

Ministry of Science and Higher Education of  
the Republic of Kazakhstan  
Committee of Science

M. Aitkhozhin Institute of Molecular Biology  
and Biochemistry

# **BASIC AND APPLIED RESEARCH IN MOLECULAR BIOLOGY, BIOCHEMISTRY, BIOTECHNOLOGY**

*International Scientific Conference  
of Young Scientists dedicated to the 40th  
anniversary of the founding  
of M.A. Aitkhozhin Institute  
of Molecular Biology and Biochemistry*

Almaty 2023



**МОЛЕКУЛАЛЫҚ БИОЛОГИЯ, БИОХИМИЯ,  
БИОТЕХНОЛОГИЯ САЛАСЫНДАҒЫ ІРГЕЛІ ЖӘНЕ  
ҚОЛДАНБАЛЫ ЗЕРТТЕУЛЕР**

М.Ә. Айтхожин атындағы Молекулалық биология  
және биохимия институтының құрылғанына 40 жыл толуына  
арналған жас ғалымдардың халықаралық  
ғылыми конференциясының материалдары

**ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ  
В ОБЛАСТИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ,  
БИОХИМИИ, БИОТЕХНОЛОГИИ**

Материалы Международной научной конференции молодых  
ученых, посвященной 40-летию со дня основания Института  
молекулярной биологии и биохимии  
имени М.А. Айтхожина

**BASIC AND APPLIED RESEARCH IN MOLECULAR BIOLOGY,  
BIOCHEMISTRY, BIOTECHNOLOGY**

Proceedings of the International Scientific Conference of  
Young Scientists Dedicated to the 40th Anniversary of the Found-  
ing of the M.A. Aitkhozhin Institute of Molecular Biology  
and Biochemistry

ALMATY 2023

УДК 577.1, 577.2  
ББК 28

Под общей редакцией профессора К.О.Шарипова

Редакционная коллегия: Б.К.Искаков, А.А.Хакиmjанов,  
Н.П.Малахова, А.В.Жигайлов, Е.Е.Аширбеков, Н.Н.Галиакпаров,  
К.П.Аубакирова, Остапчук Е.О., Н.Абдолла, Г.А.Исмагулова (отв.  
секретарь сборника), К.А.Искандарова (отв. секретарь оргкомитета)

Молекулалық биология, биохимия, биотехнология саласындағы  
іргелі және қолданбалы зерттеулер = М75 Фундаментальные и  
прикладные исследования в области молекулярной биологии,  
биохимии, биотехнологии = Basic and applied research in molecular  
biology, biochemistry, biotechnology: мат-лы междунар. науч. конф.  
молодых ученых. – Алматы: ИМББ, 2023. 136 с. – Каз., рус., англ.

ISBN 978-601-08-3558-0

В сборнике рассматриваются актуальные вопросы и результаты  
фундаментальных и прикладных исследований в области  
молекулярной биологии, биохимии, иммунологии, биомедицины,  
биотехнологии, геномной и клеточной инженерии. Рассчитан на  
широкий круг научных работников, преподавателей и студентов.

УДК 577.1, 577.2  
ББК 28

ISBN 978-601-08-3558-0

© ИМББ, 2023

ISBN 978-601-08-3558-0



9 786010 835580

## Құрметті қонақтар, әріптестер және жас ғалымдар!

Мұрат Әбенұлы Айтхожин атындағы Молекулалық биология және биохимия институтының құрылғанына 40 жыл толуына арналған "Молекулалық биология, биохимия, биотехнология саласындағы іргелі және қолданбалы зерттеулер" атты жас ғалымдардың халықаралық конференциясына қош келдіңіздер.

Институт 1983 жылы Қазақстанда биология мен биотехнологияның заманауи бағыттарын дамыту мақсатында Кеңес одағының коммунистік партиясының орталық комитетінің, КСРО Министрлер Кеңесінің, Қазақ КСР Министрлер Кеңесінің және Қазақ КСР Ғылым Академиясы Президиумының қаулылары негізінде құрылды. Институттың негізін қалаушы және бірінші директоры, көрнекті ғалым және ғылымды ұйымдастырушы, Қазақ КСР Ғылым Академиясының президенті, Ленин сыйлығының лауреаты – Мұрат Әбенұлы Айтхожин болды, бүгінде Молекулалық биология және биохимия институты оның есімімен аталады.

Институт ғалымдардың күш-жігерін біріктіру үшін, тірі организмдердің тіршілік әрекетінің молекулалық механизмдерін зерттейтін ғылыми платформаны қамтамасыз ету және олардың болашақта ауыл шаруашылығы мен медицинада қолданылуын жүзеге асыру мақсатында құрылды.

Институттың ғылыми қызметінің негізгі бағыттары ақуыз биосинтезін және оның реттелуін, геннің физика-химиялық қасиеттерін, дәнді дақылдардың биохимиясын, молекулалық әсер ету механизмдерін және физиологиялық белсенді қосылыстардың метаболизм жолдарын зерттеу болды.

Алғашқыда Институтта бес зертхана ұйымдастырылған болатын: ақуыз және нуклеин қышқылдары, дәнді дақылдар биохимиясы, табиғи қосылыстар алмасуының энзимологиясы, ферменттердің құрылымы мен реттелуі, алкалоидтар биохимиясы. Кейінірек Институтта тағы үш зертхана ұйымдастырылды – жасушалық инженерия, генетикалық инженерия, трансгеноз, олардың негізгі ғылыми бағыты өсімдіктердің жасушалық және генетикалық инженериясының іргелі және әдістемелік негіздерін әзірлеу болды.

Институттың негізгі ғылыми бағыттарының қалаушы – жетекшілері: ҚазКСР ҒА академигі Т.Б. Дарқанбаев, ҚазКСР ҒА корреспондент-мүшесі Л.К. Қылышев, ҚазКСР ҒА академигі М.Ә. Айтхожин, б.ғ.д., проф. Р.А. Қонаева, б.ғ.д., проф. М.Қ. Гильманов, б.ғ.д., проф. М.Қ. Қарабаев, б.ғ.д., проф. А.Б. Беклемишев, б.ғ.к. С.З. Заиров болды.

Институтта ғалымдардың құзіреттілігі мен біліктілігі жоғары ұжым қалыптасты, олардың көпшілігі еліміздің ең мықты ғылыми-зерттеу институттарында ғылыми дайындықтан өтті және олардың жұмыстары елімізде және шетелде танылды. Институттың ғылыми зерттеулері КСРО Ғылым академиясының Ақуыз институты, А.Н. Бах атындағы Биохимия институты мен Молекулалық биология институты және т.б. ғылыми мекемелермен тығыз ынтымақтастықта болып дамыды.

1988 жылы Қазақ КСР Министрлер Кеңесінің қаулысымен ҚазКСР Ғылым академиясының Молекулалық биология және биохимия институтына Мұрат Әбенұлы Айтхожиннің есімі берілді.

1988-2019 жылдары Институтты ҚР ҰҒА академигі Нағима Әбенқызы Айтхожина басқарды. Бұл жылдардың КСРО ыдырауына тұспа-тұс келгеніне және егемен Қазақстанның қайта құрылуы мен қалыптасуының қиын жылдары болғанына қарамастан Институт ғылыми ізденістерін тоқтатпай жаңа ғылыми бағыттарды дамыта түсті, оған дәлел ретінде, экспрессиясының молекулалық механизмдері, дәнді дақылдар геномының құрылымдық-функционалдық ұйымдастырылуы, фитопатогендерге төзімділіктің молекулалық және биохимиялық механизмдері, этно-және палеогеномика, тірі жасушалардағы биологиялық процестері, микрогравитация (Ғарыштық биология және биотехнология), молекулалық және жасушалық

иммунология, геномдық және дербестендірілген медицина салаларындағы ізденістер мен мақалаларды айтуға болады.

М.Ә. Айтхожин атындағы Молекулалық биология және биохимия институтының одан әрі дамуы мен оның халықаралық деңгейде танылуына ҚР ҰҒА академияның академика Н.Ә. Айтхожина мен М.Қ. Гильманов, биология ғылымдарының докторлары Б.Қ. Ысқақов, Р.М. Қонаева, М.Қ. Қарабаев, Н.Н. Беляев, О.В. Фурсов, Т.С. Балмуханов, биология ғылымдарының кандидаттары С.З. Заиров, Ж.К. Жардемали, А.А. Хакимов, Г.А. Исмагулова және т.б. ғалымдар баға жетпес үлес қосты.

2019 жылдан бастап биология ғылымдарының докторы, профессор Камалидин Орынбайұлы Шарипов Институттың бас директоры болып тағайындалды. Ол биохимия, молекулалық биология және биомедицина саласының маманы ретінде Институттың ғылыми дәстүрлерін жалғастырып келеді. Шарипов К.О. жетекшілігімен ғылым мен білім берудің халықаралық ынтымақтастығы мен интеграциясы аясында Институт Кантербери университетімен, Адам және өмір туралы ғылымдар мектебімен (Canterbury Christ Church University, School of Human and Life Sciences), Густав Русси институтымен (Institute Gustave Roussy, Université Paris-Saclay), РФ ДСМ В.А. Алмазов Ұлттық медициналық зерттеу орталығымен, РФ Орал бөлімшесінің Пермь федералды зерттеу орталығымен, әл-Фараби атындағы ҚазҰУ-мен, С.Д. Асфендияров атындағы ҚазҰМУ-мен, Қ.И. Сәтбаев атындағы ҚазҰТУ-мен, Қазақстан-Ресей медициналық университетімен және Ғылым қорымен ғылыми байланыстар жолға қойылып, жаңа білім мен құзыреттіліктер игеріліп, біріккен ғылыми жобалар жасалып, коллаборативті зерттеулер жүргізілуде.

Бүгінгі таңда Институттың негізгі қызметі - адамның, жануарлардың, өсімдіктер мен микроорганизмдердің жалпы және молекулалық генетикасы мен жасушалық биологиясы саласында ғылыми зерттеулер жүргізуге, гендік және жасушалық биология, дербестендірілген медицина салаларының қазіргі заманғы бағыттарын дамыту, медицина, экология және ауыл шаруашылығы үшін диагностикалар мен тест-жүйелерді әзірлеу.

Соңғы онжылдықтағы іргелі биология мен биомедицинадағы жетістіктер оның бұрынғы тарихындағы нәтижелерден асып түсетіні анық. Молекулалық биология, биоинженерия, геномика, протеомика және басқа омикс ғылымдарындағы прогресстің жылдамдығы соншалықты, ол ғылыми құзыреттілікті үнемі жетілдіруді, жаңа білім мен технологияларды игеруді талап етеді. Осыған байланысты, Мұрат Әбенұлы Айтхожин атындағы Молекулалық биология және биохимия институтының басымдық міндеттерінің бірі - елдің ғылыми әлеуетін нығайту және Институтты одан әрі дамыту мақсатында ғылыми кадрлардың жаңа буыны - жас ғалымдарды даярлау болып табылады.

Конференцияның барлық қатысушыларына жемісті еңбек тілейміз!

**Конференцияның ұйымдастыру комитеті**

## **Уважаемые участники конференции! Дорогие гости, коллеги!**

Сердечно приветствуем вас на Международной конференции молодых ученых «Фундаментальные и прикладные исследования в области молекулярной биологии, биохимии, биотехнологии», посвященной 40-летию со дня основания Института молекулярной биологии и биохимии имени М.А. Айтхожина.

Институт молекулярной биологии и биохимии был создан в 1983 году в целях развития в Казахстане современных направлений биологии и биотехнологии на основании постановлений ЦК КПСС, Совета Министров СССР, Совета Министров Казахской ССР и Президиума Академии наук Казахской ССР.

Основателем и первым директором Института молекулярной биологии и биохимии был выдающийся казахстанский ученый и организатор науки, Президент Академии наук КазССР, лауреат Ленинской премии – академик Мурат Абеневич Айтхожин, имя которого сегодня носит Институт.

Институт создавался для объединения усилий ученых и обеспечения научной платформы для исследований молекулярных механизмов жизнедеятельности живых организмов и их применению в будущем в сельском хозяйстве и медицине.

Основными направлениями научной деятельности института стали изучение биосинтеза белка и его регуляции, физико-химических свойств гена, биохимии зерновых культур, молекулярных механизмов действия и пути метаболизма физиологически активных соединений.

В институте были организованы пять лабораторий: белка и нуклеиновых кислот, биохимии зерновых культур, энзимологии обмена природных соединений, структуры и регуляции ферментов, биохимии алкалоидов. Позднее в Институте были организованы еще три лаборатории – клеточной инженерии, генетической инженерии, трансгеноза, научным направлением которых была разработка фундаментальных и методических основ клеточной и генетической инженерии растений.

Руководителями основных научных направлений института стали академик АН КазССР Дарканбаев Т.Б., член-корреспондент АН КазССР Клышев Л.К., академик АН КазССР Айтхожин М.А., д.б.н., проф. Кунаева Р.А., д.б.н., проф. Гильманов М.К., д.б.н., проф. Карабаев М.К., д.б.н., проф. Беклемишев А.Б., к.б.н. Заиров С.З.

В Институте сложился сильный коллектив ученых, большинство из которых прошли научную подготовку в центральных НИИ страны, их работы были признаны в стране и за рубежом. Исследования велись в тесном сотрудничестве с такими научными учреждениями как Институт белка АН СССР, Институт биохимии имени А.Н. Баха, Институт молекулярной биологии АН СССР и др.

В 1988 году постановлением Совета Министров Казахской ССР Институту молекулярной биологии и биохимии АН КазССР было присвоено имя Мурата Абеневича Айтхожина.

С 1988 по 2019 годы Институт возглавила академик НАН РК Нагима Абеневна Айтхожина. Несмотря на то, что это были нелегкие годы распада СССР, перестройки и становления суверенного Казахстана, институт продолжал работать и развивать новые научные направления, такие молекулярные механизмы экспрессии генов, структурно-функциональная организация генома злаковых культур, молекулярные и биохимические механизмы устойчивости к фитопатогенам, энто- и палеогеномика, биологические процессы в живых клетках, подверженных влиянию микрогравитации (космическая биология и биотехнология), молекулярная и клеточная иммунология, геномная и персонализированная медицина.

Неоценимый вклад в дальнейшее развитие Института молекулярной биологии и биохимии им. М.А.Айтхожина и его признание на международном уровне внесли академик НАН РК Айтхожина Н.А., академик НАН РК Гильманов М.К., доктор

биологических наук Исаков Б.К., доктор биологических наук Кунаева Р.М., доктор биологических наук Карабаев М.К., доктор биологических наук Беляев Н.Н., доктор биологических наук Фурсов О.В., доктор биологических наук Балмуханов Т.С., кандидат биологических наук Заиров С.З., кандидат биологических наук Жардемали Ж.К., кандидат биологических наук Хакимжанов А.А., кандидат биологических наук Исмагулова Г.А. и многие другие.

