ЛИПОСОМ В КОМПЛЕКСЕ С СОПОЛИМЕРОМ ПЭГ-ХИТОЗАН
Дейген И.М., Кудряшова Е.В., Кабанов А.В.. 223

STRUCTURE AND STABILITY OF LIPOSOMES IN COMPLEX WITH PEG-CHITOSAN CO-POLYMER
Deygen I.M., Koudriachova E.V., Kabanov A.V.. 224

СИНТЕЗ И АНТИВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ ЛИПОФИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ НУКЛЕОЗИДНЫХ ИНГИБИТОРОВ ОБРАТНОЙ ТРАНКСРИПТАЗЫ ВИЧ
Дьякова Л.Н., Шастина Н.С.. 225

SYNTHESIS AND ANTIVIRAL ACTIVITY OF LIPOPHILIC DERIVATIVES OF NUCLEOSIDE HIV REVERSE TRANSCRIPTASE INHIBITORS
D'yakova L.N., Shastina N.S.. 225

ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТА LYSK С ПОЛИКАТИОНАМИ МЕТОДОМ ИК СПЕКТРОСКОПИИ
Филатова Л.Ю., Донован Д.М., Беккер С.С., Кудряшова Е.В., Лебедев Д.Н., Новожилов И.А., Кабанов А.В., Клячко Н.Л. 226

INVESTIGATION OF THE INTERACTION OF THE ENZYME LYSK WITH POLYCATIONS BY IR SPECTROSCOPY
Filatova L.Yu., Donovan D.M., Becker S.C., Koudriachova E.V., Lebedev D.N., Novozylov I.A., Kabanov A.V., Klyachko N.L.. 226

ИССЛЕДОВАНИЕ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ И ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ КЛЕТОК NEURO-2a НА ПЛЕНКАХ УНТ, ПОЛУЧЕННЫХ МЕТОДОМ ОСАЖДЕНИЯ ИЗ ГАЗОВОЙ ФАЗЫ
Гайдученко И.А., Федоров Г.Е., Пресняков М.Ю., Домантовский А.Г., Суетина И.А., Подчерняева Р.Я., Бобринецкий И.И.. 227

INVESTIGATION OF THE VIABILITY AND PROLIFERATIVE ACTIVITY OF NEURO-2a CELLS ON THE CNT FILMS OBTAINED BY VAPOR DEPOSITION
I.A. Gayduchenko, G.E. Fedorov, M.Yu. Presnyakov, A.G. Domantovskii, I.A.Suetina, R.Ya. Podchernyaeva, I.I. Bobrinetskii 228

ВЛИЯНИЕ ОБРАБОТКИ ПЛАЗМОЙ H_2O_2 НА СВОЙСТВА ПОВЕРХНОСТИ ПОЛИГИДРОКСИАЛКАНОАТОВ
Николаева Е.Д., Гончаров Д. Б 228

EFFECT OF PLASMA H_2O_2 TREATMENT ON SURFACE PROPERTIES OF POLYHYDROXYALKANOATES
E.D. Nikolaeva, D.B. Goncharov 229

ХАРАКТЕРИСТИКА ПОЛИМЕРНЫХ МИКРОЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ РЕЗОРБИРУЕМЫХ ПОЛИЭФИРОВ ОКСИАЛКАНОВЫХ КИСЛОТ В КАЧЕСТВЕ ПЛАТФОРМЫ ДЛЯ ДЕПОНИРОВАНИЯ И ДОСТАВКИ ПРЕПАРАТОВ
Горева А.В., Шишацкая Е.И., Кузьмина А.М. 230

CHARACTERIZATION OF POLYMERIC MICROPARTICLES BASED ON RESORBABLE POLYESTERS OF OXYALKANOIC ACIDS AS A PLATFORM FOR DEPOSITION AND DELIVERY OF DRUGS
A.V. Goreva, E.I. Shishatskaya, A.M. Kuzmina 230

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ СОРБЦИИ И ДЕСОРБЦИИ АНТИБИОТИКОВ РАЗНЫХ ГРУПП НА МНОГОСЛОЙНЫХ УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБКАХ ТИПА «ТАУНИТ»
Ильина М.В., Тимофеева А.В., Сапурина И.Ю., Иванова В.Т., Бурцева Е.И., Махмудова Н.Р., Катруха Г.С.. 231

INVESTIGATION OF SORPTION AND DESORPTION PROCESSES OF DIFFERENT ANTIBIOTICS ON MULTIWALLED CARBON NANOTUBES TYPE «TAUNIT»
Ilyna M.V., Timofeeva A.V., Sapurina I.Yu., Ivanova V.T., Burtseva E.I., Mahmudova N.R., Katrukha G.S. 232

ВЛИЯНИЕ ЛИПОСОМАЛЬНЫХ АНТИМИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНА MET3 В БИОПЛЕНКАХ ГРИБОВ CANDIDA SPP
Иванова Н.Н., Мавров Г.И.. 232

INFLUENCE OF THE LIPOSOMAL ANTIMICROBIC PREPARATIONS ON THE GENE MET3 EXPRESSION IN BIOFILM OF CANDIDA SPP
Ivanova N.N., Mavrov G.I. 233

ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫЕ МИКРОСЕНСОРЫ – НОВОЕ СРЕДСТВО ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ МЕТАБОЛИТОВ
Казакова Л.И., Сухоруков Г.Б., Шабарчина Л.И. 233

POLYELECTROLYTE MICROSENSORS AS A NEW TOOL FOR METABOLITES' DETECTION
Lyubov I. Kazakova, Gleb B. Sukhorukov, Lyudmila I. Shabarchina. 234

РАЗРАБОТКА ЛИПОСОМАЛЬНЫХ И ЭМУЛЬСИОННЫХ СИСТЕМ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ НА ОСНОВЕ КАТИОННЫХ ДИМЕРНЫХ АМФИФИЛОВ
Колоскова О.О., Кононова К.И., Буданова У.А., Себякин Ю.Л. 234

DEVELOPMENT OF LIPOSOMAL AND EMULSION DRUG DELIVERY SYSTEMS BASED ON CATIONICDIMERIC AMPHIPHILES
Koloskova O.O., Kononova K.I., Budanova U.A., Sebyakin Yu.L. 235

МНОЖЕСТВЕННЫЕ W1/O/W2 ЭМУЛЬСИИ КАК СРЕДСТВО ТРАНСДЕРМАЛЬНОЙ ДОСТАВКИ БАС: ВЛИЯНИЕ СОСТАВА W1 НА ВЯЗКОСТЬ ЭМУЛЬСИИ
Кононова Е.А., Сорокоумова Г.М., Оксинойд О.Э. 236

MULTIPLE W1/O/W2 EMULSIONS AS TRANSDERMAL DRUG CARRIER SYSTEM: INFLUENCE OF W1 CONSTITUTION ON VISCOSITY OF EMULSION
Kononova E.A., Sorokoumova G.M., Oksinoid O.E. 236

РЕЗОРБИРУЕМЫЕ ПОЛИМЕРНЫЕ МИКРОЧАСТИЦЫ В КАЧЕСТВЕ МАТРИКСОВ ДЛЯ КОНТРОЛИРУЕМОЙ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ
Кузьмина А.М., Горева А.В. 237

RESORBABLE POLYMERIC MATRIX AS THE PROLONGED FORM FOR ENCAPSULATING THE CYTOSTATIC DRUG
Kuzmina A.M., Goreva A.V. 238

АДРЕСНЫЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ ЛИПОСОМЫ С ЛИПОФИЛЬНЫМИ ПРОЛЕКАРСТВАМИ И УГЛЕВОДНЫМ ЛИГАНДОМ СЕЛЕКТИНОВ
Кузнецова Н.Р., Степанова Е.В., Бовин Н.В., Водовозова Е.Л. 238

SELECTIN-TARGETED ANTITUMOR LIPOSOMES LOADED WITH LIPOPHILIC PRODRUGS
Kuznetsova N.R., Stepanova E.V., Bovin N.V., and Vodovozova E.L.. 239

ПОЛУЧЕНИЕ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ЦИНКА И ВОЗМОЖНОСТИ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ
Кузовкова А.А., Яровая О.В., Киенская К.И., Авраменко Г.В. 240

PREPARATION OF ZINC OXIDE NANOPARTICLES AND THEIR APPLICATION POSSIBILITIES
Kuzovkova A.A., Yarovaya O.V., Kienskaya K.I., Avramenko G.V. 240

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ НА СТАБИЛЬНОСТЬ ФЕРМЕНТА LysK, ЛИЗИРУЮЩЕГО КЛЕТКИ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, БЛОК-СОПОЛИМЕРА $mPEG_{5K}$-b-$PLKC_{30}$
Лебедев Д.Н., Филатова Л.Ю., Новожилов И.А., Кабанов А.В., Клячко Н.Л. 241

STUDY OF BLOCK COPOLYMER $mPEG_{5K}$-b-$PLKC_{30}$ INFLUENCE ON STABILITY OF LysK – *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* LYTIC ENZYME
Dmitry N. Lebedev, Lyubov Yu. Filatova, Igor A. Novozilov, Alexander V. Kabanov, Natalia L. Klyachko 242

БИОПОЛИМЕРНЫЕ ПОКРЫТИЯ С КОМПЛЕКСНОЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ ДЛЯ МОДИФИЦИРОВАНИЯ ИМПЛАНТИРУЕМЫХ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ, КОНТАКТИРУЮЩИХ С КРОВЬЮ
Лосева С.В., Новикова С.П. 242

BIOPOLYMERS COATINGS WITH COMPLEX BIOLOGICAL ACTIVITY FOR MODIFICATION OF BLOOD- CONTACTING IMPLANTABLE MATERIALS
S.V. Loseva, S.P. Novikova 243

ВЛИЯНИЕ ЛИПОСОМАЛЬНОГО КАРДИОЛИПИНА НА РОСТ И ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ И ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ
Микулович Ю.Л., Гиляров Д.А., Сорокоумова Г.М., Селищева А.А., Швец В.И., Северинов К.В. 243

THE INFLUENCE OF LIPOSOMAL CARDIOLIPIN ON GROWTH AND SURVIVAL OF GRAM-POSITIVE AND GRAM-NEGATIVE BACTERIA
Mikulovich J.L., Gilyarov D.A., Sorokoumova G.M., Selishcheva A.A., Shvets V.I., Severinov K.V. 244

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ КОНТУЗИОННОЙ ТРАВМЫ СПИННОГО МОЗГА У КРЫС
Морозова А.Ю., Нуколова Н.В., Киржанова Е.А., Печенкин М.А., Мустафина Т.Б., Маникам Д.С., Чехонин В.П., Клячко Н.Л., Кабанов А.В. 245

BIOLOGICAL EFFECTS OF NANO-COMPLEXES BASED ON SUPEROXIDE DISMUTASE IN THE ACUTE CONTUSION SPINAL CORD INJURY IN RATS
Morozova A.Y., Nukolova N.V., Kirzhanova E.A., Pechenkin M.A., Mustafina T.B., Manickam D.S., Chekhonin V.P., Klyachko N.L., Kabanov A.V.. 246

РАЗРАБОТКА ПОДХОДОВ К ПОЛУЧЕНИЮ АНТИОКСИДАНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ГЛУТАТИОНПЕРОКСИДАЗЫ ТИПА I
Панина И.С., Филатова Л.Ю., Кабанов А.В., Клячко Н.Л. 247

DEVELOPING APPROACHES TO OBTAINING THE ANTIOXIDANT PREPARATION BASED ON GLUTATHIONE PEROXIDASE I
Panina I.S., Filatova L.Yu., Kabanov A.V., Klyachko N.L. 248

УПАКОВКА ЧУЖЕРОДНОГО ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА В ИСКУССТВЕННЫЕ ВИРУСНЫЕ ЧАСТИЦЫ
Петрова Е.К., Никитин Н.А., Архипенко М.В., Карпова О.В., Атабеков И.Г. 248

ARTIFICIAL VIRAL PARTICLES FOR GENETIC FOREIGN MATERIAL PACKAGING
Petrova E.K., Nikitin N.A., Arkhipenko M.V., Karpova O.V., Atabekov J.G. 249

СИНТЕЗ НОВЫХ КАТИОННЫХ АМФИФИЛОВ НА ОСНОВЕ ДИЭФИРОВ *L*-ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ
Пиманова Е.В., Колоскова О.О., Буданова У.А., Себякин Ю.Л. 249

SYNTHESIS OF NEW CATIONIC AMPHIPHILES BASED ON DIESTERS OF L-GLUTAMIC ACID
PimanovaE.V., Koloskova O.O., Budanova U.A., Sebyakin Yu.L.. 250

МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ДИЗАЙН ОЛИГОНУКЛЕОТИДНЫХ ЗОНДОВ ДЛЯ МУЛЬТИПАРАМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЕНОВ β -ЛАКТАМАЗ МЕТОДОМ СЭНДВИЧ-ГИБРИДИЗАЦИИ НА ДНК-МИКРОЧИПАХ
Поболелова Ю.И., Уляшова М.М., Рубцова М.Ю., Егоров А.М. 251

MOLECULAR DESIGN OF OLIGONUCLEOTIDE PROBES FOR MULTIPARAMETRIC DETERMINATION OF β -LACTAMASE GENES BY SANDWICH HYBRIDIZATION ON DNA MICROARRAYS
Pobolelova Yu.I., Ulyashova M.M., Rubtsova M.Yu., and Egorov A.M. 251