С 2019 года директором Института является доктор биологических наук, профессор Камалидин Орынбаевич Шарипов – специалист в области биохимии, молекулярной биологии и биомедицины, который продолжает научные традиции института. Под руководством К.О. Шарипова в рамках международной коллаборации и интеграции науки и образования Институтом инициированы и заключены договоры о сотрудничестве с Кэнтерберийским университетом Крайст Черч, Школа наук о человеке и жизни (Canterbury Christ Church University, School of Human and Life Sciences), Институтом Густава Русси, (Institute Gustave Roussy, Université Paris-Saclay), Национальным медицинским исследовательским центром им. В.А. Алмазова МЗ РФ, Пермским федеральным исследовательским центром Уральского отделения РАН, КазНУ им. аль Фараби, КазНМУ им. С.Д. Асфендиярова, КазНТУ им. К.И. Сатпаева, Казахстанско-Российским медицинским университетом, АО «Фонд науки» и др. В результате налажены научные связи, освоены новые знания и компетенции, разработаны совместные проекты, проводятся коллаборативные исследования.

На сегодняшний день, основная деятельность ИМББ им. М.А.Айтхожина направлена на проведение научных исследований в области общей и молекулярной генетики и клеточной биологии человека, животных, растений и микроорганизмов, развитие современных направлений геномной и клеточной биологии, персонализированной медицины, разработка диагностикумов и тест-систем для медицины, экологии и сельского хозяйства.

Очевидно, что достижения последних десятилетий в области фундаментальной биологии и биомедицины, превосходят результаты, достигнутые за всю ее предыдущую историю. Прогресс в молекулярной биологии, биоинженерии, геномике, протеомике и других омикс науках сегодня настолько стремителен, что требует постоянного совершенствования научных компетенций, освоения новых знаний и технологий. И, в этой связи, одной из приоритетных задач Института молекулярной биологии и биохимии имени М.А. Айтхожина является работа по подготовке нового поколения научных кадров, молодых ученых для дальнейшего развития Института и укрепления научного потенциала страны.

Желаем всем участникам конференции плодотворной работы!

**Оргкомитет конференции**

**Dear conference participants!**

**Dear guests, colleagues!**

We cordially welcome you at the International Conference of Young Scientists “Basic and Applied Research in the Field of Molecular Biology, Biochemistry, Biotechnology”, dedicated to the 40th anniversary of the establishment of M.A. Aitkhozhin Institute of Molecular Biology and Biochemistry.

The Institute was created in 1983 for the development of current areas of biology and biotechnology in Kazakhstan on the basis of resolutions of the Central Committee of the Communist Party, the Council of Ministers of the USSR, the Council of Ministers of the Kazakh SSR and the Presidium of the Academy of Sciences of the Kazakh SSR.

The founder and first director of the Institute was an outstanding scientist and organizer of science, President of the Academy of Sciences of the Kazakh SSR, Lenin Prize laureate - Murat Abenovich Aitkhozhin; the Institute of Molecular Biology and Biochemistry is named after him.

The Institute was created to unite the efforts of scientists and provide a scientific platform for research of the molecular mechanisms of living organisms and their further application in agriculture and medicine.

The main scientific directions of the institute were the study of protein biosynthesis and the molecular mechanisms of its regulation, the study of the plant genome and gene expression, the biochemistry of grain crops, key enzymes of cell metabolism and physiologically active compounds.

The institute consisted of five laboratories: protein and nucleic acids, biochemistry of grain crops, enzymology of the metabolism of natural compounds, structure and regulation of enzymes, biochemistry of alkaloids. Later, three more laboratories were organized at the Institute - cellular engineering, genetic engineering, transgenesis, the scientific direction of which was the development of fundamental and methodological foundations of cellular and genetic engineering of plants.

The heads of the main scientific directions of the institute were academician of the Academy of Sciences of the KazSSR T.B. Darkanbaev, corresponding member of the Academy of Sciences of the KazSSR L.K. Klyshev, academician of the Academy of Sciences of the KazSSR M.A. Aitkhozhin, doctor of biological sciences, professor R.A. Kunaeva, doctor of biological sciences, professor M.K. Gilmanov, doctor of biological sciences, professor M.K. Karabaev, doctor of biological sciences, professor A.B. Beklemishev, candidate of biological sciences S.Z. Zairov.

The Institute has a strong team of scientists, most of them received scientific training at the country's central research institutes, and their work was recognized in the country and abroad. Research was carried out in close collaboration with such scientific institutions as the Institute of Protein of the USSR Academy of Sciences, the Institute of Biochemistry named after A.N. Bach, Institute of Molecular Biology of the USSR Academy of Sciences, etc.

In 1988, by a resolution of the Council of Ministers of the Kazakh SSR, the Institute of Molecular Biology and Biochemistry of the Academy of Sciences of the Kazakh SSR was named after Murat Abenovich Aitkhozhin.

From 1988 to 2019, the Institute was headed by the academician of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan (NAS RK) Nagima Abenovna Aitkhozhina. Despite the fact that these were difficult years of the collapse of the USSR, perestroika and the formation of sovereign Kazakhstan, the institute continued to work and develop new scientific directions, such as molecular mechanisms of gene expression, structural and functional organization of the genome of cereal crops, molecular and biochemical mechanisms of resistance to phytopathogens, ethno - and paleogenomics, biological processes in living cells exposed to microgravity (space biology and biotechnology), molecular and cellular immunology, genomic and personalized medicine.

Invaluable contribution to the further development of the Institute of Molecular Biology and Biochemistry named after M.A. Aitkhozhin and its recognition at the international level were brought by academician of the NAS RK N.A. Aitkhozhina, academician of the NAS RK M.K. Gilmanov, doctor of biological sciences B.K. Iskakov, doctor of biological sciences R.M. Kunaeva, doctor of biological sciences M.K. Karabaev, doctor of biological sciences N.N. Belyaev, doctor of biological sciences O.V. Fursov, doctor of biological sciences T.S. Balmukhanov, candidate of biological sciences S.Z. Zairov, candidate of biological sciences Zh.K. Zhardemali, candidate of biological sciences A.A. Khakimzhanov, candidate of biological sciences G.A. Ismagulova and many others.

Since 2019, the director of the Institute is doctor of biological sciences, Professor Kamalidin Orynbaevich Sharipov, a specialist in the field of biochemistry, molecular biology and biomedicine, who continues the scientific traditions of the Institute. Under the leadership of K.O. Sharipov, within the framework of international collaboration and integration of science and education, the Institute initiated and concluded cooperation agreements with Canterbury Christ Church University, School of Human and Life Sciences; Institute Gustave Roussy, Université Paris-Saclay; National Medical Research Center named after V.A. Almazov under the Ministry of Health of the Russian Federation, Perm Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, KazNU named after al Farabi, KazNMU named after S.D. Asfendiyarov, KazNTU named after K.I. Satpayev, Kazakh-Russian Medical University, Science Foundation JSC, etc. As a result, scientific connections have been established, new knowledge and competencies have been mastered, joint projects have been developed, and collaborative research is being conducted.

Today, the main activities of M.A. Aitkhozhin IMBB are aimed at conducting scientific research in the field of general and molecular genetics and cellular biology of humans, animals, plants and microorganisms, the development of modern directions of gene and cell biology, personalized medicine, the development of diagnostics and test systems for medicine, ecology and agriculture.

It is obvious that the achievements of recent decades in fundamental biology and biomedicine exceed the results achieved throughout its entire previous history. Progress in molecular biology, bioengineering, genomics, proteomics and other omics sciences is so rapid that it requires constant improvement of scientific competencies and the development of new knowledge and technologies. And, in this regard, one of the priority tasks of the M.A. Aitkhozhin Institute of Molecular Biology and Biochemistry is working to train a new generation of scientific staff, young scientists for the further development of the Institute and strengthening the scientific potential of the country.

We wish all the participants to have fruitful work during the conference!

**Conference Organizing Committee**

1  
SECTION / БӨЛІМ / СЕКЦИЯ

MOLECULAR BIOLOGY / МОЛЕКУЛАЛЫҚ БИОЛОГИЯ / МОЛЕКУЛЯРНАЯ  
БИОЛОГИЯ

## INVESTIGATION OF DNA STRAND EQUIVALENCE IN HUMAN MITOCHONDRIA

**A. Alikul<sup>1</sup>, D. Manapkyzy<sup>1</sup>, A. Ishchenko<sup>2</sup>, M.K. Saparbaev<sup>2</sup>, S.M. Taipakova<sup>1</sup>**

1 - SRI of Biology and Biotechnology Problems, Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, 050040, Almaty, 71 al-Farabi Ave.

2 - Université Paris-Saclay, Gustave Roussy Cancer Campus, France, F-94805, Villejuif Cedex, 114, rue Édouard-Vaillant  
e-mail: sabira.taipakova@gmail.com

**Keywords: Mitochondrial DNA, The Meselson–Stahl Experiment, DNA strand equivalence, Nucleotide composition bias, Stable isotope labeling**

In genetics, two complementary strands in a duplex DNA are referred as a Watson (W) strand and a Crick (C) strand. In cellular organisms, the semiconservative mode of replication ensures that each daughter cell receives a chromosome containing old parental (W or C) and its newly synthesized complementary strand. This classic paradigm assumes the equivalence of W and C strands, as they replicate a near-exact number of times in more than 90% of cells in a sufficiently large population derived from a single cell. This strand equivalence is not respected in certain non-cellular organisms such as ssDNA and RNA viruses.

The aim of this work is to study DNA strand equivalence in human mitochondria, which possess their own unique genomic DNA known as mitochondrial (mt) DNA. The mechanism of mtDNA replication has been studied for decades, but the exact process and its possible relationship to the nucleotide composition skew and highly specific pattern of somatic mutations in mtDNA remain unclear. Inspired by the classic Meselson-Stahl experiment performed in 1958, in which different patterns of DNA replication were distinguished using stable isotope labeling, we use a similar approach to study mtDNA strand equivalence in human mitochondria.

Our experimental approach involved the cultivation of human HeLa S3 cells in medium containing heavy isotope D-glucose-<sup>13</sup>C<sub>6</sub>. After reaching 80% confluency, cells from 3/4 of the dishes were switched to light isotope D-glucose-<sup>12</sup>C<sub>6</sub> DMEM media for 2.5, 5, and 7.5 hours. Meanwhile, cells from the remaining 1/4 were subjected to mtDNA isolation using the Mitochondrial DNA Isolation Kit purchased from Abcam. The isolated mtDNA was enzymatically digested to deoxynucleosides, followed by HPLC-ESI-MSn analysis to measure the Heavy-to-Light isotope <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C ratio.

In control experiment, analysis of the carbon isotope content of mtDNA from HeLa S3 cells grown under normal D-glucose-<sup>12</sup>C<sub>6</sub> culture conditions, revealed a minor fraction (~10%) of deoxyadenosines (dA) incorporated one atom of <sup>13</sup>C isotope, with the majority of dA containing only common <sup>12</sup>C for all 10 carbon atoms. This weak labeling results from the 1.1% natural heavy isotope <sup>13</sup>C abundance in natural D-glucose. However, when cells were grown for a week up to confluence in D-glucose-<sup>13</sup>C<sub>6</sub>-supplemented DMEM, most dA contained from 5 to 10 of <sup>13</sup>C atoms. A fraction of dA (6%) remained unlabeled even after a weeklong culturing in heavy isotope media, suggesting that D-glutamine may serve as an alternative carbon source for deoxynucleoside synthesis. When HeLa S3 cells, after growth in heavy isotope medium, were cultured in light-isotope DMEM media for 2.5, 5 and 7.5 h, the percentage of dA with no <sup>13</sup>C atom was steadily increasing. Even after 7.5 h only about 20% of dA lost their heavy isotope <sup>13</sup>C. This suggests that 7.5 h of cultivation in light-isotope DMEM medium is insufficient to replace the <sup>13</sup>C isotope by <sup>12</sup>C one in their mtDNA.

## EVALUATING THE CHANGES AND LEVELS IN TLR7, TLR4 AND TMPRSS13 GENE EXPRESSION AMONG INDIVIDUALS IMMUNIZED WITH SPUTNIK-V

A.B. Balgabekova

*Medical University of Karaganda, Kazakhstan, 100012, Karaganda, Gogol str. 40  
e-mail: AruzhanP@qmu.kz*

**Keywords:** gene expression, "Sputnik-V" vaccine, SARS-CoV-2

The "Sputnik-V" vaccine, based on adenoviral vectors carrying the Spike protein gene of SARS-CoV-2, has been approved in 71 countries. Research validated by The Lancet confirmed the safety and efficacy of this vaccine, contributing noting its ability to elicit a robust immune response against SARS-CoV-2. This study focuses on Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMCs), essential for vaccine-induced immunity. We examined the levels of TLR7, TLR4 and TMPRSS13 expression in PBMCs to investigate the impact of the adenoviral vector on receptor interactions and sets off subsequent inflammatory pathways.

The study involved 27 participants. Blood samples were collected pre-vaccination, 21 days after each dose, and 6 months later. PBMCs were isolated by centrifugation in a Ficoll density gradient. The integrity of isolated RNA (PureLink, Invitrogen, USA) was assessed, and cDNA was synthesized from the selected samples (High Capacity RNA-to-cDNA kit, Applied Biosystems, USA). qPCR was performed using SYBR Green. To quantify the data, CFX Manager software 3.1 was used with subsequent analysis by the  $\Delta\Delta C_t$  method. The expression of TBP and GAPDH genes was assessed as endogenous controls. Statistical analysis was conducted using the Kruskal-Wallis test in SPSS 26 software.

The obtained data ( $\Delta\Delta C_t$  analysis), were transformed into  $\log_2 FC$  for ease of interpretation. Thus, for TLR7,  $\log_2 FC$  was 3.77 after the first vaccine dose, 2.54 after the second dose, and 1.42 six months later ( $p=0.023$ ); for TLR4,  $\log_2 FC$  was 1.95 after 1 dose, 2.43 after 2 doses, and 1.88 six months later ( $p<0.001$ ); for TMPRSS13,  $\log_2 FC$  was 2.14 after 1 dose, 1.92 after 2 doses, and 1.6 six months later ( $p<0.001$ ).

Based on our findings, all study groups, including those observed after six months, showed elevated levels of TLR7, TLR4 and TMPRSS13 genes compared to baseline. This upregulation of Toll-like receptors in post-vaccination is expected, as they play a crucial role in the immune response by interacting with foreign proteins and nucleic acids. Additionally, TMPRSS13 levels were consistently high, suggesting its role in facilitating the S protein's cellular entry. Overall, our results paint a nuanced portrait of how PBMCs react to the vaccine, encompassing a diverse cellular immune response mediated by toll-like receptors and cytokines.

# INVESTIGATING DIFFERENTIALLY EXPRESSED MICRORNA PROFILES IN HUNTINGTON'S DISEASE AND THEIR POTENTIAL AS BIOMARKERS FOR NEURODEGENERATIVE DISORDERS

**A.M. Belkozhavev<sup>1,2,3</sup>, K.O. Sharipov<sup>1</sup>, C.M. Wilson<sup>2,4</sup>**

1 - M.A. Aitkhozhin Institute of Molecular Biology and Biochemistry, Kazakhstan, 050012,

Almaty, Dosmukhamedova, 86.

2 - Canterbury Christ Church University, School of Human and Life Sciences, Life Sciences Industry Liaison Lab, Canterbury, UK

3 - Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, 050040, Almaty, al-Farabi, 71

4 - University of Liverpool, Institute of Translation Medicine, Dept of Molecular & Clinical Cancer Medicine, Liverpool, UK

e-mail: belkozhavev1991@gmail.com

**Keywords: differentially expressed miRNA, Huntington's disease, neurodegenerative disorders, biomarkers**

Huntington's disease (HD) is a devastating neurodegenerative disorder characterized by progressive motor, cognitive, and psychiatric impairments. Despite decades of research, the molecular mechanisms underlying its diverse clinical manifestations remain elusive. One of the promising directions in the study of HDs is to determine the role of miRNAs. Identifying differentially expressed miRNAs in HD could provide valuable insights into disease pathogenesis and offer potential biomarkers and therapeutic targets for future interventions.

This study aimed to explore differentially expressed miRNAs in Huntington's disease as biomarkers for neurodegenerative disorders such as Alzheimer's Disease, Parkinson's Disease, and Motor Disorders.

Using the HTG EdgeSeq system, expression profiles were measured for 2,083 miRNAs (top 20 miRNAs: miR-3687, miR-4417, miR-1273g-5p, miR-3648, miR-612, miR-1273h-5p, miR-4484, miR-504-3p, miR-4261, miR-411-5p, miR-32-5p, miR-301a-3p, miR-135a-5p, miR-876-3p, miR-889-3p, miR-148a-3p, miR-126-5p, miR-495-3p, let-7f-2-3p and miR-22-5p) in SH-SY5Y cells which were transfected stably expressing with wild type normal and mutant Htt. Integrating these findings with existing knowledge of Alzheimer's Disease, Parkinson's Disease, and Motor Disorders, we hypothesized that some of these dysregulated miRNAs might play a role in shared pathological pathways across these disorders.

To validate the potential utility of these miRNAs as biomarkers, we will perform quantitative polymerase chain reaction (qPCR) on an independent cohort of neurodegenerative disorder patients, and healthy individuals. Differentially expressed miRNAs in HD may show significant changes in Alzheimer's Disease, Parkinson's Disease, and motor disorder cohorts, suggesting a potential shared signature of miRNA dysregulation among these diseases. The results may demonstrate the potential of these miRNAs as non-invasive biomarkers to differentiate between HD, Alzheimer's Disease, Parkinson's Disease, and Motor Disorders. These findings may pave the way for future studies exploring the use of miRNAs as diagnostic and prognostic tools and may aid in the development of targeted therapeutic interventions for these neurological conditions.

## POTENTIAL ROLE OF RNA AND DNA ADENINE METHYLATION IN R-LOOPS REGULATION IN *ESCHERICHIA COLI*

E.Y. Olevnikova, N.A. Zhigalova

Federal Research Centre "Fundamentals of biotechnology" RAS, Russia, 119071, Moscow  
e-mail: rusnlkaterina@icloud.com

**Keywords:** DNA and RNA modifications, N<sup>6</sup>-methyladenosine, N<sup>6</sup>-methyldeoxyadenosine, R-loops, Dam methylation, *Escherichia coli*

N<sup>6</sup>-methyladenosine (m<sup>6</sup>A) is RNA modification that contributes to a number of different aspects of messenger RNA (mRNA) metabolism in eukaryotes. Several recent studies suggest that in mammals m<sup>6</sup>A is involved in regulation of R-loops, three-stranded nucleic acid structures composed of an RNA:DNA hybrid and a displaced single-stranded DNA, that represent a major source of genomic instability in living cells.

Recently, it was shown that m<sup>6</sup>A is present on RNA:DNA hybrids in eukaryotes and that this modification can regulate the stability of RNA:DNA hybrids. Corresponding studies on prokaryotes have not yet been conducted, so the following questions were posed in this study: is m<sup>6</sup>A modification present on RNA:DNA hybrids in prokaryotes; if so, is the role of m<sup>6</sup>A in regulating stability of RNA:DNA hybrids conserved between eukaryotes and prokaryotes. Since prokaryotic genomes also possess a DNA analogue of m<sup>6</sup>A (N<sup>6</sup>-methyldeoxyadenosine, 6mA) in their genomes, in this work, we likewise aimed to understand how 6mA modification on DNA affects R-loop metabolism in bacteria. To answer these questions, we have identified both RNA m<sup>6</sup>A and DNA 6mA modifications and DNA:RNA hybrids based on DNA immunoprecipitation sequencing (DIP-seq) and DNA-RNA immunoprecipitation sequencing (DRIP-seq) techniques that were carried out in *E. coli*. In addition, we examined the distribution of 6mA on DNA in our datasets using Oxford Nanopore sequencing as the validation step.

In this study, we show that RNA m<sup>6</sup>A is present on RNA:DNA hybrids in *E. coli*. Moreover, a subset of R-loops localised mainly in TSS and promoter regions overlaps with loci highly enriched with DNA 6mA in this bacterium. Furthermore, we demonstrate that the depletion of *Dam*- dependent DNA adenine methylation in *E. coli* leads to a substantial decrease in the number of R-loop peaks associated with disappearance of this modification from corresponding genomic regions.

Collectively, our data imply that both RNA m<sup>6</sup>A and DNA 6mA are likely involved in the R-loop biogenesis in prokaryotes. Our results also suggest that DNA 6mA and RNA:DNA hybrids may play functional roles in regulation of transcription of at least some genes in *E. coli*. We hypothesize that DNA destabilization with methyladenine may be necessary for efficient transcription and, at the same time, may lead to the formation of R-loops in bacteria. Further studies elucidating exact functions of adenine methylation in R-loops regulation should be instrumental for understanding the fundamental aspects of biology of these structures and for development of novel approaches to therapy of cancer and other R-loops-related diseases such as neurological conditions and autoimmune disorders.

## STUDY OF THE EPIZOOTIC SITUATION ON CAMELPOX IN THE WESTERN AND SOUTHERN REGIONS OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

Y.O. Ostapchuk<sup>1,2</sup>, A.S. Mashzhan<sup>1</sup>, S.A. Kan<sup>1,2</sup>, A.V. Lushova<sup>1,2</sup>, A.V. Zhigailov<sup>1,2</sup>,  
Y.V. Perfilyeva<sup>1,2</sup>, N. Abdolla<sup>1,2</sup>, S.A. Kuvatbekova<sup>1</sup>, D.A. Naizabayeva<sup>1,2</sup>,  
S.M. Mamadaliyev<sup>1</sup>

1 - Almaty Branch of the National Center for Biotechnology,  
Kazakhstan, 050054, Almaty, 14 Zhahanger Str.

2 - M.A. Aitkhozhin Institute of Molecular Biology and Biochemistry,  
Kazakhstan, 050012, Almaty, 86 Dosmukhamedov Str.  
e-mail: katyostapchuk@gmail.com

**Keywords:** camelpox virus, camel, vaccine-induced immunity, risk factor, Kazakhstan

Camelpox is a contagious infectious disease of Old World camelids caused by camelpox virus (CMLV), which is endemic in most camelid breeding countries and causes significant economic losses. Several major outbreaks of this infection have been recorded in Kazakhstan. However, the epidemiology of this infection in the country is still unclear. Unfortunately, surveillance studies have been virtually absent in Kazakhstan, with the exception of Mangystau oblast, although camelid breeding is widespread in many parts of the country.

The aim of this study was to determine the prevalence of CMLV and the level of vaccine-induced protection in western and southern Kazakhstan.

From October 2021 to December 2022, blood samples were collected from 572 dromedary camels from 63 herds in seven oblasts of the western and southern regions of Kazakhstan. A total of 486 samples were tested for specific anti-CMLV antibodies by ELISA and 572 samples were tested for CMLV DNA by conventional PCR. Seroprevalence in unvaccinated and vaccinated camels was found to be 34.7 % (92/265) and 88.7 % (196/221), respectively. All seropositive unvaccinated camels were found in Atyrau oblast. The CMLV DNA was detected in three (1.1 %) unvaccinated seropositive camels from Atyrau oblast. Sequence analysis of the C18L-like protein gene and the ATI fragment S gene showed 100% nucleotide similarity with CMLV isolates found during camelpox outbreaks in Israel in 2016 and in Kazakhstan in 1996. Regression analysis revealed that gender, age group, farm category, and camel density were risk factors for camelpox in Kazakhstan.

The obtained results confirm the circulation of CMLV in Atyrau oblast of Kazakhstan and raise concern regarding CMLV preventive measures in the region.

# N6-METHYLADENOSINE AS A DETERMINANT OF R-LOOP METABOLISM AND GENOME STABILITY IN HUMAN PLURIPOTENT STEM CELLS

A.S. Ruzov

*Federal Research Centre "Fundamentals of biotechnology" RAS, Russia, 119071,  
Moscow*

*e-mail: alexey.ruzov@gmail.com*

**Keywords: R-loops, RNA modifications, N6-methyladenosine, genome stability, YTHDF2**

R-loops are formed by an RNA/DNA hybrid and an unpaired single stranded DNA and involved in a number of important biological processes, ranging from transcriptional regulation to DNA repair in mammalian cells. Although R-loops were initially considered as a harmful by-product of transcription representing a source of genomic instability, a number of studies imply that these structures may also encode higher order regulatory information.

We recently demonstrated that m6A, a modification involved in regulation of several steps of messenger RNA metabolism, is detectable on the majority of RNA/DNA hybrids in human pluripotent stem cells. We showed that the m6A reader promoting mRNA degradation, YTHDF2, interacts with R-loop-enriched loci and prevents accumulation of R-loops in dividing cells.

Here we show that another m6A nuclear reader involved in mRNA processing and alternative splicing, heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2/B1 (HNRNPA2B1), cooperates with YTHDF2 in resolving RNA/DNA hybrids that accumulate in intronic regions in human pluripotent stem cells. According to our results, knockout of HNRNPA2B1 results in the accumulation of R-loops on a number of introns that are prone to the formation of RNA/DNA hybrids and on SINE/Alu repeats, which often act as splice acceptors in the human genome. Interestingly, in contrast to YTHDF2 knockout, the HNRNPA2B1 knockout does not lead to a significant increase in the number of double-stranded DNA breaks and does not substantially affect rates of cellular proliferation.

Collectively, our results imply that m6A represents one of the key determinants of R-loop metabolism directly involved in regulation of mRNA processing and safeguarding genome integrity in human pluripotent stem cells.

# THE USE OF PARTIAL SEQUENCING OF THREE MITOCHONDRIAL GENES (CO1, 16S rRNA AND 12S rRNA) AND TWO NUCLEAR GENES (18S AND 28S) FOR SPECIES IDENTIFICATION AND RESOLVING GENETIC RELATEDNESS AMONG SQUID IN THE FAMILY GONATIDAE

A.O. Zolotova<sup>1</sup>, O.N. Katugin<sup>2</sup>

- 1 - A.V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Russia, 690041, Primorskij kraj, Vladivostok, Palchevskogo str. 17
- 2 - Pacific Branch of Russian Federal Institute of Fisheries and Oceanography (TINRO), Russia, 690091, Primorskij kraj, Vladivostok, Shevchenko str. 4  
e-mail: anna.o.zolotova@gmail.com

**Keywords:** DNA Barcoding, ABGD-analysis, Phylogenetic analysis, Gonatidae, squid

Squids of the family Gonatidae (Oegopsida, Teuthida, Cephalopoda) are distributed in cold waters in the Northern and Southern Hemispheres. These squids are widespread in the boreal North Pacific Ocean, where they are key components of pelagic and benthic marine and oceanic communities. In the systematics of this family there remain controversial issues, which can be resolved using molecular genetic approach. The main goal of this study was to analyze relationships among the Gonatidae using five DNA markers.

Squids that belong to the family Gonatidae were collected in the Okhotsk, Bering, and Japan seas, and Northwest Pacific. We also used nonfamilial sequences from the GenBank NCBI. In total, 207 new sequences of CO1 (≈580 bp), 16S (≈550 bp), 12S (≈260 bp), 28S (≈1635 bp), 18S (≈400 bp) were deposited to the GenBank. For each marker, we used ABGD-analysis (Automatic Barcoding Gap Discovery) of species-groups and constructed phylogenetic trees as graphic representations of species subdivision using neighbor-joining (NJ), maximum likelihood (ML) and Bayesian (BA) approaches in the programs MEGA10, RAXML and mrBayes 3.2.

ABGD-analysis and gene trees constructed for the Gonatidae based on partial sequencing of Co1,16S, 28S and12S provided deeper insight into the species composition of this squid family. Both analysis of the 18S in the Gonatidae did not yield clear patterns and interpretable clustering on the trees and did not separate species-groups; therefore, this marker is probably not suitable for inferring genetic relationships in this squid family. In some cases, 16S, 28S and 12S showed better discriminatory power than the conventional barcoding gene Co1, e.g., by splitting *Gonatus cf. berryi* into two different clades, suggesting that two morphologically similar taxa (*Gonatus cf. berryi* 1 and *Gonatus cf. berryi* 2 may represent two different species. High level of genetic divergence between “Large” and “Small” forms of *Boreoteuthis borealis* suggests that squid from these two groups, which display striking difference in size-at-maturity, in fact represent two species. *Gonatus berryi* from the northwestern Pacific Ocean clustered together with *Gonatus californiensis* from waters off the North American coast, which may suggest erroneous species identification and/or a much wider geographic range for the latter species.

Two genetically different groups of *Gonatus pyros* have been revealed; however, further studies are needed to decide whether the observed differences are due to taxonomic reasons. Two nominal species, *Gonatus fabricii* and *Gonatus steenstrupi*, showed no genetic differentiation between each other and may in fact belong to a single species. Our study also suggested that species, which compose two genera *Gonatus* and *Gonatopsis* based on conventional morphologic approach, form a single group on the Gonatidae family tree, and may, therefore, constitute one polymorphic genus.

## ҚАЗАҚ ПОПУЛЯЦИЯСЫНДА ҚУЫҚАСТЫ ҚАТЕРЛІ ІСІГІ ПАТОГЕНЕЗІНДЕГІ ГЕНЕТИКАЛЫҚ ВАРИАНТТАРДЫҢ РӨЛІ

**С.Е. Әбдікерім<sup>1,2</sup>, Л.А. Скворцова<sup>1</sup>, Л.Б. Джансугурова<sup>1,2</sup>, Г.С. Жунусова<sup>1</sup>**

1 - Генетика және физиология институты, Қазақстан, 050060, Алматы, әл-Фараби 93

2 - Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, 050040, Алматы, әл-Фараби 71

e-mail: [abdikerimse@gmail.com](mailto:abdikerimse@gmail.com)

**Кілттік сөздер:** қуықасты безі қатерлі ісігі, генетикалық зерттеу, гендер мутациясы

Қуықасты безі қатерлі ісігі (ҚБҚІ) Қазақстан Республикасындағы ерлер арасында таралу жиілігі жоғары онкопатология. Патогендік герминальды мутациялардың ҚБҚІ-нің даму қаупімен байланысы толық зерттелмеген. Қазіргі уақытта қазақ популяциясында генетикалық мутациялардың спектрі мен жиілігі туралы деректер аз. NGS әдісін клиникалық тәжірибеге енгізу ҚБҚІ науқастарында ауруды анықтаудың тиімділігін арттырады.