ИЗМЕНЕНИЕ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ЛЕКАРСТВ, СНАБЖЕННЫХ ФОСФОЛИПИДНОЙ НАНОСИСТЕМОЙ ТРАНСПОРТА
Половинкина А.А., Ипатова О.М., Прозоровский В.Н., Широнин А.В., Стрекалова О.С. . . .252

CHANGES OF THE PHARMACOKINETIC PARAMETERS OF DRUGS IN DELIVERY NANOSYSTEM ON THE BASE OF PHOSPHOLIPIDS
Polovinkina A.A., Ipatova O.M., Prozorovskyi V.N., Shironin A.V., Strekalova O.S. 253

Т1 КОНТРАСТНЫЙ АГЕНТ НА ОСНОВЕ ПОЛИЛИЗИНА И ХЕЛАТНОГО КОМПЛЕКСА ГАДОЛИНИЙ-ДТПА ДЛЯ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ГЛИОМЫ С6
Сандалова Т.О., Нуколова Н.В., Абакумов М.А., Гриненко Н.Ф., Юсубалиева Г.М., Кабанов А.В.и Чехонин В.П. 253

T1 CONTRAST AGENT BASED ON SPECIFIC MONOCLONAL ANTIBODY TO CX43 MODIFIED WITH POLYLYSINE (PLL) AND CHELATE COMPLEX OF GADOLINIUM (III)-DTPA FOR VISUALIZATION OF TUMOR CELLS OF GLIOMA C6
Sandalova T.O., Nukolova N.V., Abakumov M.A., Grinenko N.F., Yusubalieva G.M., Kabanov A.V. and Chekhonin V.P. 255

ФОСФОЛИПИДНАЯ НАНОСИСТЕМА ТРАНСПОРТА ДЛЯ ПРЕПАРАТОВ РИФАМИЦИНОВОГО РЯДА
Санжаков М.А., Медведева Н.В., Прозоровский В.Н., Ипатова О.М. 256

PHOSPHOLIPID TRANSPORT NANOSYSTEM FOR RIFAMYCIN DRUGS
Sanzhakov M.A., Medvedeva N.V., Prozorovskiy V.N., Ipatova O.M. 257

СОЗДАНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ НАНОСТРУКТУР, ВКЛЮЧАЮЩИХ ПЕРОКСИДАЗУ РЕДЬКИ ЧЁРНОЙ
Глазова Н.В., Серкова А.Н.. 257

PREPARATION AND INVESTIGATION OF NANOSTRUCTURES COMPRISING BLACK-RADISH PEROXIDASE
Glazova N.V., Serkova A.N. 258

ТВЕРДОФАЗНЫЙ СИНТЕЗ ПОЛИАМИДНЫХ МИМЕТИКОВ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ. КОНТРОЛЬ MALDI-TOF-MACC-СПЕКТРОМЕТРИЕЙ
Ширяева М.В., Кириллова Ю.Г., Смирнов И.П., Позмогова Г.Е. 258

SOLID PHASE SYNTHESIS OF POLYAMIDE NUCLEIC ACID MIMICS. MONITORING BY MALDI-TOF-MASS-SPECTROMETRY
Shiryaeva M.V., Kirillova Yu.G., Smirnov I.P., Pozmogova G.E. 259

НОВЫЕ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИЕ НАНОМАТЕРИАЛЫ ИЗ КЛАССА ЧЕТВЕРТИЧНЫХ АММОНИЕВЫХ СОЛЕЙ
Шмакова Н.С., Панкратов В.А., Сдобникова О.А. 260

NEW DISINFECTANTS NANOMATERIALS FROM THE CLASS OF QUATERNARY AMMONIUM SALTS
Shmakova N.S., Pankratov V.A., Sdobnikova O.A.. 260

СИНТЕЗ МАЛОТОКСИЧНЫХ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА С ПРИМЕНЕНИЕМ ПРИРОДНОГО СТАБИЛИЗАТОРА
Сосенкова Л.С., Егорова Е.М. 261

SYNTHESIS OF LOW-TOXIC SILVER NANOPARTICLES WITH NATURAL STABILIZER
Sosenkova L.S., Egorova E.M. 262

РАЗРАБОТКА ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ ТЕСТ-СИСТЕМ ДЛЯ ЭКСПРЕСС-ДИАГНОСТИКИ В МУЛЬТИЗОННОМ ФОРМАТЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК В КАЧЕСТВЕ МАРКЕРОВ
Таранова Н.А., Берлина А.Н., Жердев А.В., Дзантиев Б.Б.. 263

DEVELOPMENT OF THE LATERAL FLOW TEST-SYSTEMS FOR RAPID DIAGNOSTICS IN MULTI-ZONE FORMAT USING QUANTUM DOTS AS LABELS
Taranova N.A., Berlina A.N., Zherdev A.V., Dzantiev B.B. 263

ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫЙ ФЕРМЕНТНЫЙ МИКРОДИАГНОСТИКУМ – НОВОЕ СЛОВО В КЛИНИКО-БИОХИМИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ
Тихоненко С.А, Дубровский А,В, Сабурова Е.А, Шабарчина Л.И. 264

POLYELECTROLYTE ENSYM-BEARING MICRODIAGNOSTICUM – A NEW STEP IN CLINICAL-BIOCHEMISTRY ANALYSIS
Sergey A. Tikhonenko, Alexei V. Dubrovsky, Ekaterina A. Saburova, Lyudmila I. Shabarchina . .265

СОЗДАНИЕ КАНДИДАТНЫХ ВАКЦИН НА ОСНОВЕ СТРУКТУРНО МОДИФИЦИРОВАННЫХ ВИРУСОВ РАСТЕНИЙ
Трифонова Е.А., Никитин Н.А., Шевелева А.А, Чирков С.Н., Карпова О.В., Атабеков И.Г.. 265

THE NOVEL TYPE OF CANDIDATE VACCINES BASED ON STRUCTURAL REMODELING PLANT VIRUSES
Trifonova E.A., Nikitin N.A., Sheveleva A.A., Chirkov S.N., Karpova O.V., Atabekov J.G.. 266

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЫСВОБОЖДЕНИЯ ДОКСОРУБИЦИНА ИЗ НАНОЧАСТИЦ СУКЦИНОИЛ-ХИТОЗАНА
Зубарева А.А., А.В. Ильина, Свирщевская Е.В., Варламов В.П. 266

IN VITRO RELEASE OF A DOXORUBICIN FROM NANOPRATICLES FORMED FROM SUCCINOYL-CHITOSAN
Zubareva A.A., Ilyina A.V., Svirshchevskaya E.V.,Varlamov V.P. 267

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

НОВЫЕ ШТАММЫ БАКТЕРИЙ, СИНТЕЗИРУЮЩИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ МАГНИТНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ
Дзюба М.В. 268

THE NEW STRAINS OF BACTERIA SYNTHESIZING INTRACELLULAR MAGNETIC NANOPARTICLES
M.V. Dzuba. 269

АНТИМИКРОБНЫЕ НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫЕ КОМПОЗИЦИИ
Федотова А.В., Фролова Ю.В., Савченко Н.А. 269

THE ANTIMICROBIAL COMPOSITION OF NANOSTRUCTURED
A.V. Fedotova, Y.V. Frolova, N.A. Savchenko 270

О ПРИМЕНЕНИИ АУТОЛИТИЧЕСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ В НАНОДИАГНОСТИКЕ
Грибанов Г.А.. 270

ON THE APPLICATION OF AUTOLYTIC TECHNOLOGIES IN NANODIAGNOSTIKS
Gribanov G.A. 271

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОСТАТ-СПЕЦИФИЧЕСКОГО АНТИГЕНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ НА КРЕМНИЕВЫХ КАНТИЛЕВЕРАХ
Игнатенко О.В., Рубцова М.Ю., Преснова Г.В., Григоренко В.Г., Синицина О.В., Горелкин П.В., Яминский И.В., Егоров А.М. 272

DETERMINATION OF PROSTATE-SPECIFIC ANTIGEN IN HUMAN SERUM USING SILICON CANTILEVERS
Ignatenko O.V., Rubtsova M.Yu., Presnova G.V., Grigorenko V.G., Sinitsyna O.V., Gorelkin P.V., Yaminsky I.V., Egorov A.M.. 272

ИННОВАЦИОННЫЕ БИОНАНОТЕХНОЛОГИИ В ПРОИЗВОДСТВО
Иванов А.А.. 273

IMPLEMENTATION OF BIOTECHNOLOGICAL INNOVATIONS IN PRODUCTION
A.A.Ivanov 273

ИНГИБИТОРЫ АНГИОТЕНЗИН-ПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА В СОСТАВЕ НАНОЧАСТИЦ КАК ПЕРСПЕКТИВНОЕ СРЕДСТВО ДЛЯ СНИЖЕНИЯ ВНУТРИГЛАЗНОГО ДАВЛЕНИЯ
Никольская И.И., Шимановская Е.В., Безнос О.В., Павленко Т.А., Биневский П.В., Кабанов А.В., Чеснокова Н.Б., Клячко Н.Л., Кост О.А. 274

INHIBITORS OF ANGIOTENSIN-CONVERTING ENZYME WITHIN NANOPARTICLES AS EFFECTIVE DRUGS FOR THE DECREASING OF INNER OCULAR PRESSURE
Nikolskaya I.I., Shimanovskaya E.V., Beznos O.V., Pavlenko T.A., Binevski P.V., Kabanov A.V., Chesnokova N.B., Klyachko N.L., Kost O.A. 275

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВОВИРУСНОЙ АКТИВНОСТИ БИОКОМПОЗИТОВ, СОСТОЯЩИХ ИЗ АДРЕСНЫХ ДНК И ПЕПТИДИЛ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ, ИММОБИЛИЗОВАННЫХ НА TIO_2-НАНОЧАСТИЦАХ
Мазуркова Н.А., Макаревич Е.В., Ибрагимова Ж.Б., Мазурков О.Ю., Зарытова В.Ф. 275

STUDIES OF ANTIVIRAL ACTIVITY OF BIOCOMPOSITES COMPOSED OF TARGETED DNA AND PEPTIDIL NUCLEIC ACIDS IMMOBILIZED ON TIO_2-NANOPARTICLES
Mazurkova N.A., Makarevich E.V., Ibragimova Zh.B., Mazurkov O.Yu., Zarytova V.F.. 276

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНСТАНЫ ДИССОЦИАЦИИ ИОНОГЕННОЙ ГРУППЫ СТАБИЛИЗАТОРА НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА
Орджоникидзе К.Г., Егорова Е.М. 277

DETERMINATION OF THE DISSOCIATION CONSTANT OF IONOGENIC GROUP FOR SILVER NANOPARTICLES STABILIZER
Ordzhonikidze K.G, Egorova E.M. 277

МЕТОД ИДЕНТИФИКАЦИИ ГЕНОВ НА КРЕМНИЕВЫХ МИКРОЧИПАХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА В КАЧЕСТВЕ МЕТКИ
Преснова Г.В., Рубцова М.Ю., Преснов Д.Е., Григоренко В.Г., Игнатенко О.В., Егоров А.М. 278

METHOD FOR IDENTIFYING GENES ON SILICON MICROCHIPS USING GOLD NANOPARTICLES AS LABELS
Presnova G.V., Rubtsova M.Yu., Presnov D.E., Grigorenko V.G., Ignatenko O.V., Egorov A.M. 279

ПРИМЕНЕНИЕ АППАРАТА ТЕНЗОРНОЙ АЛГЕБРЫ В МЕДИЦИНСКИХ НАНОБИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ РАЗРАБОТКАХ
Раткин Л.С. 279

APPLICATIONS OF TENSOR ALGEBRA FOR MEDICAL NANOBIOTECHNOLOGICAL RESEARCHES
Rathkeen L.S. 280

АНТИСЕПТИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ И ТЕСТ-СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ Ag И Au, СТАБИЛИЗИРОВАННЫХ СОПОЛИМЕРАМИ МАЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ
Самойлова Н.А., Курская Е.А., Краюхина М.А., Пискарев В.Е., Аскадский А.А., Ямсков И.А. 280

ANTISEPTIC MATERIALS AND TEST SYSTEMS BASED ON Ag AND Au NANOPARTICLES STABILIZED WITH MALEIC ACID COPOLYMERS
Samoilova N.A., Kurskaya E.A., Krayuhina M.A., Piskarev V.E., Askadsky A.A., Yamskov I.A. 281

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ КОСМЕТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА В СИСТЕМЕ IN VITRO
Шестопалова Е.М., Рожков А.А., Рожкова О.Ю., Хрипко Ю.И. 281

STUDY OF THE EFFICIENCY AND SAFETY OF A COSMETIC PREPARATION IN VITRO
Shestopalova E.M., Rozhkov A.A., Rozhkova O.A., Khripko Yu.I. 282

НОВЫЙ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНЫЙ МЕТОД СКРИНИНГА АКТИВНОСТИ ЦЕЛЛОБИОЗОДЕГИДРОГЕНАЗЫ, ОСНОВАННЫЙ НА ОБРАЗОВАНИИ *IN SITU* БЕРЛИНСКОЙ ЛАЗУРИ
Васильченко Л.Г., Людвиг Р., Ершевич О.П., Хальтрих Д., Карапетян К.Н., Рабинович М.Л. 283