Зерттеудің мақсаты глисон көрсеткіші ( $\geq 7$ ) бойынша агрессивті формадағы қуықасты безі қатерлі ісігіне шалдыққан науқастарда қатерлі ісікке байланысты гендік мутациялардың спектріні анықтау.

Зерттеуде ҚБҚІ-і бар 33 науқастың перифериялық қанынан бөлініп алынған ДНҚ үлгілеріне Trusight Rapid Capture жиынтығын қолдану арқылы Illumina MiSeq платформасында таргетті секвенирлеу жүргізілді. Алынған деректер MiSeq Reporter және Variant Studio бағдарламаларында талданды. Бағдарламалар секвенирлеуден алынған мутацияларды бірқатар базалық дерекқорлармен салыстыруға және анықталған өзгерістердің болжамды функционалдық маңыздылығын түсіндіруге мүмкіндік берді. SIFT және Polyphen-2 In silico бағдарламалық құралдары миссенс мутациялардың белоктық құрылымы мен қызметіне ықтимал патогендік әсерін болжау үшін пайдаланылды. Референстік геном ретінде hg19 нұсқадағы адам геномының тізбегі қолданылды (GRCH37.p5/hg19).

"1000 геном" және Exome Aggregation Consortium (ExAC) популяциялық дерекқорлары бойынша 1%-дан төмен минорлы аллель жиілігі бар 164 шартты патогендік миссенс нұсқалары анықталды. Анықталған нұсқалар APC, RET, RB1, TSC1, SDHB, MUTYH, MSH6, EBP1, MSH6, PMS2, FANCM, NBN, ERCC5, BUB1B, BRCA1, FANCD2, XPA және CHEK2 гендерінде гетерозиготалы күйде кездеседі. Оның ішінде 8 нұсқа (RB1 C.2777A>G; TSC1 C.425T>C; FANCD2 C.3895C>T; APC C.6497G>A; XPA c.445C>T; FANCM c.5387C>G және APC C.6148A>G) бұрын әдебиеттерде де, мәліметтер базасында да (LOVD, ClinVar, 1000Genomes және ExAC) сипатталмаған және жаңа миссенс нұсқалар ретінде тіркелді. Бұл нұсқалар қазақ популяциясына тән болуы мүмкін. NBN геніндегі c.1690G>A мутация 3 науқаста, RET c.2944C>T 2 науқаста кездесті.

Табылған нұсқалардың ҚБҚІ-мен байланысын ауру және сау адамдар когортасының толық қалыптастырылуы арқылы ғана бағалауға болады. Зерттеу тобы аз болғандықтан аталмыш зерттеу пилоттық сипатқа ие. Келешекте зерттеу топтарын көбейте отырып, популяциялық сипатқа ие маркерлер анықталуы болжалады.

Жұмыс ҚР ҰҖБМ қаржыландыратын AP19680315 "Қазақстан популяциясында қуықасты безі қатерлі ісігі дамуының клиникалық-генетикалық аспектілерін таргетті ДНҚ-типтеу және секвенирлеу негізінде зерттеу" жобасы шеңберінде орындалды.

## ДӘНДІ ДАҚЫЛ СОРТТАРЫНЫҢ В-ГЛЮКАН СИНТЕЗИНЕ ЖАУАПТЫ ГЕНДЕРДІҢ СКРИНИНГІ

С.С. Байжұманова, Г.И. Исмагулова, Г.А. Искакова

М.А. Айтхожин атындағы Молекулалық биология және биохимия институты,  
Қазақстан, 050012, Алматы, Досмұхамедов көш., 86  
e-mail: jansaule\_1986@mail.ru

### Түйін сөздер: β-глюкан, гендер, скрининг, арпа, сұлы

Қазіргі уақытта β-глюканның адам өміріне маңыздылығы жоғары. Себебі қант диабеті, қатерлі ісік және ас қорыту бұзылысы сияқты көптеген созылмалы аурулардың қаупін азайтады. Осы қасиеттері арқасында β-глюкан көптеген созылмалы аурулардың алдын алу және емдеу үшін фармацевтикалық препараттарда қолдануға болатын табиғи зат болып табылады. Жұмыстың мақсаты – арпа, бидай және сұлы сорттарының коллекциясын сипаттау және сапалы пайдалы қасиеті бар ең перспективалы үлгілерді анықтау. Жұмыс барысында β-глюкан көздеріне бай дәнді дақылдарына – бидайдың 100, арпаның 50 және сұлының 50 сорттарына талдау жүргізіліп, геномдық ДНҚ топтамасы жасалды. Әр сорт β-глюкан синтезіне жауап беретін гендерді анықтайтын скринингтен өтті. Зерттеу жұмыстарында 10 ген қарастырылды. Нәтижесінде бұл гендер арпа, бидай мен сұлы сорттарында бары айқындалды.

Бидайдың, арпаның және сұлының сорттарына талдау жүргізіліп, геномдық ДНҚ топтамасы жасалды. Әр сорт β-глюкан синтезіне жауап беретін гендерді анықтайтын скринингтен өтті. Сұлының 50 үлгілеріне *Cs1F6- global*, *Cs1F6-AA* және *Cs1F6-CC* гендеріне скрининг жүргізілді. Соның ішіндегі сұлының 19 сорт үлгілеріне жүргізілген ПТР нәтижесінде, ДНҚ құрамында *Cs1F6-AA* гені бары анықталды. *CSLF* гендік тобы дәнді дақылдардағы β-глюкандарды кодтайтын кандидат гені ретінде анықталды.

Бидайдың 100 және арпаның 50 үлгілеріне β-глюкан синтезіне жауап беретін гендеріне *HvCs1F3*, *HvCs1F4*, *HvCs1F6*, *HvCs1F7*, *HvCs1F8*, *HvCs1F9*, *HvCs1F107* скрининг жасалды. Соның ішінде бидайдың 18 сорт үлгілеріне және арпаның 18 сорт үлгілеріне жүргізілген ПТР нәтижесінде ДНҚ құрамында *HvCSLF6* гені, алынған бидайдың 18 сорттарында – Казахстанская 3, Юбилейная 60, Лютесценс 70, Карагандинская 93, Лютесценс 90, Кызыл бас, Казахстанская 15, Лютесценс 24 және Лютесценс 601 сорттарында ғана бары көрінсе, ал арпаның барлық 18 үлгілерінде болды.

Сонымен қорытындылай келе, бидайдың 100, арпаның 50 және сұлының 50 сорттарына талдау жүргізіліп, геномдық ДНҚ топтамасы жасалды. Әр сорт β-глюкан синтезіне жауап беретін гендерді анықтайтын скринингтен өтті. Зерттеу Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігі қаржыландырылған OR11465447 ғылыми-техникалық бағдарламасы бойынша жүргізілді.

# ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОДИРУЮЩИХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ БЕЛКА ОБОЛОЧКИ И 25K БЕЛКА S ВИРУСА КАРТОФЕЛЯ ДЛЯ ЗАПУСКА МЕХАНИЗМА РНК-ИНТЕРФЕРЕНЦИИ В КЛЕТКАХ КАРТОФЕЛЯ

А.М. Александрова<sup>1</sup>, Р.М. Наргилова<sup>1</sup>, О.В.Карпова<sup>1</sup>, Б.К. Искаков<sup>1</sup>, М.М. Пугин<sup>2</sup>

1 - Институт молекулярной биологии и биохимии им. М.А. Айтхожина, РК, 050012, Алматы, Досмухамедова 86

2 - Plant Health Institute Montpellier, 34980, Montferrier-sur-Lez, France  
e-mail: a.alexandrova@imbb.org.kz

**Ключевые слова:** картофель, РНК-интерференция, PVS, устойчивость

Картофель является одной из самых популярных сельскохозяйственных культур, возделываемых по всему миру и наиболее подверженной заражению различными патогенами, поскольку размножение его осуществляется вегетативным способом (клубнями). Растения картофеля поражаются более чем 30-ю различными вирусами, из которых наибольший экономический ущерб наносят вирус скручиваемости листьев картофеля (PLRV), X-, M-, S- и Y-вирусы картофеля (PVX, PVM PVS и PVY). PVS и PVM относятся к роду *Carlaviruses* и являются самыми распространенными на территории Казахстана в настоящее время. Методы оздоровления и получения вирусоустойчивых сортов картофеля все еще не обладают достаточной эффективностью. РНК-интерференция представляет собой эффективный природный клеточный механизм регуляции транскрипта клетки, одной из функций которого является борьба с вирусными инфекциями. Индукция РНК-интерференции является хорошо зарекомендовавшей себя технологией получения устойчивых к вирусному заражению растений.

Кодирующие последовательности белка оболочки и 25K PVS были клонированы в бинарный агробактериальный вектор pCAMBIA2300, под контроль 35S CaMV промотора и *nos*-терминатора транскрипции в двух инвертированных повторах, разделенные растительным интроном I гена каталазы *cat1* в прямой и обратной ориентациях. Полученные в результате клонирования 4 варианта рекомбинантных ДНК были использованы для агротрансформации 12-ти зараженных вирусными инфекциями сортов картофеля казахстанской и зарубежной селекции. Установлено, что эффективность трансформации зависела не только от сортовых особенностей, но и от свойств трансгена, так использование в качестве трансгена кодирующей последовательности 25K было вдвое эффективнее, по сравнению с CP.

На основе зараженных одиночными и комплексными вирусными инфекциями сортов картофеля было получено 50 линий трансформантов. Часть линий показала освобождение от комплексной вирусной инфекции уже через 6 месяцев культивирования в теплице. Последующие 3-х летние полевые испытания продемонстрировали устойчивость 20-ти трансгенных линий к заражению не только PVS, но и PVM. Проведенный молекулярный анализ РНК трансгенных линий картофеля показал присутствие трансген-опосредованных коротких интерферирующих РНК у трех линий картофеля (№119, №61 и №103). Последующее секвенирование микроРНК доказало, что устойчивость этих линий к заражению обусловлена экспрессией трансгенной вставки 25K PVS, разделенной интроном.

Таким образом, было доказано, что оздоровление и устойчивость трансгенных линий картофеля была индуцирована трансгеном. Полученные в ходе выполнения работы результаты могут быть использованы для разработки биотехнологии получения новых сортов и гибридов картофеля с генетически закрепленной устойчивостью к определенным вирусным инфекциям, а также как один из инструментов оздоровления картофеля.

## РАЗНООБРАЗИЕ ЛИНИЙ Y-ХРОМОСОМЫ В ПЛЕМЕНИ ЖЕТИРУ

Е.Е. Аширбеков<sup>1</sup>, М.К. Жабагин<sup>2</sup>, К.О. Шарипов<sup>1</sup>

1 - Институт молекулярной биологии и биохимии им М.А. Айтхожина,  
Казахстан, 050012, Алматы, Досмухамедова 86

2 - Национальный центр биотехнологии,  
Казахстан, 010000, Астана, Кургальжинская ш., зд. 13/5  
e-mail: eldarasher@mail.ru

**Ключевые слова:** Y-хромосома, гаплогруппы, микросателлиты, казахи, Жетіру

Казахское племя Жетіру, как следует из названия, состоит из 7 подразделений: Табын, Тама, Жағалбайлы, Керейіт, Кердері, Телеу и Рамадан. Вместе с племенами Әлім и Байұлы, Жетіру входило в Младший жуз, занимая в основном его восточные территории. По сведениям К.-М. Тевкелева племя Жетіру было образовано и включено в состав Младшего жуза волей Тауке-хана путем объединения семи неродственных родов с целью их консолидации для защиты от притязаний крупных соседних родов. Для каждого из родов Жетіру, за исключением Рамадан, имеются сведения (исторические материалы, некоторые из которых касаются событий первого тысячелетия до н.э., этнонимы и топонимы, данные о родоплеменном составе соседних народов и др.), служащие основанием для гипотез об их происхождении. Большинство из этих гипотез не предполагает родства между родами Жетіру. Альтернативную версию происхождения родов от семи сыновей родоначальника по имени Каракатыш приводил И. Ф. Бларамберг.

Для уточнения этого вопроса мы изучили вариабельность Y-хромосомы 114 казахов, относящих себя к семи родам Жетіру.

В результате тестирования однонуклеотидного полиморфизма выявлено 16 гаплогрупп Y-хромосомы. Среди 44 представителей рода Табын 28 относились к C2-M48, из них 2 к т.н. алшынскому кластеру (C2-M48-Алш), 4 к R1a-M198, по 3 к C2-F1756 и C2-F4002 (т.н. старклатер), 2 к R1b-M269, по 1 к H, J2a-M410, N1-P53 и Q. Среди 38 представителей рода Тама 12 относились к E1b-M34, 10 к C2-F4002, 8 к R1a-M198, 3 к C2-M48-Алш, 2 к O-M134, по 1 к J1-M267, J2a-M410 и R1b-M269. Среди 15 представителей рода Жағалбайлы 7 относились к R1b-M478, по 2 к C2-F4002, G1-M285 и O-M134, по 1 к C2-M407 и C2-M48-Алш. Среди 6 представителей рода Рамадан 3 относились к R1a-M198, по 1 к C2-M48-Алш, J2a-M410 и O-M134. Пять представителей рода Телеу относились к J2a-M410. Три представителя рода Керейіт относились к E1b-M34, N1-P53 и R1b-M269. Три представителя рода Кердері относились к C2-M48-Алш, J2a-M410 и N1-M46.

Таким образом, шесть изученных родов были неоднородны по составу генетических линий, причем в каждом из них высокочастотными были сразу две или три линии. Анализ медианных сетей микросателлитных гаплотипов показал, что, несмотря на наличие общих гаплогрупп, изученные роды почти не имели близких (родственных) гаплотипов с другими родами Жетіру, а также с подавляющим большинством остальных казахских родов. Были выявлены несколько отдаленные генетические связи Телеу с Жалайыр внутри J2a-M410, Жағалбайлы с Ысты внутри R1b-M478, Тама и Табын с Әлім и Дулат внутри старклатера-C2-F4002. Незначительное число единичных гаплотипов попали в крупные кластеры (алшынский, старклатер, аргынский, найманский, ысты) и, вероятно, являются результатом случайных процессов.

Хотя некоторые изученные роды были представлены недостаточно, общая картина распределения мужских линий позволяет сделать заключение о неродственном происхождении родов племени Жетіру.

# АССОЦИАТЫ СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА ЧЕЛОВЕКА С ЛИПОФИЛЬНЫМИ ТРИАЗИНИЛАМИДОФОСФАТНЫМИ ПРОИЗВОДНЫМИ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ

И.А. Бавэр<sup>1,2</sup>, Т.Д. Жарков<sup>2</sup>, М.С. Купрюшкин<sup>2</sup>, А.С. Павлова<sup>2</sup>, Е.В. Дмитриенко<sup>1,2</sup>

1 - Новосибирский государственный университет, Россия, 630090, Новосибирск, Пирогова

2

2 - Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Россия, 630090, Новосибирск, Лаврентьева 8  
e-mail: i.bauer@g.nsu.ru

**Ключевые слова:** сывороточный альбумин, триазиниламидофосфатные производные олигонуклеотидов, белково-олигонуклеотидные ассоциаты, доставка нуклеиновых кислот

Одним из вызовов современной биомедицинской химии является разработка высокоизбирательных терапевтических препаратов на основе олигонуклеотидов. Их широкое клиническое применение сдерживается наличием ряда ограничений: деградация нуклеазами, отрицательный заряд, быстрое выведение из организма. На сегодняшний день одним из подходов, предпринимаемых для решения данных проблем, является синтез химически модифицированных аналогов нуклеиновых кислот, способных регулировать фармакокинетические и фармакодинамические свойства терапевтических олигонуклеотидов. При этом понимание механизмов связывания с сывороточным альбумином человека, самым распространённым белком плазмы крови, может обеспечить их новые возможности и свойства, такие как повышенная стабильность, снижение иммунного ответа и контролируемое биораспределение.

В ходе работы были изучены особенности самосборки новых олигонуклеотидных производных, содержащих на 3'-конце триазиниламидофосфатную модификацию с двумя додецильными остатками, а также их ассоциаты с сывороточным альбумином. Изучение термостабильности дуплексов выявило минимальное влияние гидрофобной модификации на сродство олигонуклеотида к комплементарной последовательности. Исследуемые производные имеют тенденцию к образованию надмолекулярных структур с критической концентрацией мицеллообразования порядка  $10^{-6}$  М. Размер надмолекулярных структур, охарактеризованный методом динамического светорассеяния, составил  $\sim 10$  нм. При этом добавление сывороточного альбумина приводило к сдвигу пика в сторону уменьшения гидродинамического диаметра частиц, сопоставимого с размером белка. Показано методом задержки в геле, что исследуемые модифицированные олигонуклеотиды образуют стабильные в условиях электрофореза ассоциаты с альбумином, константа диссоциации которых  $\sim 10^{-6}$  М. Исследуемые додецил-содержащие олигонуклеотиды эффективно проникают в клетки линии A549, что было установлено методом проточной цитофлуориметрии. При этом эффективность трансфекции сравнима или даже превышает контроль с использованием липофектамина. Присутствие сывороточного альбумина в среде не влияет на эффективность трансфекции, а добавление эмбриональной бычьей сыворотки приводит к её снижению, что может быть связано с деградацией олигонуклеотида нуклеазами.

В настоящей работе представлено изучение особенностей самосборки, формирования нековалентных ассоциатов с сывороточным альбумином человека, а также проникновения в клетки новых додецил-содержащих триазиниламидофосфатных производных олигонуклеотидов. Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования этих производных для разработки терапевтических препаратов.

## РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ БОРРЕЛИОЗОВ НА ЮГО-ВОСТОКЕ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

А.О. Бисенбай<sup>1</sup>, Е.О. Остапчук<sup>1,2</sup>, А.В. Жигайлов<sup>1,2</sup>, А.М. Дмитриевский<sup>1</sup>,  
Ю.А. Скиба<sup>1,2</sup>

1 - Филиал ТОО «Национальный центр биотехнологии», РК, Алматы, ул. Жажангер 14

2 - Институт молекулярной биологии и биохимии им М.А. Айтхожина,

РК, 050012, Алматы, ул. Досмухамедова 86

e-mail:akerke.bissenbay@gmail.com

**Ключевые слова:** лайм-боррелиоз, *Ixodes persulcatus*, *B. burgdorferi s.l.*, *B. miyamotoi*, ИФА, 16S рРНК, MLST-типирование

Лайм-боррелиоз (ЛБ) – наиболее распространенная зоонозная трансмиссивная природно-очаговая инфекция. Возбудителем ЛБ являются боррелии комплекса *Borrelia burgdorferi s.l.*, основными переносчиками которых в РК являются *Ixodes persulcatus*. Данное заболевание регулярно регистрируется в Алматинской и Восточно-Казахстанской областях, которые считаются эндемичными по ЛБ, а также в соседних с Казахстаном странах. В Казахстане была подтверждена циркуляция четырех патогенных для человека боррелий ЛБ-группы. Несмотря на ежегодный рост числа регистрируемых укусов клещей и лихорадок неуточненной этиологии в юго-восточном регионе Казахстана, уровень зараженности клещей боррелиями, а также генотипы циркулирующих боррелий в данном регионе РК остается малоизученным. Целью нашего исследования было проведение мониторинга ЛБ в юго-восточном регионе Казахстана.

Клещей (n=413), снятых с людей, и клещей (n=1907), собранных методом флага, изучали на содержание в них ДНК *B. burgdorferi s.l.* методом ПЦР. Генотипирование выявленных боррелий осуществляли методом секвенирования по 16S рРНК и MLST-типированием с последующим филогенетическим анализом. Сыворотки крови здоровых/больных анализировали на присутствие IgG/IgM антител *B. burgdorferi s.l.* методом ИФА.

Среди клещей, собранных с вегетации, ДНК *B. burgdorferi s.l.* была выявлена только в клещах *Ix.persulcatus*, 53.33%. Среди клещей, снятых с людей, ДНК боррелий были обнаружены в *Ha.punctata*, *D.marginatus* и *Rh.turanicus* и с большей превалентностью в *Ix.persulcatus* (5.3%). Положительные на боррелии клещи были собраны на территории Алматинской/Жетысуйской областей. Филогенетический анализ выявленных изолятов по 16S рРНК показал присутствие *B. miyamotoi*, *B. afzelii* и *B. garini*. По результатам MLST-типирования был идентифицирован вид *B.afzelii* схожий по последовательности с изолятами из Китая/России/Европы. Общая серопревалентность IgG антител к *B. burgdorferi s.l* составила 5,8% среди здоровых/больных пациентов в Алматинской области. Достоверно большая серопозитивность была выявлена в группе пациентов с лихорадкой неясного генеза, с предшествующим укусом клеща, и у больных с симптомами позднего/хронического нейроборрелиоза, по сравнению с группой здорового населения.

Наши исследования подтверждают, что патогенные боррелии ЛБ-группы широко распространены на территории Алматинской/Жетысуйской областей РК, и что *I. persulcatus*, вероятно, является главным переносчиком этих патогенных спирохет. Выявление заметного преобладания *B. burgdorferi s.l.* в клещах с горных и предгорных районов свидетельствует о высоком риске заражения ЛБ в Алматинской области, что также подтверждается серологическим мониторингом жителей области. На территории юго-восточного региона циркулируют по меньшей мере три геновида боррелий: *B. afzelii*, *B. garinii* и/или *B. bavariensis*.

## УРОВЕНЬ МИКРОРНК В СОСТАВЕ ЭКЗОСОМ В КРОВИ И АСЦИТИЧЕСКОЙ ЖИДКОСТИ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ РАКА ЯИЧНИКОВ

**Е.И. Джугашвили<sup>1</sup>, Н.В. Юнусова<sup>2</sup>, Л.А. Коломиец<sup>2</sup>, С.Н. Тамкович<sup>1,3</sup>**

- 1 - ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Россия, 630090, Новосибирск, ул. Пирогова, 2
- 2 - НИИ онкологии ФГБНУ «Томский НИМЦ РАН», Россия, 634009, Томск, пер. Кооперативный 5
- 3 - ФГБНУ «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН», Россия, 630090, Новосибирск, проспект Академика Лаврентьева, 8  
e-mail: e.dzhugashvili@g.nsu.ru

**Ключевые слова:** экзосомы, микроРНК, кровь, асцит, рак яичников

Рак яичников – распространенное гинекологическое новообразование, характеризующееся поздней диагностикой и высокой летальностью. Развитие заболевания сопровождается формированием асцита, который становится уникальным опухолевым микроокружением. Известно, что в плазму крови и асцитическую жидкость секретируются экзосомы, которые отражают полный молекулярный портрет новообразования и содержат перспективные биомаркеры для ранней диагностики РЯ и прогнозирования развития заболевания.

Цель исследования - провести сравнительный анализ представленности и диагностической значимости miR-24 и miR-101 в экзосомах плазмы крови и асцитической жидкости первичных больных с диссеминированным раком яичников.

В ходе исследования анализировали экзосомы плазмы крови и асцитической жидкости больных с РЯ (n = 20) и плазмы крови здоровых женщин (n = 19). Экзосомы выделяли путем ультрафильтрации и ультрацентрифугирования. Экзосомы характеризовали с помощью трансмиссионной электронной микроскопии, трекового анализа и проточной цитофлуориметрией. Перспективные микроРНК анализировали при помощи баз данных DIANA, PANTHER и STRING. После выделения экзосомальной РНК набором BioSilica Ltd. определяли относительный уровень микроРНК с использованием обратной транскрипции и ПЦР в режиме «реального времени» наборами БиоМастер HS-qPCR (2x) (BioLabmix, Россия.) В качестве нормализатора использовали miR-16. Логистический регрессионный анализ выполнен для определения рисков развития РЯ. Достоверность различий оценивали с помощью U-критерия Манна-Уитни. Различия считали достоверными при значениях  $p \leq 0,05$ .

Обнаружено, что наибольшая концентрация экзосом определяется в асцитической жидкости больных РЯ. Концентрация экзосом в плазме крови пациенток с РЯ достоверно выше, чем у здоровых доноров. Установлено статистически значимое понижение относительных уровней экзосомальных miR-24 и miR-101 в плазме крови и асцитической жидкости онкологических больных по сравнению с плазмой крови здоровых женщин. Не найдено достоверных различий в уровнях данных микроРНК в экзосомах плазмы и асцитической жидкости пациенток. Биоинформатическим анализом выявлено участие miR-24 и miR-101 в канцерогенезе РЯ. Построенные логистические модели являются статистически значимыми ( $p=0,001$ ;  $\chi^2=19,927$  и  $p=0,000$ ;  $\chi^2=19,412$ , соответственно).

Полученные результаты подтверждают перспективность использования экзосомальных miR-101 и miR-24 в качестве дополнительного скрининга РЯ методом жидкостной биопсии.

## МУЛЬТИВАЛЕНТНЫЕ ДНКЗИМЫ ДЛЯ ЭФФЕКТИВНОГО РАСЩЕПЛЕНИЯ РНК

М.Д. Дубовиченко, М. Батса, Г.А. Бобков, Г.С. Власов,  
А.А. Эльдиб, Д.М. Колпащиков

Университет ИТМО, Россия, 197101, Санкт-Петербург, Кронверкский пр., д. 49, лит. А  
e-mail: dubovichenko@scamt-itmo.ru

**Ключевые слова:** ДНКзимы, РНК, нокдаун гена, мультивалентность, катализ

В наши дни для лечения онкологических, вирусных и генетических заболеваний все чаще обращают внимание на использование техники нокдауна (сайленсинга) генов. Для выполнения этой техники используются терапевтические олигонуклеотиды (ТОНы), в группу которых входят: антисмысловые олигонуклеотиды (АСО), ДНКзимы и малые интерферирующие РНК (миРНК). В общей концепции ТОНы - короткие олигонуклеотиды длиной от 20 до 47 нуклеотидов (или п.о. у миРНК), которые, попадая внутрь клетки, комплементарно гибридизуются с мРНК целевого гена и расщепляют её, выключая ген. ТОНы эффективны и избирательны в своем терапевтическом действии, однако имеют недостатки в виде слабой устойчивости к нуклеазам и низкого сродства к мРНК в её вторичной структуре. Первый недостаток решается внедрением в структуру ТОНов химических модификаций (LNA, тиофосфатные связи). Вторым недостатком остается актуальной проблемой, для решения которой в нашей работе мы использовали мультивалентные ДНКзимы, которые в составе одной своей молекулы имеют более одного РНК-таргетирующего домена. Мы полагаем, что такой подход будет иметь более высокое сродство с таргетируемой РНК и более высокую эффективность её каталитического расщепления в целом.

Экспериментальные работы были выполнены в околофизиологическом растворе (2 mM MgCl<sub>2</sub>, 150 mM KCl, 50 mM HEPES, 15 mM NaCl, pH = 7.45) при температуре 37 градусов с последующей оценкой расщепления РНК в 20% ПААГ. В качестве РНК-мишени использовался фрагмент мРНК гена strA длиной 58 нуклеотидов (STR-58), вторичная структура которого имеет энергию Гиббса (dG) = -24,50 ккал/моль. В качестве ТОНов, таргетирующих РНК, мы использовали бивалентные ДНКзимы Бд-1, Бд-2 и Бд-3, состоящие из двух ДНКзимов Дз1 и Дз2, и отличающихся друг от друга способом их ассоциации между собой: 5'-3' фосфодиэфирная связь, 3'-3' комплементарные связи, 5'-3' комплементарные связи. Все биваленты сравнивались с одиночными ДНКзимами Дз1 и Дз2. Эффективность расщепления РНК оценивалась в виде констант скорости (K<sub>c</sub>) и чисел оборотов.

В условиях одного оборота, где [Бд/ДНКзим]:[РНК] = 5μМ:1μМ, все биваленты продемонстрировали более высокую скорость расщепления, где K<sub>c</sub> у Бд-1, Бд-2 и Бд-3 равнялись 1,7, 0,5 и 1,5 ч<sup>-1</sup>, что оказалось в 17, 5 и 15 раз больше, чем у Дз1 и Дз2 (0,1 и 0,1 ч<sup>-1</sup>), соответственно. В условиях множественных оборотов, где [Бд/ДНКзим]:[РНК] = 0,1μМ:1μМ, биваленты продемонстрировали числа оборотов 0,9, 0,2 и 0,4 ч<sup>-1</sup>, что в 9, 2 и 4 раза больше, чем у Дз1 и Дз2 (0,1 и 0,1 ч<sup>-1</sup>), соответственно.

Таким образом, в нашей работе мы показали, что внедрение мультивалентности в ДНКзимы заметно повысило их эффективность расщепления РНК в её сложных вторичных структурах, а именно повысило скорость самого расщепления и число оборотов (скорость цикла ассоциации-расщепления-диссоциации РНК). Такой подход перспективен и может быть применен для других ТОНов.

## БАЗА ДАННЫХ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ Y-ХРОМОСОМЫ КАЗАХОВ

М.К. Жабагин

*Национальный центр биотехнологии,  
Казахстан, 010000, Астана, Кургальжинское шоссе, здание 13/5  
e-mail: mzhabagin@gmail.com*

**Ключевые слова:** Y-хромосома, гаплогруппа, гаплотип, геногеография, казахи

Казахи – тюркоязычная коренная популяция Центральной Азии, в структуре генофонда которой сохранилась генеалогическая память разных племен и родов. Y-хромосома является эффективным инструментом в изучении структуры генофонда популяции и ее генетической генеалогии.

С целью изучить генетическую изменчивость Y-хромосомы в генофонде популяции казахов, а также определить ее связь с родоплеменной структурой исследуются субпопуляции казахов в Казахстане по 17 областям в разрезе 20 крупных племен и родов с помощью 37 Y-STRs и 62 SNPs маркерам Y-хромосомы. Общая исследуемая выборка популяции казахов сегодня составляет ~3500 мужчин собственных данных. Около 200 Y-хромосом казахов глубоко секвенированы (22.5 Mbp). Таким образом формируется обширная База данных генетической изменчивости Y-хромосомы казахов, которая включает также информацию по ~3000 тысяч образцов казахов из литературных данных.