A NOVEL HIGH-THROUGHPUT SCREENING ASSAY FOR CELLOBIOSE DEHYDROGENASE ACTIVITY BASED ON *IN SITU* FORMATION OF PRUSSIAN BLUE
Vasilchenko L.G., Ludwig R., Yershevich O.P., Haltrich D., Karapetyan K.N., Rabinovich M.L. 283

СЕКЦИЯ 6. «ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ БИОТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ВЕТЕРИНАРИИ»
SECTION 6 “PHARMACEUTICAL BIOTECHNOLOGY IN VETERINARY MEDICINE”

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

НАУЧНОЕ ОБОСНОВАНИЕ СОЗДАНИЯ И РАЗВИТИЯ РЕГИОНАЛЬНЫХ БИОФАРМПРЕДПРИЯТИЙ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ АПК РФ
Самуйленко А.Я., Беро И.Л., Гринь С.А., Еремец В.И., Раевский А.А., Пухова Н.М. 285

SCIENTIFIC GROUND OF CREATION AND DEVELOPMENT OF REGIONAL BIOPHARMPLANTS TO IMPROVE THE EFFICIENCY OF THE AGROINDUSTRIAL COMPLEX OF THE RUSSIAN FEDERATION
Samujlenko A.J., Bero I.L., Grin S.A.., Eremets V.I., Raevsky A.A., Pukhova N.M.. 286

ОБРАТНАЯ ГЕНЕТИКА В БИОТЕХНОЛОГИИ
Забережный А.Д., Алипер Т.И., Непоклонов Е.А.. 286

REVERSE GENETICS IN BIOTECHNOLOGY
Zaberezhny A.D., Aliper T.I., Nepoklonov E.A. 287

ПРИМЕНЕНИЕ СОВРЕМЕННЫХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕТОДОВ В ВЕТЕРИНАРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ
Гребенникова Т.В., Алипер Т.И., Непоклонов Е.А. 288

THE APPLICATION OF MODERN MOLECULAR TECHNIQUES IN VETERINARY DIAGNOSTICS
Grebennikova T.V., Aliper T.I., Nepoklonov E.A. 289

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОГАЩЕНИЕ КОРМОВ
Хамидова Х.М., Азимова Н.Ш., Зухритдинова Н.Ю., Байбаев Б.Г. 289

MICROBIOLOGICAL ENRICHMENT OF FORAGE
Kh.M. Khamidova, N.Sh. Azimova, N.Y. Zukhritdinova, B.G. Baybaev 290

РАЗРАБОТКА И МОДЕЛИРОВАНИЕ УПРАВЛЯЕМЫХ ПРОЦЕССОВ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ БИОФАРМПРЕПАРАТОВ
Раевский А.А., Самуйленко А.Я. 291

DEVELOPMENT AND MODELING OF CONTROLLED PROCESSES OF MICROORGANISMS CULTIVATION PRODUCING BIOLOGICAL AND PHARMACEUTICAL PREPARATIONS
Raevskiy A.A., Samuilenko A. Ja 291

ОБЕСПЕЧЕНИЕ КАЧЕСТВА ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ВЕТЕРИНАРИИ
Еремец Н.К., Самуйленко А.Я., Неминущая Л.А., Скотникова Т.А., Люлькова Л.С., Бобровская И.В., Провоторова О.В., Шубина Е.А. 292

MAINTENANCE OF QUALITY OF IMMUNOBIOLOGICAL PREPARATIONS FOR VETERINARY SCIENCE
Eremets N.K., Samujlenko A.J., Neminushchaja L.A., Skotnikova T.A., Ljulkova L.S., Bobrovskaya I.V., Provotorova O.V, Shubina E.A. 293

СОЗДАНИЕ И ПРИМЕНЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА БИОЛОГИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ
Пухова Н.М., Самуйленко А.Я., Еремец Н.К., Красуткин С.Н., Елаков А.Л., Бобровская И.В. 294

CREATION AND APPLICATION OF BIOLOGICAL STANDARDS FOR THE ESTIMATION OF QUALITY OF BIOLOGICAL PRODUCTION
Puhova N.M., Samujlenko A.J., Eremets N.K., Krasutkin S.N., Elakov A.L., Bobrovskaja I.V. . .294

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ХИТОЗАНА И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ В СОСТАВЕ ВЕТФАРМ-ПРЕПАРАТОВ
Фролова М.А., Албулов А.И., Самуйленко А.Я., Варламов В.П., Гринь А.В., Буханцев О.В. 295

PERSPECTIVES OF CHITOSAN AND ITS DERIVATIVES APPLICATION IN VETERINARY PHARMACY
Frolova M.A., Albulov A.I., Samuylenko A.Y., Varlamov V.P., Grin A.V., Buhantsev O.V. 296

ЭМБРИОНАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕН-НЫХ ЖИВОТНЫХ КАК НОВАЯ КЛЕТОЧНАЯ МОДЕЛЬ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ
Савченкова И.П. 296

EMBRYONIC STEM CELLS OF AGRICULTURAL ANIMALS AS NEW CELLULAR MODEL FOR PHARMACOLOGICAL BIOTECHNOLOGY
Savchenkova I.P. 297

ВЛИЯНИЕ МАННОЗОСОДЕРЖАЩИХ ГИДРОЛИЗАТОВ НА КОРРЕКЦИЮ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ДИСБИОЗА
Черемушкина И.В., Корнеева О.С. 298

THE INFLUENCE OF MANNOSE-CONTAINING HYDROLYZATES ON THE CORRECTION OF EXPERIMENTAL DYSBIOSIS
Cheremushkina I.V., Korneyeva O.S. 298

УНИЧТОЖЕНИЕ ИНФИЦИРОВАННЫХ ОТХОДОВ ФАРМПРЕДПРИЯТИЙ ТЕРМИЧЕСКИМ МЕТОДОМ
Денисов А.А., Тарасова И.И., Чичилеишвили Г.Д. 299

DESTRUCTION OF INFECTION WASTES OF PHARMACEUTICAL COMPANIES BY THERMAL METHOD
Denisov A.A., Tarasova I.I., Chichileishvili G.D. 300

ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР В ОБЛАСТИ БИОТЕХНОЛОГИЙ
Иванов А.В., Чернов А.Н.. 300

THE FEDERAL CENTRE AND BIOTECHNOLOGIES
A.V. Ivanov, Chernov A.N. 301

РАЗВИТИЕ ТЕХНОЛОГИИ РАЗРАБОТКИ И ПРОИЗВОДСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ — ОТ ИДЕИ ДО КОНЕЧНОГО ПРОДУКТА
Захарченко О.С.. 302

ПОСТЕРЫ
POSTERS

ВОССТАНОВЛЕНИЕ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ АКТИНОМИЦЕТОВ-ПРОДУЦЕНТОВ ПРЕПАРАТОВ ПАРАЗИТОЦИДНОГО, АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО И ФУНГИЦИДНОГО ДЕЙСТВИЯ, ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ВЕТЕРИНАРИИ.
Филиппова С.Н., Сургучева Н.А., Гальченко В.Ф. 303

RESTORING OF THE VIABILITY OF ACTINOMYCETES PRODUCING PARASITICIDES, FUNGICIDES, AND ANTIBACTERIAL DRUGS APPLICABLE TO VETERINARY MEDICINE
Filippova S.N., Surgucheva N.A., Galchenko V.F. 303

ШРОТ ИЗ СЕМЯН ХЛОПЧАТНИКА С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ (+)-ГОССИПОЛА В КАЧЕСТВЕ КОРМА ДЛЯ БРОЙЛЕРНЫХ КУР
Голубенко З., Ахунов А., Пшеничнов Е., Вшивков С., Намазов Ш., Хаитов В., Стипановик Р. 304

COTTONSEED MEAL WITH HIGH LEVEL OF (+)- GOSSYPOL AS DIET FOR BROILERS
Golubenko Z., Akhunov A., Pshenichnov E., Vshivkov S., Namazov Sh., Khaitov V., Stipanovic R.D.. 304

РАЗРАБОТКА БИОТЕХНОЛОГИИ ПРЕБИОТИКОВ НА ОСНОВЕ ФУКОЗОСОДЕРЖАЩИХ ГИДРОЛИЗАТОВ И ИССЛЕДОВАНИЕ ИХ БИФИДОГЕННЫХ СВОЙСТВ
Кирьянова С.В., Корнеева О.С. 305

THE DEVELOPMENT OF BIOTECHNOLOGY OF PREBIOTICS BASED ON FUCOSE-CONTAINED HYDROLIZATES AND THE RESEARCH INTO THEIR BIFIDOGENIC PROPERTIES
S.V. Kirianova and O.S. Korneeva 306

АНТАГОНИСТИЧЕСКАЯ СПОСОБНОСТЬ АКТИНОМИЦЕТА
Саттарова Р.К., Хамидова Х.М., Ходжибаева С.М. 306

ANTAGONISTIC ABILITY OF ACTINOMYCETE
R.K. Sattarova, Kh.M. Khamidova, S.M. Khodjibaeva 307

КОМПОЗИЦИОННЫЙ ВЕТЕРИНАРНЫЙ ПРЕПАРАТ «БЕТУЛИН В УГЛЕРОДНОЙ МИКРОСФЕРЕ»
Седанова А.В., Пьянова Л.Г., Лавренов А.В., Лихолобов В.А.. 308

УМЕНЬШЕНИЕ РИСКОВ ЗАГРЯЗНЕНИЯ МИКОТОКСИНАМИ ПРОДОВОЛЬСТВЕННОГО СЫРЬЯ
Валиуллин Л.Р., Семенов Э.И., Тремасов М.Я., Иванов А.А.. 309

REDUCTION OF FOOD CONTAMINATION WITH MYCOTOXINS
Valiullin L.R., Semenov E.I., Tremasov M.Ya., Ivanov A.A.. 310

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ УЛЬТРАЗВУКА ДЛЯ УПРАВЛЕНИЯ ПРОЦЕССАМИ РОСТА В БИОПЛЕНКАХ
Акопян В.Б., Загустина Н.А., Филатова В.А.. 311

PROSPECTS OF ULTRASOUND USING FOR TO CONTROL THE GROWTH OF BIOFILMS
Akopyan V.B., Zagustina N.A., Filatova, V.A. 311

КОМПЛЕКС ПРЕПАРАТОВ РНК ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ПРОТИВОИНФЕКЦИОННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ЖИВОТНЫХ
Аликин Ю.С. 312

THE COMPLEX PREPARATIONS OF RNA FOR CREATION ANTIINFECTIOUS RESISTANCE OF THE ANIMALS
Alikin Yu. S. *313*

ДЕЙСТВУЮЩЕЕ НАЧАЛО ПРОТИВОМИКРОБНОГО ЭФФЕКТА УЛЬТРАЗВУКОВЫХ АЭРОЗОЛЕЙ ВОДНОЙ СУСПЕНЗИИ СМОЛЫ СОСНЫ
Бамбура М.В., Браславец В.Р., Пашинин А.Е. 313

ACTIVE PRINCIPLE OF THE ANTIMICROBIAL EFFECT OF PINE TAR AQUEOUS SUSPENSION ULTRASONIC AEROSOLS
Bambura M.V., Braslavets V.R., Pashinin A.E. 314

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА ВИРУСА ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА
Булгаков А.Д., Валихов А.Ф. 314

MOLECULAR DIAGNOSIS OF LEUKEMIA VIRUS IN CATTLE
Bulgakov A.D., Valihov A.F. 315

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НАНОПОРОШКОВ МЕТАЛЛОВ ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ БРОЙЛЕРОВ
Фаткуллина Л.Д., Бурлакова Е.Б. 316

USING OF METAL NANOPOWDERS FOR RAISING OF BROILERS
Fatkullina L.D., Burlakova E.B. 317

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К НЕСТЕРОИДНЫМ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ PGH-СИНТАЗЫ РАЗНЫХ ОРГАНОВ ОВЕЦ
Карпенюк Т.А., Бейсембаева Р.У., Гончарова А.В., Табыс Д. 317

COMPARATIVE RESEARCH OF SENSITIVITY TO NON-STEROID ANTI-INFLAMMATORY PREPARATIONS OF PGH-SYNTHASE FROM DIFFERENT ORGANS OF SHEEP
Karpenyuk T.A., Bejsembaeva R.U, Goncharova A.V., Tabys D. 318

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ УВЕЛИЧЕНИЯ БИОМАССЫ ПЕРЕВИВАЕМЫХ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ *IN VITRO*
Плотникова Э.М, Хамзина Е.Ю., Кириллова Ю.М., Глаголева И.С., Хусаенов Р.Х. 319

SOME ASPECTS ON INCREASING THE BIOMASS OF *IN VITRO* PASSED CELL LINES
Plotnikova E.M., Khamzina E.J., Kirillova J.M., Glagoleva I.S., Husaenov R.H. 319

ГРИБЫ РОДА CANDIDA ДЛЯ УТИЛИЗАЦИИ ОСАДКОВ СТОЧНЫХ ВОД
Матросова Л.Е., Иванов А.А., Тремасов М.Я. 319

FUNGI OF CANDIDA OF THE GENUS FOR SEWAGE UTILIZATION
Matrosova L.E., Ivanov A.A., Tremasov M. Ya. 320

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРЕБИОТИКОВ В СОСТАВЕ КОМБИКОРМА ДЛЯ ОСЕТРОВЫХ РЫБ
Новикова Ю.С., Корнеева О.С., Кирьянова С.В., Щербакова К.С. 321

PROSPECTS OF USING OF PREBIOTICS IN THE MIXED FODDER FOR STURGEON
Yulia S. Novikova, Olga S. Korneyeva, Svetlana V. Kiryanova, Kristina S. Sherbakova. 321

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ ДЛЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ РАЗЛИЧНЫХ ШТАММОВ БРУЦЕЛЛ
Панкова Е.В., Плотникова Э.М. 322

USE OF MONOCLONAL ANTIBODIES FOR BRUCELLA STRAINS DIFFERENTIATION
Pankova E.V., Plotnikova E.M. 323

РЕАКЦИЯ ПЕРЕВИВАЕМОЙ ЛИНИИ КЛЕТОК MDBK НА ИЗМЕНЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ CO_2
Плотникова Э.М., Хамзина Е.Ю., Кириллова Ю.М., Глаголева И.С. 323

MDBK CELLS REACTION TO CHANGE OF CO_2 CONCENTRATION
Plotnikova E.M., Khamzina E.J., Kirillova J.M., Glagoleva I.S. 324

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ПОЛУЧЕНИЯ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА
ПлотниковаЭ.М., Кириллова Ю.М., Хамзина Е.Ю, Глаголева И.С. 325

IMPROVEMENT OF CONDITIONS TO PRODUCE MARROW STEM CELLS
Plotnikova E.M., Kirillova J.M., Khamzina E.J., Glagoleva I.S. 325

РАЗРАБОТКА АНТИМИКРОБНЫХ ПЛЕНОК НА ОСНОВЕ ПОЛИСАХАРИДОВ
Сдобникова О.А., Самойлова Л.Г., Панина Т.В. 326

DEVELOPMENT OF ANTIMICROBIAL FILMS BASED ON POLYSACCHARIDES
O.A. Sdobnikova, L.G. Samoilova, T.V. Panina 327

СЕРИЯ СПРЕЕВ С АНТИМИКРОБНЫМИ СВОЙСТВАМИ НА ОСНОВЕ СМОЛЫ СОСНЫ, ПОЛУЧЕННОЙ МЕТОДОМ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ЭКСТРАКЦИИ
Ступин А.Ю., Чубатова О.И., Хаматаев Р.В. 327

A SERIES OF SPRAYS WITH ANTIMICROBIAL PROPERTIES BASED ON OBTAINED BY ULTRASONIC EXTRACTION PINE TAR
Stupin A.Yu, Chubatova O.I., Khamataev R.V. 328

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК ЖИВОТНЫХ КАК СУБСТРАТА ДЛЯ РАЗМНОЖЕНИЯ ВИРУСОВ
Винаров А.Ю., Соколов Д.П., Ковальский Ю.В. 328

BIOTECHNOLOGICAL ASPECTS OF CULTURING ANIMAL CELLS AS SUBSTRATE FOR THE REPRODUCTION OF VIRUSES
Vinarov A.Yu., Sokolov, D.P., Kowalski, Yu.V. 329

СЕКЦИЯ 7 «СОВРЕМЕННЫЕ ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ»
SECTION 7 “MODERN INSTRUMENTAL METHODS OF INVESTIGATION”

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

СПОНСОР СЕКЦИИ

GE Healthcare

imagination at work

SPONSOR SECTION

НЕОБХОДИМОСТЬ МУЛЬТИ МОДАЛЬНЫХ И МНОГОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕРИТЕЛЬНЫХ СИСТЕМ В ИССЛЕДОВАНИЯХ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ И МАТРИЧНЫЙ АНАЛИЗ
L.Bachdasarian; R.Bulthuis;E. Molenwijk; S. Zhuchkov 330

THE NEED FOR MULTI-MODAL AND MULTI-FUNCTIONAL MEASUREMENT SYSTEMS IN LABORATORY ANIMAL RESEARCH AND MATRIX ANALYSIS
L.Bachdasarian; R.Bulthuis;E. Molenwijk; S. Zhuchkov 331

МЕТОД КРИОХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ОБРАЗОВАНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СОВРЕМЕННЫХ КРИОХИРУРГИЧЕСКИХ АППАРАТОВ
Бобрихин А.Ф., Гудков А.Г., Цыганов Д.И., Шафранов В.В. 332

THE CRYO SURGICAL METHOD OF THE PATHOLOGIC MASS TREATMENT WITH THE USAGE OF MODERN CRYO SURGICAL DEVICES
Bobrikhin A.F., Gudkov A.G., Tsyganov D.I., Shafranov V.V. 332

УСТРОЙСТВО ДЛЯ ХРАНЕНИЯ КОМПОНЕНТОВ КРОВИ
Гудков А.Г., Леушин В.Ю., Поздин С.В. 333

BLOOD COMPONENTS STORAGE DEVICE
Gudkov A.G., Leushin V.Y., Posdin S.V. 334

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОПТИЧЕСКИХ БИОСЕНСОРОВ ТИПА BIACORE В ПОСТГЕНОМНЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ
Иванов А.С., Авилова Е.А. 334

THE USING OF OPTICAL BIOSENSORS BIACORE IN THE POST-GENOMIC RESEARCH
Ivanov A.S., Avilova E.A. 335

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ЯМР СПЕКТРОСКОПИЯ В АНАЛИЗЕ РОССИЙСКИХ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ
Абрамович Р.А., Ковалева С.С., Хучуа Н.Н., Хомяков Ю.Ю., Калабин Г.А. 335

QUANTITATIVE NMR SPECTROSCOPY IN ANALYSIS OF RUSSIAN BIOTECHNOLOGICAL DRUGS
Abramovich R.A., Kovaleva S.A., Khuchua N.S., Khomyakov Yu.Yu., Kalabin G.A. 336

НОВЫЕ СИСТЕМЫ ДЛЯ ТЕСТИРОВАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ
Киселев С.Л. 337

НОВЫЙ МЕТОД ИЗМЕРЕНИЯ МАСС-СПЕКТРОВ В МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ИОННОГО ЦИКЛОТРОННОГО РЕЗОНАНСА. ПРИМЕНЕНИЕ В МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ БИОМАКРОМОЛЕКУЛ
Николаев Евгений, Йертз Роланд, Харыбин Олег, Попов Игорь, Фучсер Йенс, Криете Клаудиа, Витт Матиус, Фридрих Йохен, Байкут Гойхан. 337

THE NEW METHOD OF MASS SPECTRA MEASUREMENTS IN FT-ICR. IMPLEMENTATION IN MASS SPECTROMETRY OF BIOMACROMOLECULES
Eugene Nikolaev, Roland Jertz, Anton Grigor'ev, Igor Popov, Jens Fuchser, Claudia Kriete, Matthias Witt, Jochen Friedrich, Gokhan Baykut 338

ПОСТЕРЫ
POSTERS

НОВЫЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ МАССЫ ПОЛИМЕРНЫХ ПЛЕНОК
Ерофеев А.С., Яминский И.В. 340

NEW INSTRUMENT FOR DETERMINATION OF THE MASS OF POLYMER FILMS
A.S. Erofeev, I.V. Yaminskii 340

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА МНОГОУГЛОВОГО ЛАЗЕРНОГО СВЕТОРАССЕЯНИЯ ДЛЯ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ
Флегонтов П.А., Скоцеляс Е.Д., Карякин А.В. 341

PERSPECTIVES OF APPLICATION MULTI-ANGLE LASER LIGHT SCATTERING METHOD FOR CONTROL QUALITY OF DRUGS
Flegontov P.A., Skotselyas E.D., Karyakin A.V. 342

МНОГОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОЛИМЕРНЫЕ КОМПОЗИЦИИ НА ОСНОВЕ ПОЛИАНИЛИНА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ
Исакова А.А., Райтман О.А, Иванов В.Ф, Иванова М.В., Тверской В.А., Ванников А.В. 342

MULTIFUNCTIONAL POLYMER COMPOSITIONS BASED ON POLYANILINE FOR BIOLOGICAL OBJECTS DETERMINATION
Isakova A.A., Raytman O.A., Ivanov V.F., Ivanova M.V., Tverskoi V.A., Vannikov A.V. 343

МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕДАЧИ ОПТИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИМ ОБЪЕКТАМ
Плешкова Ю.А., Лихтер А.М.. 344

THE METHOD OF INVESTIGATION OF THE OPTICAL INFORMATION TRANSMISSION TO THE BIOLOGICAL OBJECTS
U. Pleshkova, A.Likhter 344

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ПЛАЗМЫ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА
Сажина Н.Н., Мисин В.М., Короткова Е.И. 345

USE OF ELECTROCHEMICAL METHODS FOR DEFINITION OF THE TOTAL ANTIOXIDANT ACTIVITY OF HUMAN BLOOD PLASMA
Sazhina N.N., Misin V.M., Korotkova E.I. 345

РАЗРАБОТКА ПОЛЯРИЗАЦИОННОГО ФЛЮОРОИММУНОАНАЛИЗА ФТОРХИНОЛОНОВ
Шанин И.А., Еремин С.А., Дзантиев Б.Б., Лей Хонгтао, Сан Гуанминг 346

DEVELOPMENT OF FLUORESCENCE POLARIZATION IMMUNOASSAY FOR DETECTION OF FLUOROQUINOLONES
Ilya A. Shanin, Sergei A. Eremin, Boris B. Dzantiev, Hongtao LEI, Yuanming SUN 347

ИССЛЕДОВАНИЕ ФОСФОЛИПИДНЫХ ФРАКЦИЙ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН АКТИНОБАКТЕРИЙ МЕТОДОМ ДИФРАКЦИИ РЕНТГЕНОВСКИХ ЛУЧЕЙ
Синева О.Н., Филиппова С.Н., Сургучева Н.А., Ермакова Е.В., Киселев М.А., Галатенко О.А., Терехова Л.П., Забелин А.В., Гальченко В.Ф. 348

PHOSPHOLIPID COMPONENT OF ACTINOBACTERIA CELL MEMBRANES STUDIED BY NEUTRON DIFFRACTION METHOD
Sineva O.N., Filippova S.N., Surgucheva N.A., Ermakova E.V., Kiselev M.A., Galatenko O.A., Terekhova L.P., Zabelin A.V., Galchenko V.F. 349

ИЗУЧЕНИЕ ИСТОЧНИКОВ СЕРЫ В МЕХАНИЗМЕ РЕКОНСТРУКЦИИ [Fe-S]-КЛАСТЕРОВ БЕЛКОВ — ГЛАВНОЙ МИШЕНИ ДЛЯ НОВЫХ NO-СОДЕРЖАЩИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ
Стрельцова Д.А., Васильева С.В. 349

SULFUR SOURCES FOR THE RECONSTRUCTION OF IRON-SULFUR CLUSTER PROTEINS *IN VIVO* — AS THE MAIN TARGETS FOR THE NEWLY DEVELOPED NO-DONATING DRUGS
Streltsova D.A., Vasilieva S.V. 350

АДСОРБЦИОННАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ БЕЛКОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФЛУОРИМЕТРИЧЕСКОГО ДЕТЕКТИРОВАНИЯ
Томах М.А., Севрюков И.Ю. 351

ADSORBTION CHROMATOGRAPHY OF SERUM PROTEINS USING FLUORIMETRIC DETECTION
M. Tomah, I. Sevrukov 351

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СУПЕРКОМПЬЮТЕРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНАЛИТИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ПРИ ПРОЕКТИРОВАНИИ МАСС-АНАЛИЗАТОРОВ С ПРЕОБРАЗОВАНИЕМ ФУРЬЕ ДЛЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРИМЕНЕНИЙ
Владимиров Г.Н., Николаев Е.Н. 352

ANALYTICAL PERFORMANCE OF FOURIER TRANSFORM MASS ANALYZERS DESIGNED FOR BIOLOGICAL APPLICATIONS: SIMULATION APPROACH
G.N. Vladimirov, E.N. Nikolaev 353

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БУФЕРА «Д-БРОЙ» ДЛЯ АНАЛИЗА ЙОДА В ПРОДУКТАХ И МОЧЕ
Щепоткина Ю.В., Фурсова А.В., Шорин С.В., Тихонов В.П., Офицеров Е.Н. 354

THE EMPLOYMENT OF THE BUFFER “D-BROY” FOR THE MEASUREMENT OF IODINE CONTENT IN FOOD AND URINE
Schepotkina Yu.V., Fursova A.V., Shorin S.V., Tihonov V.P., Ofitserov E.N.. 355

ТЕХНОЛОГИИ ТРАНСФУЗИОЛОГИИ
Гудков А.Г., Леушин В.Ю., Лазаренко М.И., Чечеткин А.В.. 356

TRANSFUSION TECHNOLOGIES
Gudkov A.G., Leushin V.Y., Lazarenko M.I., Chechetkin A.V. 356

СЕКЦИЯ 8 «ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КЛАСТЕРЫ И РАЗВИТИЕ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ. ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНАЯ СОБСТВЕННОСТЬ»
SECTION 8 “PHARMACEUTICALS AND THE DEVELOPMENT OF CLUSTERS OF PHARMACEUTICAL INDUSTRY. INTELLECTUAL PROPERTY“