В результате исследования, методом AMOVA выявлено, что различия между родоплеменными группами в 1.5 раза больше, чем между географическими популяциями, а тест Мантеля демонстрирует наличие достоверной корреляции между генетическими и квазигенетическими (частота родов в популяциях) расстояниями и слабое между генетическими и географическими расстояниями. Этот же результат демонстрируют геногеографические карты, где ареал расселения казахских родов выявляют сходные закономерности с картами генетических расстояний и частотами распределения гаплогрупп Y-хромосомы в регионах Казахстана. Филогенетический анализ демонстрирует эффект основателя для многих родов со своей определенной гаплогруппой Y-хромосомы. Например, глубокое секвенирование Y-хромосом выявило для племени аргын G1a-L1323, алшин C2a-Y15552, коньрат C2b- ZQ402 родоспецифичные гаплогруппы. Это позволило провести верификацию ряда генеалогических легенд о происхождении родов, определить их генетическое родство с другими популяциями Евразии.

Таким образом, новые научные знания об отцовском генофонде населения Центральной Азии применяются в решении междисциплинарных научных вопросов касательно этногенеза специалистами смежных наук (антропологов, археологов, этнографов, лингвистов, демографов, историков) и внедряются в учебный процесс.

*Данное исследование профинансировано Комитетом науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан (AP19677968, AP08855823, AP09561774, AP09259560).*

## МОЛЕКУЛЯРНЫЙ И СЕРОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ВОЗБУДИТЕЛЯ ВИРУСНОЙ ДИАРЕИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В КАЗАХСТАНЕ

**А.В. Кулигин<sup>1</sup>, Е.О. Остапчук<sup>1,2</sup>, С.А. Кан<sup>1,2</sup>, А.В. Лушова<sup>1,2</sup>, Н. Абдолла<sup>1,2</sup>,  
С.А. Куатбекова<sup>1</sup>, А.В. Жигайлов<sup>1,2</sup>**

1 - Филиал ТОО «Национальный центр биотехнологии», РК, 050054, Алматы, Жакангер  
14д

2 - Институт молекулярной биологии и биохимии им М.А. Айтхожина,  
РК, 050012, Алматы, Досмухамедова 86  
e-mail: kuligin.artyoomb@gmail.com

### **Ключевые слова: вирусная диарея КРС, пестивирусы, серопревалентность, РК**

Вирусная диарея крупного рогатого скота (ВД КРС) – зоонозное инфекционное заболевание, недавно появившееся на территории Казахстана и вызвавшее несколько вспышек за последние десять лет. Возбудителем данной инфекции является РНК-вирус, относящийся к роду *Pestivirus* семейства *Flaviviridae*. Целью работы было определить распространённость возбудителя и оценить серопревалентность антител к ВД КРС в Казахстане.

Сбор образцов сыворотки и цельной крови КРС проводился ветеринарами в Акмолинской, Атырауской, Жамбылской, СКО, ЗКО, Карагандинской, Павлодарской, Туркестанской областях с ноября 2018 г. по декабрь 2022 г. Всего было собрано 1989 образцов. Образцы цельной крови были пулированы по 3-5 образца с одного стада в один пул. РНК вируса ВД КРС выявляли в пулах крови с помощью ОТ-ПЦР с использованием праймеров “BVDV\_UTR\_DL1F” (5'-GCCATGCCCTTAGTAGGACTAGC-3') и “BVDV\_UTR\_DL4R” (5'-CAATCCATGTCCATGTACAGC-3'). Серопревалентность антител к возбудителю ВД КРС определяли с помощью ИФА наборов BVDV Total Antibody Test Kit (IDEXX, США; SN: AC101) и ID Screen BVD p-80 Antibody Competition kit (IDVET, Франция; LOT: J68).

Из 420 исследованных пулов крови по результатам ПЦР-анализа в Актюбинской области было обнаружено 3 положительных пула от клинически здоровых невакцинированных животных, из них 2 пула были получены от КРС, содержащегося в одном стаде в Мартукском районе, и один пул в Хромтауском районе. Кроме этого, в связи с заболеванием взрослых животных, со схожими симптомами с ВД КРС, и гибелью телят весной 2023 г. в Казалинском районе Кызылординской области, нами были получены и исследованы образцы крови от пяти животных. В четырех образцах нами была выявлена РНК ВД КРС. По данным секвенирования по Сэнгеру и BLAST-анализа, выявленные изоляты относятся к генотипу 2А возбудителя ВД КРС – BVDV-2 (*Pestivirus B*).

Серопревалентность обследованных вакцинированных животных составила 92% (1156/1257; 95% ДИ: 0,90-0,93), что свидетельствует о высокой эффективности вакцинации. Серопревалентность обследованных невакцинированных животных составила 59% (254/430; 95% ДИ: 0,54-0,64), положительные образцы были выявлены во всех обследуемых областях РК. Наибольшее количество серопозитивных невакцинированных животных было выявлено в Актюбинской области (72%; 107/149; 95% ДИ: 0,64-0,79), при этом Байзакский район Жамбылской области оказался единственным районом, где не было найдено сероположительных образцов. Регрессионный анализ данных показал, что серопревалентность обследованных невакцинированных животных на крупных предприятиях была достоверно выше по сравнению с таковой в фермерских хозяйствах.

Данная работа является первым крупномасштабным молекулярно-серологическим исследованием распространенности ВД КРС в РК. Полученные результаты подтверждают циркуляцию возбудителя ВД КРС на территории Казахстана и необходимость усиления программ контроля регулирования и предотвращения распространения данной инфекции.

## МОЛЕКУЛЯРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БОРРЕЛИЙ ГРУППЫ ВОЗВРАТНЫХ ЛИХОРАДОК В ЮЖНОМ РЕГИОНЕ КАЗАХСТАНА

А.В. Кулигин<sup>1</sup>, Е.О. Остапчук<sup>1,2</sup>, С.А. Кан<sup>1,2</sup>, А.В. Лушова<sup>1,2</sup>, С.А. Куатбекова<sup>1</sup>, Ю.А. Скиба<sup>1</sup>

1 - Филиал Национального центра биотехнологии, РК, 050054, Алматы, Жахангер 14д

2 - Институт молекулярной биологии и биохимии им М.А. Айтхожина,

РК, 050012, Алматы, Досмухамедова 86

e-mail: kuligin.artyoom@gmail.com

### **Ключевые слова:** клещевые возвратные лихорадки, боррелии

Клещевые возвратные лихорадки (КВЛ) – группа острых инфекционных заболеваний человека и животных, характеризующихся повторяющимися эпизодами лихорадки, головной боли, мышечных и суставных болей и тошноты. Отсутствие или позднее лечение КВЛ может привести к более серьезным симптомам, таким как менингит, желтуха и почечная недостаточность. Инфекция вызывается группой штаммов спирохет рода *Borrelia*, которые передаются человеку через укусы инфицированных твердых клещей, относящихся к роду *Ixodes* sp., *Amblyomma* sp., *Dermacentor* sp., и *Rhipicephalus* sp. (*B. miyamotoi*, *B. lonestari*, *B. theileri*) и мягких (аргасовых) клещей рода *Ornithodoros* sp. (*B. latyschewii*, *B. persica* и др.). Ранее нами была обнаружена *B. miyamotoi* в клеще *Ixodes persulcatus*, собранном с вегетации вблизи г. Текели Жетысуской области. Распространённость боррелий группы КВЛ среди клещей в южном регионе страны остается не изученной. Нашей целью было провести пилотное исследование распространенности боррелий группы КВЛ, передаваемых клещами, на территории южного региона РК.

Сбор клещей был произведен методом флага на территории Жетысуской, Алматинской, Жамбылской и Туркестанской областей. Собранные клещи были определены до вида и клещи, относящиеся к виду *I. persulcatus* и *Ornithodoros tartakovsky* были отобраны для анализа и гомогенизированы. Из гомогенатов была выделена ДНК с помощью набора Рибо-Преп (AmpliSens, Россия), с дальнейшей постановкой нестед-ПЦР с использованием праймеров BorRF\_glpQ-F1 (-R1, -F2, -R2), таргетирующие гены *B. miyamotoi*, а также BorRF\_flaB-13\_F1, BorRF\_flaB-788\_R1, BorRF\_flaB-119\_nF2 и BorRF\_flaB-740\_nR2, таргетирующие общий локус боррелий группы КВЛ, передаваемых мягкими клещами. ПЦР-продукты визуализировали с использованием геле-электрофореза.

Из 13 собранных клещей *I. persulcatus* (8 самок и 5 самцов) в Алматинской области, вблизи г. Алматы и г. Каскелен нами был выявлен один положительный образец гомогената самки *I. persulcatus* по гену *glpQ*. Также, из 20 собранных клещей *O. tartakovsky* (9 самок, 6 самцов и 5 нимф) в Шардаринском районе Туркестанской области образцы гомогенатов пула четырёх нимф и одной взрослой особи самки клеща дали положительный результат на ген *flaB*. Таким образом, процент инфицированности *I. persulcatus* *B. miyamotoi* в Алматинской области составляет 7,7% (1/13; 95% CI: 0,2 - 36,0), а клещей вида *O. tartakovsky* боррелиями группы КВЛ, передаваемыми мягкими клещами, в Туркестанской области – 25,0% (5/20; 95% CI: 8,7 - 49,1).

Полученные результаты подтверждают циркуляцию боррелий группы КВЛ среди клещей *I. persulcatus* на территории Алматинской области и *O. tartakovsky* на территории Туркестанской области и свидетельствуют о важности продолжения изучения распространенности возбудителей КВЛ среди клещей на территории южного региона Казахстана, что поможет выявить зоны риска, а также разработать эффективную стратегию профилактики и контроля данной группы инфекций.

Исследование проводилось в рамках гранта ИРН AP14870683, финансируемого КН МНВО РК.

## КЛОНИРОВАНИЕ ГЕНА ПРОТЕАЗЫ ИЗ *BACILLUS PARALICHENIFORMIS*

А.К. Мадухасова<sup>1,2</sup>, Б. Б. Хасенов<sup>2</sup>

1 - Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева,  
Казахстан, 010000, Астана, ул. Кажымукан, 13

2 - Национальный центр биотехнологии,  
Казахстан, 010000, Астана, Кургальжинское шоссе 13/5  
e-mail: maduhasova@biocenter.kz

**Ключевые слова:** клонирование, протеазы, компетентные клетки, рестриктазы  
*Bacillus* spp. являются богатым источником разнообразных ферментов, в том числе и протеаз. Бациллы известны своей способностью продуцировать протеазы с широкой субстратной специфичностью, обладающих термостабильностью и активных в кислых и щелочных значениях pH. Изучение нативного фермента сопряжено с большими сложностями, так как бациллы, как правило, секретируют комплекс различных ферментов, что затрудняет изучение биохимической активности и субстратной специфичности индивидуального фермента. В таких случаях клонирование и экспрессия гена в гетерологическом окружении является предпочтительным подходом к изучению фермента. Целью данного исследования является клонирование гена протеазы M14cr60 из *Bacillus paralicheniformis* для последующего изучения биохимической активности рекомбинантного фермента.

В данном исследовании проведено клонирование гена протеазы из протеолитического штамма *B. paralicheniformis*, выделенного из почвы близ города Тараза. Ранее, было проведено полногеномное секвенирование данного штамма с помощью технологии Oxford Nanopore и на основании нуклеотидной последовательности геномной ДНК подобраны праймеры для амплификации гена M14cr60. С использованием праймеров M14cr60NS\_T7\_fw\_BamHI/M14cr60\_T7\_rv\_XhoI проведена амплификация гена протеазы M14cr60 без секреторного пептида. Общая протяженность гена составляет 1584 п.о. С помощью хлороформной экстракции и осаждения этанолом проведена очистка ПЦР-продукта. Гидролиз ПЦР-продукта и вектора pET-28c(+) проводили эндонуклеазами рестрикции BamHI и XhoI в 2X Tango буфере. Очищенные продукты гидролиза лигировали с помощью T4 лигазы. Отбор лигированных молекул проводили путем трансформации компетентных клеток штамма *Escherichia coli* DH5α с последующим отбором клонов-трансформантов на агаризованной среде с канамицином. С помощью ПЦР-скрининга клонов-трансформантов с использованием праймеров T7fw/T7rv были отобраны клоны, несущие требуемую вставку в T7 регионе. Нарработку плазмидного вектора проводили по протоколу минипреп.

Секвенирование показало отсутствие мутаций в гене M14cr60 в виде вставок, делеций или нуклеотидных замен. В результате получена генно-инженерная конструкция в виде вектора pET-28/M14cr60, в которой ген протеазы M14cr60 встроен под контроль T7 промотора. Открытая рамка считывания кодирует белок, состоящий из 528 аминокислотных остатков, с расчетной молекулярной массой 60 кДа и несущий гексагистидиновую метку на N-конце. Проводится работа по оптимизации экспрессии данного гена в клетках штамма *E. coli* BL21(DE3).

## ПОЛИМОРФИЗМ ДНК-ЛОКУСОВ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ДЛИНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗНОГО ВОЛОКНА

Л.В. Можаровская, С. И. Ивановская, С. В. Пантелеев, В.Е. Падутов

Институт леса НАН Беларуси  
Республика Беларусь, 246001, Гомель, ул. Пролетарская, 71  
e-mail: [milamozh@yandex.ru](mailto:milamozh@yandex.ru)

**Ключевые слова:** длина целлюлозного волокна, полиморфизм, ДНК-локусы

Изучение наследуемости признака длины целлюлозных волокон и выявление молекулярных маркеров, ассоциированных с этим признаком, позволит проводить эффективный отбор исходных деревьев с повышенной длиной целлюлозного волокна для получения посадочного материала и создания сырьевых плантаций.

По результатам микроскопии древесины сосны обыкновенной были отобраны две группы деревьев с различной длиной целлюлозного волокна: длинное (> 3,7 мм), короткое (< 3,0 мм) и получены препараты ДНК каждого дерева. Выделение ДНК осуществлялось из хвои и древесины с использованием СТАВ-метода. ПЦР анализ и секвенирование проводили по 34 маркерным ДНК-локусам, ассоциированным с длиной целлюлозного волокна.

Анализ полиморфизма ДНК-локусов, ассоциированных с длиной целлюлозного волокна, показал, что 6 исследованных локусов являются мономорфными. Для каждого из остальных 28 локусов отмечалось наличие нескольких вариантов нуклеотидных последовательностей, которые в ряде случаев являлись не функциональными (псевдогены). Отличия были связаны с однонуклеотидными заменами (SNP): транзициями и трансверсиями (до 11 SNP/100 н.о.), а также вставками и делециями (до 183 н.о.). По двум полиморфным локусам имеются значимые различия между исследованными группами деревьев: альфа тубулин (TUBA) и ксилоглюкан 6-ксилозилтрансфераза (ХХТ).