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

СТАНДАРТИЗАЦИЯ ОБЩИХ МЕТОДОВ ФАРМАКОПЕЙНОГО АНАЛИЗА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ
Рудакова И.П. 358

STANDARDIZATION OF COMMON METHODS OF ANALYSIS OF OFFICINAL MEDICINES
Rudakova I.P. 359

РАЗРАБОТКА МЕТОДОЛОГИЧЕСКОГО ПОДХОДА К ОЦЕНКЕ БЕЗОПАСНОСТИ СОСТАВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ
Терёшкина О.И.. 359

DEVELOPMENT METHODOLOGICAL APPROACH TO ASSESSING THE SAFETY OF THE MEDICINAL PLANT PREPARATIONS
Tereshkina O.I. 360

ОЦЕНКА РИСКОВ ИНВЕСТИЦИЙ В БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЕКТЫ
Шпуров И.Ю. 360

ИССЛЕДОВАНИЯ ЛАБОРАТОРИИ БИОТЕХНОЛОГИЙ АСТРАХАНСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА В ОБЛАСТИ ВЫДЕЛЕНИЯ И ИЗУЧЕНИЯ СВОЙСТВ БИОАКТИВНЫХ ПРИРОДНЫХ КОМПОНЕНТОВ ИЗ РАСТЕНИЙ АСТРАХАНСКОЙ ОБЛАСТИ
Сухенко Л.Т., Егоров М.А. 362

THE RESEARCH OF LABORATORY OF BIOTECHNOLOGIES OF ASTRAKHAN STATE UNIVERSITY IN THE FIELD OF THE EXTRACTION OF BIOACTIVE NATURAL AND PLANT COMPONENTS OF THE ASTRAKHAN REGION
L.T. Sukhenko, M.A. Egorov 363

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

ВОПРОСЫ ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ ПРИ ОЦЕНКЕ НАУКОЕМКИХ ТЕХНОЛОГИЙ
Горлачева Е.Н., Гудков А.Г., Омельченко И.Н. 364

INTELLECTUAL PROPERTY ISSUES IN THE EVALUATION OF SCIENCE INTENSIVE TECHNOLOGIES
Gorlacheva E.N., Gudkov A.G., Omelchenko I.N. 364

OPTIMISING HAIRY ROOT PRODUCTION IN ARTEMISIA ABSINTHIUM
Bahareh Hedayati, Ramin Hosseini and Nasrin Hedayati 365

РАЗВИТИЕ СТРАТЕГИЧЕСКОГО МАРКЕТИНГА В ПРОИЗВОДСТВЕ И РЕАЛИЗАЦИИ БИОПРЕПАРАТОВ
Иванов А.А., Степанов В.И., Тремасов Ю.М., Валиуллин Л.Р. 365

DEVELOPMENT OF STRATEGIC MARKETING IN MANUFACTURE AND REALIZATION OF BIOLOGICAL PRODUCTS
Ivanov A.A., Stepanov V.I., Tremasov M.J., Valiullin L.R. 366

CALLOGENESIS IN ARTEMISIA ABSINTHIUM, THE EFFECT OF HORMONAL CONCENTRATION
Bita Ghasemi, Ramin Hosseini and Fateme Dehghan Nayeri 367

КВАНТОВАЯ СТЕГАНОГРАФИЯ ДЛЯ ПРОЕКТИРОВАНИЯ КОМПОНЕНТОВ ИНФРАСТРУКТУРЫ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ КЛАСТЕРОВ
Раткин Л.С. 367

QUANTUM STEGANOGRAPY FOR PROJECTING OF INFRASTRUCTURE COMPONENTS OF PHARMACEUTICAL CLUSTERS
Rathkeen L.S. 367

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ДРОЖЖЕЙ PHAFFIA RHODOZYMA НА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ, ПРИГОТОВЛЕННОЙ ИЗ КОМПОНЕНТОВ БАРДЫ, И МОДЕЛЬНОЙ СРЕДЕ, АНАЛОГИЧНОЙ КИСЛОТНОМУ ГИДРОЛИЗАТУ ДРЕВЕСИНЫ
Захаров З.В., Мельникова Е.В., Герман Л.С. 368

YEAST PHAFFIA RHODOZYMA FERMENTATION USING DISTILLERY WASTE AND MODEL MEDIUM AS ANALOGUE OF ACID WOOD HYDROLYZATE
Zakharov Z.V., Melnikova E.V., German L.S. 369

СЕКЦИЯ 9 «НОВЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ В ТЕХНОЛОГИИ И АППАРАТУРНОМ ОФОРМЛЕНИИ В БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ»
SECTION 9 "NEW DIRECTIONS IN THE TECHNOLOGY AND INSTRUMENTAL APPEARANCE IN BIOPHARMACEUTICAL PROCESS"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

ОСОБЕННОСТИ АППАРАТУРНОГО ОФОРМЛЕНИЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ РАЗЛИЧНЫХ БИООБЪЕКТОВ
Алексинцева О.А., Топкова О.В. 370

PARTICULAR HARDWARE DESIGN OF CULTIVATION OF VARIOUS BIOLOGICAL OBJECTS
Aleksinceva O.A., Topkova O.V.. 371

АКТУАЛЬНЫЕ РЕШЕНИЯ В ТЕХНОЛОГИИ И АППАРАТУРНОМ ОФОРМЛЕНИИ ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК ЭУКАРИОТ В БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ
Дмитриенко Д.В. 371

NEW INSTRUMENTS AND INNOVATIVE SOLUTIONS FOR OPTIMIZATION OF EUKARYOTIC CELL CULTIVATION IN BIOPHARMACEUTICS PROCESSES
Dmitrienko D.V. 371

ОБОРУДОВАНИЕ КОМПАНИИ MAJOR SCIENCE ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК
Дубинин Е.В. 372

CELL CULTIVATION TECHNOLOGY BY MAJOR SCIENCE
Evgeny Dubinin 372

АППАРАТУРНОЕ ОФОРМЛЕНИЕ ПРОЦЕССА НАНЕСЕНИЯ ПЛЕНОЧНЫХ ПОКРЫТИЙ НА ТВЕРДЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ФОРМЫ
Флисюк Е.В. 373

HARDWARE REGISTRATION OF PROCESS OF DRAWING OF FILM COVERINGS ON FIRM MEDICINAL FORMS
Flisjuk E.V. 374

МЕТОДЫ ИНТЕНСИФИКАЦИИ МАССООБМЕННЫХ ПРОЦЕССОВ В ГЕТЕРОФАЗНЫХ СРЕДАХ
Иванов Е.В. 374

METHODS OF INTENSIFICATION OF MASS- TRANSFER PROCESSES IN HETEROPHASE MEDIA
Ivanov E.V. 375

ВЫСОКОСШИТЫЙ ПОЛИДИВИНИЛБЕНЗОЛЬНЫЙ СОРБЕНТ В ВЭЖХ ДЛЯ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И КОНТРОЛЯ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ
Хабаров В.Б., Буряк А.К., Ермаков В.В. 375

HIGH-MENDED POLYDIVINYLBENZENE SORBENT IN HPLC FOR RESEARCH AND CONTROL OF TECHNOLOGICAL PROCESSES
Khabarov V.B., Buriak A.K., Ermakov V.V. 377

ЭНЕРГОЭФФЕКТИВНОСТЬ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ОБОРУДОВАНИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ – НОВЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И МЕТОДЫ РЕШЕНИЯ
Кудряшов В.К., Черемухин В.В., Зиновьев М.А., Уграицкий А.А. 378

ENERGY EFFECTIVENESS OF BIOLOGICAL EQUIPMENT AND OF BIOTECHNOLOGY PROCESSES: NEW CHARACTERISTICS AND METHODS TO IMPLEMENT THEM
Kudryashov V.K., Cheremuchin V.V., Zinoviev M.A., Ugraitskiy A.A.. 379

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДОВ ПРЕПАРАТИВНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ В БИОТЕХНОЛОГИИ
Писарев О.А. 379

USING OF MODERN PREPARATIVE CHROMATOGRAPHY METHODS IN BIOTECHNOLOGY
Pisarev O.A. 380

УНИВЕРСАЛЬНЫЕ ЭРЛИФТНО-ВИХРЕВЫЕ БИОРЕАКТОРЫ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК, МИКРООРГАНИЗМОВ И ВЕДЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ
Рамазанов Ю.А.. 381

UNIVERSAL AIRLIFT VORTEX BIOREACTORS OF THE NEW GENERATION FOR CELL AND MICROORGANISM CULTIVATION AND CARRYING OUT VARIOUS BIOTECHNOLOGICAL PROCESSES
Ramazanov Y.A. 382

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ФИЛЬТРАЦИИ ЖИДКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ В СОВРЕМЕННОЙ БИОФАРМАЦЕВТИКЕ
Савельев С.П. 382

EXPERIENCE OF FILTRATION OF LIQUID MEDICINAL FORMS IN MODERN BIOPHARMACEUTICS
Saveljev S.P. 383

ВНЕДРЕНИЕ ЭФФЕКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ВЫДЕЛЕНИЯ И ОЧИСТКИ ФЕРМЕНТОВ ДЛЯ СОЗДАНИЯ НА ИХ ОСНОВЕ СОВРЕМЕННЫХ ЛЕКАРСТВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НАНОНОСИТЕЛЕЙ
Шенгер А.А., Глазова Н.В., Яковлева Е.П. 384

COMMERCIAL INTRODUCTION OF EFFECTIVE TECHNOLOGIES FOR ISOLATION AND PURIFICATION OF ENZYMES TO PREPARE NEW ENZYME-CONTAINING DRUGS WITH NANOCARRIERS
Shenger A.A., Glazova N.V., Iakovleva E.P. 385

НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ПЕРЕРАБОТКИ ГИДРОБИОНТОВ
Шиков А.Н., Пожарицкая О.Н., Уракова И.Н., Рыбакова А.В., Крышень К.Л., Макаров В.Г. 385

NEW TECHNOLOGIES FOR PROCESSING OF HYDROBIONTS
Shikov A.N., Pozharitskaya O.N., Urakova I.N., Rybakova A.V., Kryshen K.L., Makarov V.G. 386

СОВРЕМЕННЫЙ ПОХОД К УПРАВЛЕНИЮ ПРОЦЕССОМ ФЕРМЕНТАЦИИ
Ванагс Юрис 386

MODERN TRENDS OF FERMENTATIONS PROCESS CONTROL
Juris Vanags 387

ОДНОРАЗОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В БИОФАРМАЦЕВТИКЕ
Жук О.В. 388

SINGLE-USE TECHNOLOGIES IN BIOTECHNOLOGY
Zhuk Olga Vadimovna 389

ОПТИЧЕСКИЙ ИМИДЖИНГ ДЛЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ И МЕДИЦИНСКИХ ПРИЛОЖЕНИЙ
Турчин И.В. 390

OPTICAL IMAGING FOR BIOLOGICAL AND MEDICAL APPLICATIONS
I.V. Turchin 390

ПОСТЕРЫ
POSTERS

ЭКСПРЕСС-МЕТОД ОЦЕНКИ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ КЛЕТОК В БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТАХ
Блинкова Л.П., Пахомов Ю.Д., Никифорова О.В., Евлашкина В.Ф., Альтшулер М.Л. 391

EXPRESS ASSESSMENT OF CELL VIABILITY IN BIOLOGICAL PREPARATIONS
Blinkova L.P., Pakhomov Y.D., Nikiforova O.V., Evlashkina V.F., Altshuler M.L. 392

PRODUCTION OF LOW MOLECULAR WEIGHT CHITOSAN FROM BIOMASS OF A.SPERGILLUS NIGER USING ENZYMATIC HYDROLYSIS
Scholar Javad Chehri 392

PRODUCTION OF LOW MOLECULAR WEIGHT CHITOSAN FROM BIOMASS OF A.SPERGILLUS NIGER USING ENZYMATIC HYDROLYSIS
Scholar Javad Chehri 393

ПРОЦЕСС ИНКАПСУЛЯЦИИ В ПСЕВДООЖИЖЕННОМ СЛОЕ: ИССЛЕДОВАНИЕ И ПРОГНОЗИРОВАНИЕ КАЧЕСТВА ПОКРЫТИЯ
Голомидов Е.С. 394

ENCAPSULATION PROCESS IN A FLUIDIZED BED: A STUDY AND PREDICTION OF THE COATING QUALITY
Evgeny Golomidov 394

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО АНАЛОГА ИНСУЛИНА ПРОЛОНГИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ (ИНСУЛИНА ГЛАРГИНА)
Харюнина Е.С., Гусарова В.Д., Соколова И.В., Воробьева Т.В., Гусаров Д.А. 395

DEVELOPMENT OF TECHNOLOGY FOR PRODUCTION OF RECOMBINANT INSULIN ANALOGUE WITH PROLONGED ACTION (INSULIN-GLARGINE)
E.S.Kharyunina, V.D.Gusarova, D.A.Gusarov, I.V.Sokolova, T.V.Vorobjeva. 396

РАЗРАБОТКА АВТОМАТИЗИРОВАННЫХ СИСТЕМ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ В БИОТЕХНОЛОГИИ ПРИРОДНЫХ ИММУНОСТИМУЛЯТОРОВ
Шуваев П.В., Черенков Д.А., Толкачёва А.А., Корнеева О.С. 396