По локусу TUBA выявлена основная последовательность гена, два паралога и псевдоген. В сравнении с основной последовательностью гена альфа-тубулина паралог 2 характеризуется наличием делеции 45 н.о. и единичными SNP, паралог 3 – делецией в 183 н.о., 10 транзициями (замены А/Г и С/Т) и 1 трансверсией Т/Г. В образцах с длинным целлюлозным волокном в 50% случаев выявлена только основная последовательность гена, в 37,5% случаев – основная последовательность, паралог 2 и псевдоген, в 12,5% – основная последовательность и паралог 3. В образцах с коротким целлюлозным волокном в 100% случаев присутствует основная последовательность, паралог 2 и псевдоген. Основная последовательность гена между двумя исследованными группами деревьев также отличалась по ряду SNP. По локусу ХХТ выявлен альтернативный вариант гена, характеризующийся наличием делеции, вставки, однонуклеотидных замен, и встречающийся только в комбинации с основным. Оба варианта гена выявлены у деревьев с разной длиной целлюлозного волокна, однако их долевое участие варьировало. У деревьев с коротким целлюлозным волокном количество генотипов с двумя вариантами гена ХХТ насчитывало 65%, с длинным – 22%. Уровень нуклеотидного полиморфизма для обоих локусов составил  $\approx 3$  SNPs на 100 н.о., представленных транзициями и трансверсиями.

Таким образом, выявлены два гена-кандидата (TUBA и ХХТ), комбинация которых может быть использована в качестве диагностического маркера при отборе деревьев по признаку длины целлюлозного волокна.

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ И СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АННОТАЦИЯ NBS-LRR ГЕНОВ *PINUS SYLVESTRIS* L.

Л.В. Можаровская, С.В. Пантелеев, С.И. Ивановская, В.Е. Падутов

Институт леса Национальной академии наук Беларуси,  
Республика Беларусь, 246050, Гомель, Пролетарская 71  
e-mail: milamozh@yandex.ru

**Ключевые слова:** NBS-LRR гены, R-гены, устойчивость, транскриптом, *Pinus sylvestris* L.

Среди генов устойчивости (R-генов) растений к патогенам одним из наиболее обширных семейств являются гены в структуре продуктов которых (R-белков) имеются характерные участки – нуклеотидсвязывающие сайты и богатые лейцином повторы (NBS-LRR гены). В настоящее время установлено, что белки NBS-LRR генов характеризуются модульной доменной структурой и на N-конце аминокислотной последовательности могут содержать различного типа структурно-функциональные домены. В литературе NBS-LRR гены разделяют на подклассы, согласно наличия в структуре транслируемого белка следующих доменов: гомологов рецепторов Toll/интерлейкина-1 (TIR-NBS-LRR, TNL), спирально закрученного домена CC (CC-NBS-LRR, CNL) и RPW8 (RPW8-NBS-LRR, RNL). Для рода *Pinus* наиболее подробно представлен анализ R-генов *Pinus monticola* и *P. taeda*, однако для *P. sylvestris* представлены единичные публикации на примере анализа патосистем. Кроме того поиск R-генов *P. sylvestris* усложняется в связи с отсутствием полного аннотированного генома. Исходя из этого, целью работы являлось: на основе анализа данных транскриптомов проростков *P. sylvestris*, выращенных в условиях инфицирования *Fusarium sp.* (GenBank NCBI ID: MW429282.1), провести скрининг и структурно-функциональную аннотацию NBS-LRR генов.

Для получения препаратов мРНК использовали ткани корня и гипокотила проростков *P. sylvestris*, высокопроизводительное секвенирование выполняли на базе Ion Torrent. Идентификацию NBS-LRR генов проводили при использовании базы данных консервативных доменов (CDD) NCBI. Третичную структуру транслируемых аминокислотных последовательностей конструировали в программе SWISS-MODEL.

В результате биоинформатического анализа идентифицировано 24 транскрипта NBS-LRR генов, для которых установлено наличие консервативного нуклеотидсвязывающего домена NB-ARC (CDD ID: cl26397; Pfam ID: PF00931) и полиморфных богатых лейцином повторов LRR. Среди выявленных NBS-LRR генов *P. sylvestris* определены подклассы, содержащие: TIR-домен (Pfam ID: PF01582), RX-CC\_like-домен (CDD ID: cd14798) и RPW8-домен (Pfam ID: PF05659). Аминокислотная последовательность TIR-домена TNL транскриптов характеризуется  $\alpha/\beta$ -структурой, на N-конце содержит гидроксильные группы (серин, треонин), за которыми следуют характерные TIR (1-5) мотивы. Для полипептида RX-CC\_like-домена установлена  $\alpha$ -структура, формирующая пучок из четырех спиралей. Идентифицированный для RNL транскриптов RPW8-домен, транслируемой аминокислотной последовательности, представлен  $\alpha/\beta$ -структурой, с характерными двумя  $\beta$ -листами и  $\alpha$ -спиралями архитектуры параллельного пучка.

Полученные результаты представляют собой новую информацию о структурном разнообразии NBS-LRR генов *P. sylvestris*, участвующих в формировании специфического иммунитета в ответ на инфицирование *Fusarium sp.*

# ОСОБЕННОСТИ АССОЦИАЦИЙ miRNA с mRNA КАНДИДАТНЫХ ГЕНОВ ИНФАРКТА МИОКАРДА

Д.Д. Мукушкина

TreeGene, 050009, Алматы, ул. Аносова 98  
e-mail: dina.mukushkina@gmail.com

**Ключевые слова:** инфаркт миокарда, гены-мишени, сайт связывания, miRNA, mRNA

Сердечно-сосудистые заболевания являются ведущей причиной смертности во всем мире и, по прогнозам, сохраняют лидирующие позиции в ближайшие десятилетия. В структуре смертности от сердечно-сосудистых заболеваний первое место занимает инфаркт миокарда. В основе данного заболевания лежит атеросклеротическое поражение артерий, на фоне которого развиваются нарушения кровообращения, инфаркт с последующим развитием некротического процесса. Сегодня в стратегии оценки риска инфаркта и постинфарктных осложнений значимой проблемой является чувствительность и прогностическая ценность существующих методов и маркеров, поэтому выявление новых маркеров, обладающих высокой специфичностью и чувствительностью, является актуальной задачей. Появляется все больше научных работ, исследующих miRNA в качестве маркеров заболеваний. Показано, что miRNA играют решающую роль в механизмах развития инфаркта миокарда, таких как разрыв атеросклеротических бляшек, тромбоз и некроз клеток сердца после закупорки коронарной артерии. Исследования *in vitro* показали, что miRNA, попадая в клетки реципиента, функционально активны и способны выступать в качестве химических мессенджеров, регулирующих межклеточные взаимодействия. Таким образом, профилирование miRNA может отражать состояние выбранных групп клеток и выявлять специфические изменения в экспрессии. Чувствительность к патологическим изменениям в клетках делает miRNA перспективными диагностическими маркерами патологических процессов как в их начале, так и во время контроля проводимой терапии.

Нами были проведены исследования по изучению характеристики взаимодействий miRNA с mRNA кандидатных генов инфаркта миокарда. Были выявлены 34, 51 и 36 генов-мишеней, имеющие сайты связывания miRNA в 5'UTR, CDS и 3'UTR, соответственно. Основываясь на критериях, выбранных в нашем исследовании (прежде всего, свободная энергия взаимодействия равная -120 кДж/моль и выше), были определены перспективные ассоциации miRNA с кандидатными генами-мишенями: в 5'UTR – ID02142.3p-miR и *ALDH2*, ID00909.3p-miR и *ALOX5*, ID00216.3p-miR и *CD40*, ID01272.3p-miR и *DDAH2*, ID01774.5p-miR и *IL6R*, miR-6752-5p и *KLF4*, ID03332.3p-miR и *LAMA3*, ID02363.5p-miR и *NOS3*, ID02800.3p-miR и *OPA1*, ID01310.3p-miR и *PDE4D*, ID03397.3p-miR и *PTGS2*, ID01098.3p-miR и *SERPINE1*, ID01018.3p-miR и *SGPP1*, ID02430.3p-miR и *SHH*, ID01652.3p-miR и *THBS1*, ID01770.3p-miR и *ZNF202*; в CDS – ID00457.3p-miR и *APOA1*, ID00425.5p-miR и *BTN2A1*, ID01632.5p-miR и *CCL5*, ID02899.3p-miR и *CDKN2B*, miR-6894-5p и *CYP1A2*, ID01806.3p-miR и *IL6R*, ID01403.5p-miR и *PLAUR*, ID02950.3p-miR и *SEMA3F*, ID03332.3p-miR и *SGPP1*, ID02062.3p-miR и *SIRT6*, ID02050.3p-miR и *TNF*, ID01804.3p-miR и *XBP1*, ID00182.5p-miR и *ZNF202*; в 3'UTR – ID01293.5p-miR и *SMTN*, ID01882.5p-miR и *TNNI3*.

Выявленные miRNA могут рассматриваться как кандидаты в маркеры при диагностике инфаркта миокарда.

## КЛОНИРОВАНИЕ И МОДИФИКАЦИЯ кДНК-ГЕНОВ РИБОСОМНОГО БЕЛКА S6 ИЗ *ARABIDOPSIS THALIANA*

Л.Т. Надирова, Д.К. Бейсенов, Г.Э. Станбекова, А.В. Жигайлов, Б.К. Исааков

Институт молекулярной биологии и биохимии им. М.А. Айтхожина,  
Казахстан, 050012, Алматы, Досмухамедова 86  
e-mail: leila.nadirova@gmail.com

**Ключевые слова:** *Arabidopsis thaliana*, рекомбинантный рибосомный белок S6 (*AtRPS6*), клонирование кДНК-гена *AtRPS6*, фосфомиметические мутации

В основе роста и развития всех организмов лежит рост, деление и дифференцировка клеток, которые подчиняются различным регуляторным системам. Основная задача этих систем – привести в соответствие развитие организма от наличия и доступности энергетических ресурсов, воздействия биотических и экологических стрессов.

Одним из таких регуляторных факторов является рибосомный белок S6 (*RPS6*), который, будучи компонентом эукариотических 40S-рибосомных субъединиц, регулирует трансляцию определенных видов мРНК. Фосфорилирование *RPS6* влияет на регуляцию биосинтеза белков у эукариот. Растительный *RPS6* может фосфорилироваться несколькими киназами по одному треониновому и четырем сериновым остаткам, локализующимся на С-конце этого белка. Понимание механизма регуляции биосинтеза у растений посредством фосфорилирования *RPS6* позволит искусственно регулировать рост и размеры клеток, а через это – повышать биомассу растений и их урожайность.

В ходе исследования активации процесса фосфорилирования растительного *RPS6* было проведено клонирование нуклеотидных последовательностей кДНК-генов двух изоформ белка *AtRPS6A* и *AtRPS6B* из *Arabidopsis thaliana* (GeneBank: AT4G31700 и AT5G10360). Были моделированы нуклеотидные последовательности праймеров, соответствующие 5'- и 3'- концам генов, которые содержали в себе дополнительные сайты рестрикции для последующего клонирования. Методом ОТ-ПЦР были наработаны полные последовательности кДНК, которые впоследствии были клонированы в вектор pET23c.

Для имитации процесса фосфорилирования было решено заменить кодоны, кодирующие треонин T249 и серины S231, S237, S240, S241 и S247 в последовательности *AtRPS6A*, а также серины S231, S237, S240 и S241 в последовательности *AtRPS6B* на кодон глютаминовой кислоты (E), несущей отрицательный заряд. Таким образом, глютаминовая кислота будет имитировать посттрансляционную модификацию белка, а именно, фосфорилирование. Для осуществления этого плана были моделированы дополнительные пары праймеров на каждый участок ДНК в районе нужного триплета серина или треонина, содержащие точечные мутации на кодон глютаминовой кислоты. Далее была проведена серия ПЦР-реакций с последовательной заменой каждого кодона.

После всех манипуляций было проведено секвенирование ДНК, подтверждающее правильность и точность нуклеотидной последовательности кДНК-генов с учетом всех замен.

Таким образом, мы получили кДНК-гены двух изоформ белка *AtRPS6*, с фосфомиметическими заменами: *AtRPS6A*(S231E,S237E,S240E,S241E,S247E,T249E) и *AtRPS6B*(S231E,S237E,S240E,S241E), клонированные в вектор pET23c.

Полученные варианты белка *AtRPS6* с фосфомиметическими заменами можно будет использовать для исследования его влияния на рост и развитие растений и последующего получения генетически модифицированных растений с повышенной продуктивностью, более ранним созреванием и высокой скоростью роста биомассы.

Работа выполнена в рамках гранта AP14869357, финансируемого КН МНВО РК.

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ШТАММОВ *M. TUBERCULOSIS*, РАСПРОСТРАНЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ КАЗАХСТАНА

Д.А. Найзабаева<sup>1,2,3</sup>, Э.Р. Мальцева<sup>1,3,4</sup>, Л.Т. Чингисова<sup>5</sup>, С.А. Куатбекова<sup>3</sup>,  
Ж.М. Досмагамбет<sup>3</sup>, В.Л. Бисмильда<sup>5</sup>, Л.Т. Ералиева<sup>5</sup>, Ю.А. Скиба<sup>1,3,4</sup>

1 - Институт молекулярной биологии и биохимии им М.А. Айтхожина,  
РК, 050012, Алматы, ул. Досмухамедова 86

2 - КазНУ им. аль-Фараби, РК, Алматы, пр. аль-Фараби, 71

3 - Филиал ТОО «Национальный центр биотехнологии», РК, Алматы, ул. Жахангер 14  
4 - ОО «Тетис», РК, Алматы, м-н 9, д.1, оф. 72

5 - ННЦ фтизиопульмонологии РК, РК, Алматы, ул. К. Бекхожина, д. 5  
e-mail: dinara.naizabaeva@gmail.com

**Ключевые слова:** *M. tuberculosis*, MIRU-VNTR типирование, ДНК-ДНК гибридизация, лекарственная устойчивость

Распространение форм туберкулеза (ТБ) с множественной и широкой лекарственной устойчивостью (МЛУ и ШЛУ) является сегодня одной из важнейших проблем здравоохранения в мире. В связи с этим актуальной задачей является изучение генетических детерминант устойчивости микобактерий для обеспечения персонализированного подхода в диагностике и лечении МЛУ и ШЛУ ТБ.

Целью исследования является молекулярно-генетическое изучение штаммов *M. tuberculosis*, распространенных на территории Казахстана, и анализ полиморфизмов в генах, ассоциированных с резистентностью к основным противотуберкулезным препаратам.

Выборка состояла из 500 изолятов *M. tuberculosis*, собранных от пациентов из различных регионов Казахстана. Генотипирование осуществлялось методом MIRU-VNTR по 24 вариабельным локусам с последующим сравнением с базами MIRU-VNTRplus, SITVIT\_WEB и собственной базой генотипов казахстанских изолятов. Выявление генетических детерминант лекарственной устойчивости осуществлялось методом ДНК-ДНК гибридизации с использованием системы биологических чипов производства ООО «БИОЧИП-ИМБ» (Россия).