THE DEVELOPMENT OF AUTOMATED SYSTEMS FOR THE CULTIVATION OF MICROORGANISMS IN BIOTECHNOLOGY OF NATURAL IMMUNOSTIMULANTS
Shuvaev P.V., Cherenkov D.A., Tolkacheva A.A., Korneeva O.S. 397

ПОЛУЧЕНИЕ СОПОЛИМЕРОВ 3-ГИДРОКСИБУТИРАТА-СО-3-ГИДРОКСИГЕКСАНОАТА В КАЧЕСТВЕ НОСИТЕЛЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ
Сырвачева Д.А. 397

SYNTHESIS OF COPOLYMERS OF 3-HYDROXYBUTYRATE-CO-3-HYDROXYHEXANOATE AS A CARRIER OF DRUGS
Syrvacheva D.A. 398

ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЦЕННОСТИ БЕЛКОВ ВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИХ БАКТЕРИЙ RALSTONIA EUTROPHA B5786
Виноградова О.Н. 399

ASSESSMENT OF BIOLOGICAL VALUE OF PROTEIN HYDROGEN-OXIDIZING BACTERIA RALSTONIA EUTROPHA B5786
Vinogradova O.N. 399

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РАЗНЫХ СУБСТРАТОВ ДЛЯ СИНТЕЗА БИОРАЗРУШАЕМЫХ БИОПОЛИМЕРОВ (ПОЛИГИДРОКСИАЛКАНОАТОВ) КАК МАТРИКСА В СИСТЕМАХ КОНТРОЛИРУЕМОЙ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ
Жила Н.О. 400

USING OF DIFFERENT SUBSTRATES FOR SYNTHESIS OF BIODEGRADABLE BIOPOLYMERS (POLYHYDROXYALKANOATES) AS MATRIX IN CONTROLLED DRUG DELIVERY SYSTEMS
Zhila N.O. 401

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

ИНТЕНСИФИКАЦИЯ ПРОЦЕССА ПОЛУЧЕНИЯ СУХОГО ЭКСТРАКТА ДРОЖЖЕВОГО АВТОЛИЗАТА
Базлов Г.В., Комиссаров А.В., Антонычева М.В., Никифоров А.К., Белоусов А.Д., Беляев М.Н. 401

INTENSIFICATION OF THE PROCESS OF OBTAINING OF BAKER'S YEAST DRY AUTOLYZATE
Bazlov G.V., Komissarov A.V., Antonycheva M.V., Nikiforov A.K., Belousov A.D., Belyaev V.N. 402

РАЗРАБОТКА МЕТОДА ВЫДЕЛЕНИЯ И ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ ПРОТЕИНАЗЫ ПОДМАРЕННИКА НАСТОЯЩЕГО
Декунов С.С., Глазова Н.В. 403

DEVELOPMENT OF THE ISOLATING METHOD AND STUDYING THE PROPERTIES OF BEDSTRAW PROTEASE
Dekunov S.S., Glazova N.V. 403

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА ЖИВОЙ КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ГРИППОЗНОЙ ВАКЦИНЫ
Думченко Н.Б., Радаева И.Ф., Нечаева Е.А. 404

IMPROVEMENT OF THE PRODUCTION TECHNOLOGY LIVE CULTURE AN INFLUENZAL VACCINE
Dumchenko N.B., Radaeva I.F., Nechaeva E.A. 405

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ АМПИЦИЛЛИНА ПО РЕАКЦИИ С ФОСФОРНО-МОЛИБДЕНОВОЙ КИСЛОТОЙ
Грибанов Г.А., Костюк Н.В., Федорова Е.В. 405

METHOD FOR DETERMINATION OF AMPICILLIN IN THE REACTION WITH PHOSPHOMOLYBDIC ACID
Gribanov GA, Kostyuk, NV, Fedorova EV 406

ВЛИЯНИЕ ЛИПИДОВ СРЕДЫ НА ОБРАЗОВАНИЕ ХОЛЕСТЕРОЛОКСИДАЗЫ
Колодязная В.А., Топкова О.В., Котова Н.В. 406

THE INFLUENCE OF LIPIDS TO CONFORM CHOLESTEROL OXIDASE
Kolodiasnaya V.A., Topkova O.V., Kotova N.V. 407

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРОМИЦЕТОВ ДЛЯ БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ПОЛУЧЕНИЯ ПРОТЕАЗ
Яковлева М.Б., Никитина З.К., Быков В.А. 408

THE OPTIMIZATION OF MICROMYCETES CULTIVATION CONDITIONS FOR BIOPHARMACEUTICAL OBTAINING PROTEASES
Yakovleva M.B., Nikitina Z.K., Bykov V.A. 408

АВТОМАТИЗИРОВАННЫЙ МОНИТОРИНГ ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В СООТВЕТСТВИИ С ТРЕБОВАНИЯМИ GMP
Попов А.Ю. 409

AUTOMATED MONITORING OF MANUFACTURING BIOTECHNOLOGICAL PROCESS IN TERMS OF GMP REQUIREMENTS
Popov Alexey 410

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФРАКЦИОННОЙ КРИСТАЛЛИЗАЦИИ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ И ОЧИСТКИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ
Попов Д.А.. 410

USE OF FRACTIONAL CRYSTALLIZATION FOR ISOLATION AND CLEARING OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES
Popov D.A. 411

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ВАКУУМНОГО ОБЕЗВОЖИВАНИЯ ТЕРМОЛАБИЛЬНЫХ БИООБЪЕКТОВ
Семенов Г.В., Булкин М.С., Буданцев Е.В., Булкина П.А. 411

PERFECTION OF TECHNOLOGY OF VACUUM DEHYDRATION OF THERMOLABILE BIOOBJECTS
Semenov G.V., Bulkin M.S., Budantsev E.V., Bulkina P.A.. 412

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВАКУУМНОЙ СУШКИ ТЕРМОЛАБИЛЬНЫХ МАТЕРИАЛОВ
Семенов Г.В., Меламед Л.Э., Буданцев Е.В., Тропкина А.И. 412

MATHEMATICAL AND EXPERIMENTAL RESEARCH OF VACUUM DEHYDRATION OF THERMOLABILE MATERIALS
Semenov G.V., Melamed L.E., Budantsev E.V., Tropkina A.I. 413

РАЗРАБОТКА НОВОГО БИОРЕАКТОРА ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА
Винаров А.Ю., Соколов Д.П., Смирнов В.Н., Ковальский Ю.В. 414

ELABORATION OF A NEW BIOREACTOR FOR CULTIVATION OF ANIMAL AND HUMAN CELLS
Vinarov A.Yu., Sokolov D.P., Smirnov V.N., Kowalskiy Yu.V. 414

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ДРОЖЖЕЙ PHAFFIA RHODOZYMA НА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ, ПРИГОТОВЛЕННОЙ ИЗ КОМПОНЕНТОВ БАРДЫ, И МОДЕЛЬНОЙ СРЕДЕ, АНАЛОГИЧНОЙ КИСЛОТНОМУ ГИДРОЛИЗАТУ ДРЕВЕСИНЫ
Захаров З.В., Мельникова Е.В., Герман Л.С. 415

YEAST PHAFFIA RHODOZYMA FERMENTATION USING DISTILLERY WASTE AND MODEL MEDIUM AS ANALOGUE OF ACID WOOD HYDROLYZATE
Zakharov Z.V., Melnikova E.V., German L.S.. 415

СЕКЦИЯ 10 «ПОДГОТОВКА КАДРОВ»
SECTION 10 «TRAINING (INCLUDING POSTGRADUATE EDUCATION)»

КРУГЛЫЙ СТОЛ «БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЕ ОБРАЗОВАНИЕ И БОЛОНСКИЙ ПРОЦЕСС»
SEMINAR «BIOTECHNOLOGY EDUCATION AND BOLOGNA PROCESS»

РОЛЬ НАУЧНО-ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ ЦЕНТРОВ В ПОДГОТОВКЕ БУДУЩИХ КАДРОВ ДЛЯ НАУКИ И ПРАКТИКИ В ОБЛАСТИ ФАРМАЦЕВТИКИ И БИОТЕХНОЛОГИИ
Карабинцева Н.О., Голубева И.А., Трошкова Г.П., Клепикова С.Ю. 416

ROLE OF THE SCIENTIFICALLY-EDUCATIONAL CENTERS IN TRAINING OF THE FUTURE SPECIALISTS FOR A SCIENCE AND PRACTICE IN THE FIELD OF PHARMACEUTICS AND BIOTECHNOLOGY
Karabintseva N.O., Golubeva I.A., Troshkova G.P., Klepikova S.U. 416

30 ЛЕТ НАУЧНО-ОБРАЗОВАТЕЛЬНОМУ ЦЕНТРУ ИБХ РАН: ОПЫТ РАБОТЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ
Овчинникова Т.В. 417

ОСНОВНЫЕ ЗАДАЧИ «БОЛОНСКОГО ПРОЦЕССА» И ИХ ПРЕЛОМЛЕНИЕ ПРИМЕНИТЕЛЬНО К БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОМУ ОБРАЗОВАНИЮ В РОССИИ
Кузнецов А.Е. 418

РЕАЛИЗАЦИЯ ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ ПРОЕКТОВ В РАМКАХ ПРОГРАММЫ ЕВРОСОЮЗА «ТЕМПУС»
Клаус Тройч, Чернышенко С.В. 419

REALISATION OF EDUCATIONAL PROJECTS IN THE FRAMES OF EU PROGRAMME 'TEMPUS'
Klaus Troitzsch, Chernyshenko S.V. 420

БОЛОНСКИЙ ПРОЦЕСС И БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЕ ОБРАЗОВАНИЕ В ЧЕШСКОЙ РЕСПУБЛИКЕ
Бровдыова Татьяна, Трегл Иосиф, Горак Петр, Неруда Мартин, Рихтер Мирослав 420

BOLOGNA PROCESS AND EDUCATION OF BIOTECHNOLOGY IN THE CZECH REPUBLIC
Brovdyová Taťjána, Trögl Josef, Horák Petr, Neruda Martin, Richter Miroslav 421

КРАТКИЙ АНАЛИЗ СОВРЕМЕННОГО БИОТЕХНОЛОГИЧЕКОГО ОБРАЗОВАНИЯ В ГЕРМАНИИ И АНГЛИИ
Коцюрбенко О.К., Круглов В.Э. 422

EVALUATION OF THE CURRENT SITUATION IN BIOTECHNOLOGICAL EDUCATION IN GERMANY AND UNITED KINGDOM
Kotsyurbenko O.R., Kruglov V.E. 423

НОВОЕ ПОКОЛЕНИЕ УЧЕБНЫХ ПРОГРАММ ПО МЕДИЦИНСКОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ И ИХ ВЗАИМОСВЯЗЬ С КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНОЙ: ДИАГНОСТИКА, ТЕРАПИЯ, ИССЛЕДОВАНИЯ
Круглов В.Э. 423

NEW EDUCATIONAL PROGRAMS IN MEDICAL BIOTECHNOLOGY, AND THEIR INTERRELATION WITH CLINICAL MEDICINE: DIAGNOSTICS, THERAPY AND RESEARCH
Kruglov V.E. 424

ОРГАНИЗАЦИЯ СОВМЕСТНЫХ ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ ПРОГРАММ ПОДГОТОВКИ МАГИСТРОВ ТВЕРСКИМ ГОСУДАРСТВЕННЫМ ТЕХНИЧЕСКИМ УНИВЕРСИТЕТОМ И ABO AKADEMI UNIVERSITY
Сульман Э.М., Матвеева В.Г., Сульман М.Г., Демиденко Г.Н., Прутенская Е.А. 424

JOINT EDUCATIONAL PROGRAMME OF MASTERS' TRAINING OF TVER STATE TECHNICAL UNIVERSITY AND ÅBO AKADEMI UNIVERSITY
Sulman E.M., Matveeva V.G., Sulman M.G., Demidenko G.N., E.A. Prutenskaya E.A. 425

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ВЫСШЕЙ ШКОЛЫ, АКАДЕМИЧЕСКИХ ИНСТИТУТОВ И ИНДУСТРИИ: ПРИМЕР БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО КЛАСТЕРА НОВОСИБИРСКА
Жарков Д.О., Нетёсов С.В. 426

INTERACTION OF UNIVERSITIES, ACADEMIC INSTITUTES, AND INDUSTRY: A CASE OF NOVOSIBIRSK BIOTECHNOLOGY CLUSTER
D.O. Zharkov, S.V. Netesov 426

РЕАЛИЗАЦИЯ В АСТРАХАНСКОМ ГОСУДАРСТВЕННОМ УНИВЕРСИТЕТЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО ПРОЕКТА «САМООБУЧАЮЩИЙСЯ УНИВЕРСИТЕТ» НА ОСНОВЕ ПРИНЦИПОВ СИСТЕМЫ БЕРЕЖЛИВОГО ПРОИЗВОДСТВА
Егоров М.А. 427

THE IMPLEMENTATION OF THE EDUCATIONAL PROJECT «SELF-LEARNING UNIVERSITY» BASED ON THE PRINCIPLES OF LEAN PRODUCTION IN ASTRAKHAN STATE UNIVERSITY
Egorov M.A. 428

ФОРМИРОВАНИЕ МОДУЛЬНОЙ СТРУКТУРЫ УЧЕБНЫХ ПЛАНОВ ПОДГОТОВКИ МАГИСТРОВ ПО НАПРАВЛЕНИЮ «БИОТЕХНОЛОГИЯ»
Емельянов В.М., Сироткин А.С., Понкратова С.А., Ежкова Г.О., Рязапова Л.З., Мухтарова-Белозерова Н.А. 428

FORMATION OF THE MODULAR STRUCTURE OF STUDY PLAN FOR MASTER PROGRAM «BIOTECHNOLOGY»
Emelyanov V.M., Sirotkin A.S., Ponkratova S.A., Egkova G.O., Ryazapova L.Z., Mychtarova-Belozerova N.A. 429

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ РАБОТЫ СИСТЕМЫ УПРАВЛЕНИЯ ПЕРСОНАЛОМ В БИОПРОМЫШЛЕННОМ КОМПЛЕКСЕ
Иванов А.А., Валиуллин Л.Р., Степанов В.И., Чернов А.Н., Тремасов М.Я. 429

SOME ASPECTS ON PERSONNEL MANAGEMENT IMPROVEMENT IN BIOLOGICAL INDUSTRY
Ivanov A.A., Valiullin L.R., Semenov E.I., Chernov A.N., Tremasov M.Ya. 430

ОБУЧАЮЩИЙ КЛАСТЕР В ОБЛАСТИ МИКРОБНОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ: ПРЕПОДАВАНИЕ АНАЭРОБНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В СВЕТЕ ТРЕБОВАНИЙ БОЛОНСКОГО ПРОЦЕССА
Нетрусов А.И. 431

EDUCATIONAL CLUSTER IN THE FIELD OF MICROBIAL BIOTECHNOLOGY: TEACHING OF ANAEROBIC TECHNOLOGIES WITH BOLOGNA PROCESS REQUIREMENTS
Netrusov A.I.. 432

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АКТИВНЫХ ФОРМ ОБУЧЕНИЯ ПРИ ПОДГОТОВКЕ БАКАЛАВРОВ-БИОТЕХНОЛОГОВ ПРИ ИЗУЧЕНИИ КУРСА «ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ»
Красноштанова А.А. 433

USE OF ACTIVE METHODICS OF LEARNING FOR PREPARATION OF BACHELORS-BIOTECHNOLOGISTS AT COURSE «THE PRINCIPLES OF BIOTECHNOLOGY»
Krasnoshtanova A.A. 433

ИНФОРМАЦИОННЫЕ И ИНТЕРНЕТ-РЕСУРСЫ В ПОДГОТОВКЕ СПЕЦИАЛИСТОВ ФАРМАЦИИ
Стасевич М.В., Кричковская А.М., Червецова В.Г., Губицкая И.И., Поройков В.В., Лагунин А.А., Новиков В.П.. 434

INFORMATION AND ONLINE RESOURCES IN THE TRAINING OF PHARMACY SPECIALISTS
Stasevych M.V.,Krychkovskaya A.M., Chervetsova V.G., Gubytskaya I.I.,Poroikov V.V., Lagunin A.A., Novikov V.P. 435

СОТРУДНИЧЕСТВО ВУЗОВ И НАУЧНЫХ УЧРЕЖДЕНИЙ НА ПУТИ ВОСПИТАНИЯ НАУЧНЫХ КАДРОВ В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ
Козлова Н.И., Рыбалко А.Е., Скипина К.П., Харута Л.Г. 435

COOPERATION OF HIGH SCHOOLS AND SCIENTIFIC INSTITUTIONS ON A WAY OF EDUCATION OF RESEARCHERS IN MODERN CONDITIONS
Kozlova N.I., Rybalko A.E., Skipina K.P., Kharuta L.G.. 436

НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ПРЕПОДАВАНИЮ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО ПРАВА В СВЯЗИ С ЭКОЛОГИЧЕСКИМ СОСТОЯНИЕМ БИОРАЗНООБРАЗИЯ СОЧИНСКОГО ПРИЧЕРНОМОРЬЯ
Рыбалко А.А.. 436

ВАЖНЫЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ В ЛЕКЦИЯХ ПО БИОГЕРОНТОЛОГИИ ДЛЯ СТУДЕНТОВ
Халявкин А.В., Крутько В.Н. 437

THE IMPORTANT BIOTECHNOLOGICAL ASPECTS IN LECTURES ON BIO-GERONTOLOGY FOR THE UNDERGRADUATES
Khalyavkin A.V., Krutko V.N.. 438

ОПЫТ РАБОТЫ ЛАБОРАТОРИИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ФАРМАКОЛОГИИ В РАМКАХ ПРОЕКТА «ПРИГЛАШЕННЫЙ УЧЕНЫЙ»
Гарабаджиу А.В. 438

EXPERIENCE OF LABORATORY OF MOLECULAR PHARMACOLOGY WITHIN THE LIMITS OF THE PROJECT «INVITED SCIENTIST»
Garabadzhiu A.V. 439

О НЕОБХОДИМОСТИ ВКЛЮЧЕНИЯ В БАЗОВЫЙ КУРС ПО БИОТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ БАКАЛАВРОВ-БИОТЕХНОЛОГОВ РАЗДЕЛА ПО ПРИРОДООХРАННОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ (ЭКОБИОТЕХНОЛОГИИ)
Ножевникова А.Н. 439

ON NECESSITY OF INCLUDING A SECTION ON NATURE PROTECTION BIOTECHNOLOGY (ECOBIOTECHNOLOGY) FOR A BASE COURSE ON BIOTECHNOLOGY FOR BACHELORS-BIOTECHNOLOGISTS»
Alla N. Nozhevnikova. 440

«СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ И ПИЩЕВАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ»
“AGRICULTURE AND FOOD BIOTECHNOLOGY”

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ РАСТИТЕЛЬНОГО СОРБЕНТА «БАТЫР»
Абдулдаева Айгуль Абдулдаевна 441

PROSPECTIVES FOR THE USE OF PLANT SORBENT «BATYR»
Aigul Abduldaevna Abduldaeva 441

STUDY OF SOME PHYSIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF TWO HULLESS BARLEY LINES UNDER PEG TREATMENT
Soghra Asgari Avini, Raheem Haddad, Hamidreza Nik-kha 442

АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ПИЩЕВЫХ БИОВОЛОКОН
Драчева Л.В. 442

УЛУЧШЕНИЕ ЗДОРОВЬЯ ЧЕЛОВЕКА ПРИ СОЗДАНИИ ЭКОЛОГИЧЕСКИ ЧИСТОЙ ПРОДУКЦИИ И ОЗДОРОВЛЕНИИ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ, ИСПОЛЬЗУЯ МЕТОД ХИМИЧЕСКОГО МУТАГЕНЕЗА
Эйгес Н.С., Волченко Г.А., Волченко С.Г., Вайсфельд Л.И. 443

IMPROVEMENT OF HUMAN HEALTH USING THE ECOLOGICALLY PURE PRODUCTS CREATED BY MEANS OF CHEMICAL MUTAGENESIS AND BY IMPROVEMENT OF ENVIRONMENT BY THIS METHOD
Eiges N.S., Volchenko G.A., Volchenko S.G., Weisfeld L.I. 444

EFFECT OF THE PEG TREATMENTS ON SOME PHYSIOLOGICAL CHARACTERS IN TWO BARLEY (HORDEUM VULGAR L.) LINES
Masume Ghadami, Raheem Haddad, Abbas Sotoodehnia 444

STUDY THE EFFECT OF THE PEG (6000) PRETREATMENT ON PHYSIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF TWO ADVANCED LINES OF DURUM WHEAT UNDER DROUGHT STRESS
Zahra Karimlou, Raheem Haddad, Abdolali Gaffari, Abbas Sotoodehnia 445

РЕОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СИСТЕМ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ТЕХНОЛОГИИ ВАРЕНЫХ КОЛБАС
Петрова Е.А., Легонькова О.А.. 445

RHEOLOGICAL PROPERTIES OF SYSTEMS ON A BASIS CHITOSAN FOR APPLICATION IN TECHNOLOGY OF COOKED SAUSAGES
E.A. Petrova, O.A. Legonkova 446

INCREASING TOLERANCE AGAINST DROUGHT STRESS IN TWO GENOTYPES OF RICE BY SILICON
Fatemeh Biglary, Raheem Haddad, Ramin Hosseini, Abbas Sotoodehnia 447

PHYLOGENETIC RELATIONSHIP OF COCHLODINIUM POLYKRIKOIDES USING 18S RIBOSOMAL RNA GENE SEQUENCES FROM PERSIAN GULF
Esmat Alemzadeh, Raheem Haddad, Alireza Ahmadi, Ramin Hosseini, Eesa Abdolaliyan 447

LIMONENE SYNTHASE GENE EXPRESSION ON DIFFERENT PARTS OF CUMINUM CYMINUM L
Maryam Ghannadnia, Raheem Haddad, Fateme Zarinkamar, Mozafar Sharifi. 448

IMPROVMENT STRATEGIES FOR DRY TOLERANCE BY ANTIOXIDANT ENZYME ANALYSING ON TRITICALE
Elham Salmani, Raheem Hadda 448

CALLOGENESIS IN ARTEMISIA ABSINTHIUM, THE EFFECT OF HORMONAL CONCENTRATION
Bita Ghasemi, Ramin Hosseini and Fateme Dehghan Nayeri 449

OPTIMISING HAIRY ROOT PRODUCTION IN ARTEMISIA ABSINTHIUM
Bahareh Hedayati, Ramin Hosseini and Nasrin Hedayati 449

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТЕНИЯ LYSIMACHIA VULGARIS L
Загороднюк Е.Д., Рыбалко А.Е. 450

WORKING OUT OF A TECHNIQUE OF MICROPROPAGATION OF PHARMACEUTICAL PLANT LYSIMACHIA VULGARIS L
E.D. Zagorodnyuk, A.E. Rybalko 450

КУЛЬТУРА *IN VITRO* РЕДКОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТЕНИЯ BLACKSTONIA PERFOLIATA (L). Huds. (РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО СЫРЬЯ)
Шевлякова Л.А., Орлова Г.Л., Рыбалко А.А. 451

STUDI OF INTRODUCTION IN CULTURE *IN VITRO* RARE PHARMACEUTICAL PLANT BLACKSTONIA PERFOLIATA (L). Huds. (WORKING OUT OF TECHNOLOGY OF RECEPTION OF PHARMACEUTICAL RAW MATERIALS)
L.A. Shevlyakova, G.L. Orlova, A.A. Rybalko 452

ЭУСТОМА — НОВОЕ СЫРЬЕ ДЛЯ ФАРМАЦЕВТИКИ (EUSTOMOSIDE, EUSTOSIDE AND EUSTOMORUSSIDE)
Юревич И.А, Петикян Э.В., Рыбалко А.Е.. 452

ДИКОРАСТУЩИЕ КОЛХИДСКИЕ ОРХИДЕИ И ИХ СОХРАНЕНИЕ КАК ОБЪЕКТОВ ПРОСВЕЩЕНИЯ И ПРОДУЦЕНТОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СУБСТАНЦИЙ
Аверьянова Е.А., Харута Л.Г.Рыбалко А.Е., Скипина К.П. 453

ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* ТРЕХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ СЕВЕРНОГО КАВКАЗА (MENTHA LONGIFOLIA L., ORIGANUM VULGARE L., THYMUS VULGARIS L.)
Маевский С.М., Губаз С.Л., Рыбалко А.А.. 454

INTRODUCTION IN CULTURE *IN VITRO* THREE PHARMACEUTICAL HERBS NORTHERN CAUCASUS (MENTHA LONGIFOLIA L., ORIGANUM VULGARE L., THYMUS VULGARIS L.)
S.M. Maevtsky, S.L. Gubaz, A.A. Rybalko 454

ВВЕДЕНИЯ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* МЕЛКОЛУКОВИЧНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ СОЧИНСКОГО ПРИЧЕРНОМОРЬЯ (SCILLA, MUSCARI, GALANTHUS)»
Мацькив А.О, Аракелян М.А, Рыбалко А.Е. 455

МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ ЗВЕРОБОЯ ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ И ОРНАМЕТАЛЬНЫХ ЦЕЛЕЙ
Гурченкова Ю.А., Рыбалко А.Е., Харута Л.Г. 456

MICROPROPAGATION OF HYPERICUM FOR MEDICINAL AND ORNAMENTAL PURPOSES
Y.A. Gurchenkova, A.E. Rybalko, L.G. Kharuta 456

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОГУМУСА ДЛЯ СТИМУЛИРОВАНИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ РАСТЕНИЙ КЛУБНИКИ (FRAGARIA × ANANASSA DUCHESNE EX ROZIER)
Чупахина Н.Ю., Тынутаре Т., Полтавская Р.Л., Чупахина Г.Н., Гербст О.В. 457

THE USE OF VERMICOMPOST FOR STIMULATION OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF STRAWBERRY PLANTS (FRAGARIA × ANANASSA DUCHESNE EX ROZIER)
Tchupakhina N.U., Tõnutare T., Poltavskaya R.L., Tchupakhina G.N., Gerbst O.V. 458

МОДЕЛИРОВАНИЕ НОВЫХ ПИЩЕВЫХ РАЦИОНОВ ГИПОТЕНЗИВНОГО ДЕЙСТВИЯ, ОБОГАЩЕННЫХ БЕЛКАМИ КАРНИТИНАМИ
Радченко М.В., Здрабова Е.М. 458

SIMULATION OF NEW FOOD RA ZION HYPOTENSIVE ACTION, OBO-ENRICHMENT PROTEINS-CARNITINE
Mikhail V. Radchenko, Zdrabova Ekaterina, gb Mr. Professor O. Shalimov 460

РАЗНОЕ
DIFFERENT

ОСОБЕННОСТИ УТИЛИЗАЦИИ МЕДИЦИНСКИХ ОТХОДОВ МОСКОВСКОМ РЕГИОНЕ
Цейтин К.Ф., Розумная Л.А., Островкин П.И. 461

PECULIARITIES OF MEDICAL WASTE IN THE MOSCOW REGION
Tseitin KF, Rozumnaya L.A., Ostrovkin P.I. 462

БИОТЕХНОЛОГИЯ ЛИКВИДАЦИИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕНИЙ АССОЦИАЦИЯМИ НЕФТЕ- И УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ, ИММОБИЛИЗОВАННЫМИ НА СОРБЕНТАХ РАЗНОЙ ПРИРОДЫ
Морозов Н.В., Иванов А.А., Ахметов А.А. 463

PETROLEUM CONTAMINATION REMOVAL USING ASSOCIATION OF PETROLEUM- AND HYDROCARBON OXIDIZING MICROORGANISMS FIXED IN SORBENTS OF VARIOUS NATURE
Morozov N.V., Ivanov A.A., Ahmetov A.A. 464

БИОПРЕПАРАТ «ОН-НОВО» И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ОЧИСТКИ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ НЕФТЕСОДЕРЖАЩИХ СТОЧНЫХ ВОД НА ОБЪЕКТАХ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
Морозов Н.В., Иванов А.А., Жукова О.В., Ахметов А.А. 465

THE ‘ON-NOVO” BIOLOGICAL PREPARATION AND ITS APPLICATION FOR CLEARING THE PETROLEUM-CONTAMINATED TECHNOLOGICAL SEWAGE IN AGRICULTURE
Morozov N.V., Ivanov A.A., Zhukov O. V, Ahmetov A.A. 465

СПОСОБЫ ФИЗИОТЕРАПИИ ДЛЯ ОБУЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ ПОЛЗАНИЮ НА ЧЕТВЕРЕНЬКАХ
Быковская Е.Ю., Жуковская В.А., Жуковский Ю.Г., Никитина Е.Р. 466

THE PHYSIOTHERAPEUTIC METHODS FOR THE TEACHING OF PATIENTS TO THE QUADRUPEDAL CRAWLING
E.Yu. Bykovskaya, V.A. Zhukovskaya, Yu.G. Zhukovskii, E.R.Nikitina 467

СПОСОБЫ ФИЗИОТЕРАПИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КОМБИНИРОВАННЫХ ГИМНАСТИЧЕСКИХ БРУСЬЕВ
Быковская Е.Ю. 467

THE PHYSIOTHERAPEUTIC METHODS WITH THE USE OF THE COMBINED GYMNASTIC BARS
E.Yu. Bykovskaya 468

РОССИЙСКО-ШВЕЙЦАРСКО-НЕМЕЦКИЙ СИМПОЗИУМ«ИННОВАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В БИОФАРМАЦЕВТИКЕ И ОБОРУДОВАНИЕ ДЛЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕДПРИЯТИЙ»

RUSSIAN-SWISS-GERMAN SYMPOSIUM "INNOVATIVE TECHNOLOGIES IN BIOPHARMACEUTICAL AND EQUIPMENT FOR PHARMACEUTICAL COMPANIES"

ДОКЛАДЫ
REPORTS

СВЕРХКРИТИЧЕСКАЯ ФЛЮИДНАЯ МИКРОНИЗАЦИЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ СУБСТАНЦИИ РИСПЕРИДОН
Егоров А.М., Баграташвили В.Н., Попов В.К. 470

SUPERCRITICAL FLUID MICRONIZATION OF PHARMACEUTICAL SUBSTANCE RISPERIDONE
Egorov A.M., Bagratashvili V.N., Popov V.K. 470

ТЕХНОЛОГИИ ИНКАПСУЛЯЦИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ УСТАНОВОК ПСЕВДООЖИЖЕННОГО СЛОЯ И РАСПЫЛИТЕЛЬНОЙ СУШКИ
Гордиенко М.Г. 471

ENCAPSULATION TECHNOLOGIES BY USING FLUID-BED AND SPRAY DRYERS
Gordienko M.G. 471

FLUIDIZED BED SPRAY GRANULATION FOR PHARMACEUTICAL AND BIOTECHNOLOGICAL PRODUCTS
S. Heinric 472

НОВАЯ НЕПРЕРЫВНАЯ ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ ВЫСОКОПОРИСТЫХ МИКРОПОРОШКОВ ПУТЕМ ДИСПЕРГИРОВАНИЯ И СУШКИ ПРИ ОТРИЦАТЕЛЬНЫХ ТЕМПЕРАТУРАХ
Hans Leuenberger, Меньшутина Н.В. 473

NOVEL TECHNOLOGY FOR PRODUCING OF POROUS POWDERS BY SPAYING FREEZE DRYING
Hans Leuenberger, N.V. Menshutina 474

СВЕРХКРИТИЧЕСКАЯ ФЛЮИДНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ КАК ИНСТРУМЕНТ ФРАКЦИОНИРОВАНИЯ И ОЧИСТКИ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ
Покровский О.И. 475

SUPERCRITICAL FLUID CHROMATOGRAPHY AS AN INSTRUMENT FOR PHARMACEUTICAL AND BIOTECHNOLOGY PRODUCTS FRACTIONATION AND PURIFICATION
O.I. Pokrovskiy 476

GMP COMPLIANT PRODUCTION OF BIOTECHNICAL PRODUCTS WITH THE HELP OF BARRIER/ISOLATION TECHNOLOGY, WORLDWIDE APPROVED BY FDA, EMEA, JAPANESE AUTHORITIES ETC
Dr. Paul Ruffieux 477

ПОЛУЧЕНИЕ МИКРО- И НАНОФОРМ БИОФАРМПРЕПАРАТОВ С ПОМОЩЬЮ СВЕРХКРИТИЧЕСКИХ ФЛЮИДНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ
Устинович К.Б. 478

FORMATION OF MICRO- AND NANOPARTICLES OF BIOPHARMACEUTICAL PRODUCTS BY SUPERCRITICAL FLUID TECHNOLOGIES
K.B. Ustinovic 479

CRYSTAL CLOSED VIAL: A SAFER AND EASIER SOLUTION FOR ASEPTIC FILLING OF INJECTABLE DRUGS
Benoit Verjans. 480

МЕМБРАННЫЕ БИОРЕАКТОРА: ИССЛЕДОВАНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ, МОДЕЛИРОВАНИЕ, ПРОЕКТИРОВАНИЕ
Иванов С.И. 480

ПРОЦЕСС ИНКАПСУЛЯЦИИ В ПСЕВДООЖИЖЕННОМ СЛОЕ: ИССЛЕДОВАНИЕ И ПРОГНОЗИРОВАНИЕ КАЧЕСТВА ПОКРЫТИЯ
Голомидов Е.С. 481

ENCAPSULATION PROCESS IN A FLUIDIZED BED: A STUDY AND PREDICTION OF THE COATING QUALITY
Evgeny Golomidov 482

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ РАСПЫЛИТЕЛЬНОЙ СУШКИ НА КАЧЕСТВЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ БИОМАССЫ *RHODOTORULA RUBRA*
Войновский А.А. 483

ПУРОЛАЗА И МИНИПЛАЗМИНОГЕН — ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ ДЛЯ ФИБРИНОЛИТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ
Бибилашвили Р.Ш. 483

БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ ПРОИЗВОДСТВА НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ – ОТ СТАЛИ К ПЛАСТИКУ
Новиков Юрий Николаевич 484

BIOPHARMACEUTICAL PRODUCTION OF A NEW GENERATION — FROM STEEL TO PLASTIC
Yury Novikov 485

МЕЖДУНАРОДНЫЙ СИМПОЗИУМ «НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОЕ СОТРУДНИЧЕСТВО: РОССИЯ – EMBL (ЕВРОПЕЙСКАЯ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРИЯ) В ОБЛАСТИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ»

INTERNATIONAL SYMPOSIUM "SCIENTIFIC AND TECHNICAL COOPERATION: RUSSIA — EMBL (EUROPEAN MOLECULAR BIOLOGY LABORATORY) IN MOLECULAR BIOLOGY"

РОЛЬ ИНСУЛЯТОРНЫХ БЕЛКОВ dCTCF И CP190 В РЕГУЛЯЦИИ ТРАНСКРИПЦИИ У ДРОЗОФИЛЫ
Георгиев П.Г., Максименко О.Г., Стахов В.Л., Четверина Д.А., Ерохин М.М., Бончук А.Н., Комарынец О.В., Фурлонг Е.Е. 486

ROLE OF INSULATOR PROTEINS dCTCF AND CP190 IN T RANSCRIPTION REGULATION OF DROSOPHILA
Georgiev P.G., Maksimenko O.G., Stachov V.L., Chetverina D.A., Erochin M.M., Bomchuk A.N., Komarinec O.V., Furlong E.E. 486

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РЕНТГЕНОВСКИХ ЛАЗЕРОВ И ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСОКПИИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОСТРАНСТВЕННЫХ СТРУКТУР БЕЛКОВ И ПОЛИПЕТИДОВ.
Шайтан К.В., Соколова О.С., Д.А.Долгих, Кирпичников М.П. 487

X-RAY LASERS AND CRYO-ELECTRON MICROSCOPY TECHNIQUES FOR DETERMINATION OF PROTEIN AND POLYPEPTIDE 3-D STRUCTURES
Shaitan K.V., Sokolova O.S., Dolgikh D.A., Kirpichnikov M.P. 487

ДИНАМИКА СВЕРХБЫСТРЫХ СТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ БИООБЪЕКТОВ
Саркисов О.М., Шайтан К.В., Надточенко В.А., Островский М.А.,Кирпичников М.П. 488

ULTRAFAST DYNAMICS OF STRUCTURAL TRANSFORMATIONS IN BIOLOGICAL OBJECTS
Sarkisov O.M., Shaitan K.V., Nadtochenko V.A., Ostrovsky M.A., Kirpichnikov M.P. 489

ОТ КРИСТАЛЛОГРАФИИ ЛИГАНДОВ К РАЦИОНАЛЬНОМУ ДИЗАЙНУ ЛЕКАРСТВ
Ciarán Carolan, Victor Lamzin, Егоров А.М., Григоренко В.Г 491

FROM CRYSTALLOGRAPHIC LIGAND FITTING TO STRUCTURE-BASED DRUG DISCOVERY
Ciarán Carolan, Victor Lamzin, Alexey Egorov, Vitaly Grigorenko 492

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗОБРАЖЕНИЯ С ПОМОЩЬЮ РЕНТГЕНОВСКИХ ЛАЗЕРОВ НА СВОБОДНЫХ ЭЛЕКТРОНАХ
Гровс М., Ламзин В.С., Донцова О.А. Зверева М.Э., Родина Е.В. 492

BIOLOGICAL IMAGING WITH X-RAY FREE ELECTRON LASERS
Matthew Groves, Victor Lamzin, Olga Dontsova, Zvereva Maria, Rodina Elena 493

ИДЕНТИФИКАЦИЯ КОМПОНЕНТОВ И ОСОБЕННОСТЕЙ РАБОТЫ ТЕЛОМЕРАЗЫ H. POLYMORPHA: ПУТЬ К ПОНИМАНИЮ КОНТРОЛЯ КОЛИЧЕСТВА ДЕЛЕНИЙ КЛЕТКИ.
Зверева Мария, Александр Малявко, Смекалова Елена, Петрова Ольга, Родина Елена, Донцова Ольга, Мэтью Гровс, Виктор Ламзин 494

IDENTIFICATION OF COMPONENTS AND FEATURES OF a *H. POLYMORPHA* TELOMERASE COMPLEX: TOWARDS AN UNDERSTANDING OF CELL DIVISION CONTROL
Zvereva Maria , Malyavko Aleksandr, Smekalova Elena, Petrova Olga, Rodina Elena, Dontsova Olga, Matthew Groves, Victor Lamzin 495

ПУРОЛАЗА И МИНИПЛАЗМИНОГЕН — ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ ДЛЯ ФИБРИНОЛИТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ
Бибилашвили Р.Ш. 496

БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ ПРОИЗВОДСТВА НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ – ОТ СТАЛИ К ПЛАСТИКУ
Новиков Юрий Николаевич 496

BIOPHARMACEUTICAL PRODUCTION OF A NEW GENERATION — FROM STEEL TO PLASTIC
Yury Novikov 497

НОВЫЕ МИШЕНИ И НОВЫЕ ПОДХОДЫ ДЛЯ СОЗДАНИЯ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ
Дмитриев А.В.. 498

THE NOVEL APPROACHES AND THE NEW TARGETS FOR DISCOVERING ANTIBACTERIAL AGENTS
Dmitriev A.V. 499

ДЛЯ ЗАМЕТОК
FOR NOTES

ДЛЯ ЗАМЕТОК
FOR NOTES