Генотипирование по 24 MIRU-VNTR локусам показало, что к генетическому семейству Beijing относится 451 образец, из них 276 являются субтипом Beijing 94-32, 30 образцов относятся к эпидемически значимому штамму Beijing 100-32 (B0/W148). К семейству LAM относятся 25 изолятов, URAL – 5, Haarlem – 3, NEW-1 (Ural-2) – 2, к выявленному нами ранее семейству KAZ-1 относятся 5 изолятов. Принадлежность 6 образцов к какому-либо семейству установить не удалось, их профили выявлены только частично. 3 образца представляли смесь 2 штаммов со следами генотипа семейства Beijing. Также были выявлены 24 образца с наличием более одного аллельного варианта в отдельных локусах, что может свидетельствовать как о микроэволюции штаммов, так и случаях инфекции, вызванной более чем одним штаммом.

Анализ генетических детерминант, обуславливающих наличие МЛУ и ШЛУ среди распространенных в Казахстане генотипов *M. tuberculosis*, показал наличие полиморфизмов устойчивости к рифампицину у 444 изолятов, к изониазиду - 465, к этамбутолу - 404, к фторхинолонам - 191, к аминогликозидам - 104.

Полученные результаты пополняют базу данных казахстанских генотипов *M. tuberculosis* и будут использованы для дальнейшего изучения эпидемических процессов, протекающих на территории РК, а также способствовать внедрению новых персонализированных подходов, основанных на современных молекулярно-генетических методах ускоренной комплексной диагностики лекарственной устойчивости возбудителя туберкулеза.

## НАСЛЕДОВАНИЕ ПРИЗНАКОВ УСТОЙЧИВОСТИ К ЗАСУХЕ, ОБУСЛОВЛЕННОЕ ЭКСПРЕССИЕЙ ГЕНА *AtDREB2A-CA* В *Nicotiana tabacum*

Р.М. Наргилова, А.М. Александрова, Р.В. Крылдаков, О.В. Карпова,  
Б.К. Исакаев

Институт молекулярной биологии и биохимии им М.А. Айтхожина,  
Казахстан, 050012, Алматы, Досмухамедова 86  
e-mail: r.nargilova@imbb.org.kz

**Ключевые слова:** трансформация, табак, устойчивость, абиотические стрессы

Транскрипционные факторы – это важные регуляторы, изменяющие экспрессию генов растений в зависимости от условий окружающей среды. Транскрипционный фактор *DREB2A* из *Arabidopsis thaliana*, индуцирует экспрессию генов при засухе, тепловом шоке и засолении. Полноразмерный белок (FL) синтезируется в нормальных условиях, в то время как в условиях стресса происходит посттрансляционная модификация для активации белка. При удалении серин- и треонин-богатой области из 30 аминокислот в центральной части гена синтезируется более стабильная и каталитически активная форма (CA).

Обе кодирующие последовательности *AtDREB2A-FL* и *AtDREB2A-CA* клонированы под контроль конститутивного промотора *35S CaMV* или индуцибельного промотора *rd29A*, а также различных вариантов энхансеров трансляции *5'TMV*, *5'PVV*, *5'AMV* или *5'ARC1* в состав бинарного агробактериального вектора *pCAMBIA2300*.

С помощью агробактериальной трансформации получены трансгенные растения *Nicotiana tabacum* v. *Samsun NN*, несущие в своем геноме кодирующую последовательность транскрипционного фактора *AtDREB2A-FL* или *AtDREB2A-CA*. Всего проверено 257 растений-регенерантов, 102 из которых показали наличие вставки рекомбинантного гена. С помощью реакции обратной транскрипции отобрано 35 линий T0-поколения, содержащих транскрипты. Выделенная ядерная фракция проанализирована на присутствие рекомбинантного белка с помощью денатурирующего SDS-полиакриламидного гель-электрофореза с участием антител к последовательности *8xHis-tag*.

В результате серии экспериментов из полученных трансгенных линий отобраны линии ТЛ-38 и ТЛ-56, которые экспрессировали рекомбинантный белок *AtDREB2A-CA* под контролем промотора *rd29A* и *5'AMV* в условиях теплового шока (42°C) и показали повышенную устойчивость к засухе (18 дней без полива) и засолению (400 мМ NaCl) по сравнению с контрольными растениями исходного сорта.

Из семян этих линий выращены растения T1-поколения. Из растений, экспрессирующих РНК-транскрипты рекомбинантного гена *AtDREB2A-CA*, отобраны 4 растения линии ТЛ-38 и 18 растений линии ТЛ-56. Устойчивость к условиям засухи этих трансгенных растений табака T1-поколения оценивали с помощью процента удержания воды для каждого варианта и контрольных растений исходного сорта как в норме, так и после 14 дней без полива. В результате выявлены 4 линии с высоким процентом удержания воды (45%-49%) по сравнению с контролем (35%), 2 линии с показателями ниже контроля (31-33%), для остальных линий данные варьировали (35-43%).

Таким образом, экспрессия каталитически активной формы гена *AtDREB2A-CA* под контролем индуцибельного промотора *rd29A* и *5'AMV* повышала выживаемость растений при засухе, и этот признак передавался следующему T1-поколению.

# НОВАЯ ОБРАТНАЯ ТРАНСКРИПТАЗА ИЗ ТЕРМОФИЛЬНОЙ БАКТЕРИИ *ANOXYBACILLUS FLAVITHERMUS* И ЕЁ ПРИМЕНЕНИЕ В ОТ-LAMP

И.П. Оскорбин, М.Л. Филипенко

Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения  
РАН,  
Россия, 630090, Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева 8  
e-mail: osc.igor@gmail.com

**Ключевые слова:** обратная транскриптаза, бактериальный интрон группы II, обратная транскрипция, LAMP, процессивность

Обратные транскриптазы (ОТ) – семейство ферментов, синтезирующих ДНК по матрице РНК и в клетке участвующих в размножении ретровирусов и удлинении теломера. ОТ широко применяются *in vitro* во множестве методов современной биологии, подразумевающих анализ РНК, включая ОТ-ПЦР, NGS и ОТ-LAMP. ОТ из бактериальных интронов группы II могут стать полезным дополнением к используемым сейчас ОТ на основе обратной транскриптазы вируса лейкемии мышей Молони, так как эти ферменты демонстрируют более высокую термостабильность и процессивность. Последнее позволяет повысить эффективность обратной транскрипции и увеличить количество полностью синтезированных молекул кДНК, что облегчает дальнейший анализ кДНК. Однако разнообразие ОТ, кодируемых бактериальными интронами группы II, все еще недостаточно изучено. В настоящей работе мы описали биохимические свойства новой ОТ из интрона группы II, найденного в геноме термофильной бактерий *Anoxybacillus flavithermus*, которая была впервые найдена в горячем источнике в Новой Зеландии с оптимальными условиями для роста в виде температуры около 60 °С и рН в диапазоне 6-9.

В работе использовали аффинную и ионообменную хроматографию для очистки рекомбинантной Afl ОТ, обратную транскрипцию и количественную ОТ-LAMP для описания биохимических свойств Afl ОТ.

Клонированная ОТ, названная Afl ОТ, показала максимум специфической активности при рН 8,5, 150 мМ (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и температуре 45-50°С. При этом специфическая активность с NaCl, NH<sub>4</sub>Cl, KCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и рН 6,0-8,0, 9,0-9,5 была ниже, чем в оптимальных условиях. В качестве кофакторов Afl ОТ способна использовать ионы Mg<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup> и, менее эффективно, Ni<sup>2+</sup>. Afl ОТ показала высокую процессивность, будучи способной полностью синтезировать 36 % молекул кДНК по матрице геномной РНК фага MS2 (3569 нт), которая отличается сложной вторичной и третичной структурой. В количественной ОТ-LAMP Afl ОТ позволяла обнаруживать до 5 пг геномной РНК фага MS2, в обратной транскрипции – до 50 пг геномной РНК фага MS2. Оптимальной температурой шага обратной транскрипции в ОТ-LAMP было 55°С.

Afl ОТ является перспективным ферментом для практических приложений, нуждающихся в процессивных ОТ. Afl ОТ пригодна для использования в ОТ-LAMP и обратной транскрипции для выявления РНК со сложной вторичной структурой.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 22-24-01136).

## КЛОНИРОВАНИЕ ГЕНА А-АМИЛАЗЫ ИЗ *BACILLUS PARALICHENIFORMIS*

В.С. Попова<sup>1</sup>, Б.Б Хасенов<sup>2</sup>

1 - ЕНУ им. Гумилёва, Казахстан, 010008, Астана, Сатпаева 2

2 - Национальный центр биотехнологии,  
Казахстан, 010000, Астана, Кургальжинское шоссе, 13/5  
e-mail: viktorija.popova38@gmail.com

**Ключевые слова:** крахмал, ген, α-амилаза, клонирование, бактерия

Для современной биотехнологии α-амилазы являются одними из важных ферментов гидролиза крахмалосодержащего сырья. Альфа-амилаза (КФ 3.2.1.1) катализирует разрыв α-1,4-гликозидных связей в крахмале с образованием низкомолекулярных олигосахаридов и небольшого количества мальтозы и глюкозы. Амилазы могут быть получены из различных источников, включая растения, животных и микроорганизмы, но наиболее востребованными для промышленного использования являются ферменты микробного происхождения. Бактериальные α-амилазы представляют интерес благодаря своей гетерогенности и разнообразию высокой термостабильности, устойчивости к присутствию органических соединений в субстрате, активности в широком диапазоне pH и широкому промышленному применению, причем кальцийзависимые амилазы лучше всего подходят для слабкокислой среды, а кальцийнезависимые амилазы лучше всего подходят для щелочных сред. К числу известных α-амилаз относятся амилазы из *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* и *Bacillus licheniformis*.

Целью данного исследования является получение рекомбинантной бактериальной α-амилазы из казахстанского штамма *Bacillus paralicheniformis* для определения её биохимических параметров.

Геномную ДНК выделяли из клеток штамма *Bacillus paralicheniformis* с использованием набора DNA Genomic Purification Kit (Promega). Анализ геномной ДНК *B. paralicheniformis* (депонирован в GenBank за номером CP124861.1) показал, что ген имеет протяженность 1535 пар оснований, из которых первые 87 кодируют сигнальный пептид (MKQHKRLYARLLPLLFALIFLLPHSAAA). С учетом этого, были подобраны олигонуклеотиды: AmyFW (5'-GGAATTCCATATGGCAAATCTTAATGGGACGCTG-3') и AmyRV (5'-TTTCCTTTTGGCGCCGCTCTTTGAACATAGATCGAAACCGAT-3') для амплификации гена без сигнального пептида. Амплификацию гена α-амилазы проводили с использованием Phision ДНК полимеразы. После очистки ген α-амилазы клонировали в составе плазмидного экспрессионного вектора рЕТ-28с (+). Для этого проводили гидролиз ПЦР-амплификата и рецепиентного вектора эндонуклеазами рестрикции NdeI и NotI в буфере O (Thermo Fisher). Полученные фрагменты ДНК очищали и лигировали T4 лигазой. Для отбора лигированных молекул использовали компетентные клетки *Escherichia coli* штамма DH5α. Трансформацию клеток проводили методом температурного шока. Клоны-трансформанты отбирали на агаризованной среде Луриа-Бертани с антибиотиком канамицином в концентрации 50 мкг/мл. Дополнительно, проводили скрининг колоний на предмет наличия вставки. Скрининг осуществляли с использованием T7 праймеров: T7fw (5'-TAATACGACTCACTATAGGG-3') и T7rv (5'-GCTAGTTATTGCTCAGCGG-3'). Положительные клоны нарабатывали, выделяли плазмидную ДНК по протоколу MiniPrep (Thermo Fisher) и секвенировали по T7 региону. Анализ хроматограмм показал отсутствие каких-либо мутаций в гене. В результате получен плазмидный вектор, в котором ген α-амилазы из *Bacillus paralicheniformis* интегрирован под промотором РНК полимеразы бактериофага T7. В открытой рамке считывания кодирован белок протяженностью 515 аминокислотных остатка с молекулярной массой 58,8 кДа. С помощью данной конструкции будет получена рекомбинантная α-амилаза из *Bacillus paralicheniformis* для изучения её свойств.

## ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ КАЗАХСТАНСКИХ ПОПУЛЯЦИЙ *TARAXACUM OFFICINALE* WIGG

О.Б. Райзер, Д.С. Тагиманова, О.Н. Хапилина

Национальный центр биотехнологии,  
Казахстан, 010000, Астана, Кургальжинское шоссе, здание 13/5  
e-mail:2008olesya@mail.ru

### **Ключевые слова:** популяция, идентификация, праймер, локус

Оценка генетического разнообразия различных популяций *Taraxacum*, собранных в местах их естественного произрастания на территории Казахстанского Алтая и Акмолинской области с использованием современного молекулярно-генетического метода амплификации ДНК iPBS (Inter-Primer Binding Site Polymorphism), является актуальной задачей и обуславливает выбор направления исследований для сохранения и воспроизводства биологического разнообразия Казахстана.

В работе использовали 18-мерные PBS-праймеры 2237, 2249, 2395. Был проведен сбор трех популяций *Taraxacum officinale* Wigg. в местах их естественного произрастания (Алтайский Ботанический сад, в окрестностях поселка Ерейментау, а также г.Астана).

В результате амплификации были получены четко различимые ампликоны (64 фрагмента ДНК); количество информативных фрагментов в, зависимости от праймера, варьировало от 17 до 24, их размеры варьировали от 550 до 2000 п.н. Уровень полиморфизма составлял от 95 до 100%, что является достаточным для дифференциации исследуемых популяций.

Данные амплификации были использованы для генетического анализа GenAlex 6.5 и построения ординационной диаграммы PCoA. В результате проведения ПЦР с тремя iPBS праймерами получено 285 локусов. Рассчитаны основные показатели генетического полиморфизма, отражающие уровень изменчивости в исследуемых популяциях *Taraxacum*. Информационный индекс Шеннона (I) варьировал от 0,168 до 0,424 (чем меньше значение I, тем стабильнее популяция, чем больше данное значение, тем больше видовое разнообразие). Установлено, что наблюдаемая гетерозиготность ( $u_{He}$ ) всех популяций, больше ожидаемой гетерозиготности ( $He$ ), что говорит о том, что система случайного скрещивания в популяции преобладает над имбридингом.

Было выделено три территориально изолированных географических локации с разными условиями среды обитания. Пространственная динамика популяций *Taraxacum officinale* Wigg., проведенная с использованием многомерной ординации – principal coordinates analysis (PCoA), основанного на данных NeiP, показала, что популяции расположились согласно эколого-географической классификации. Pop3 находится обособленно от других популяций. Возможно, это объясняется тем, что данная популяция произрастает на территории Казахстанского Алтая. На кластерограмме популяции Pop1 и Pop2 расположились ближе друг к другу, такое расположение относительно осей координат PCoA характерно в случае близкого генетического сходства и произрастанием в одной географической области (Акмолинская область). Оценка молекулярной вариации показала, что внутрипопуляционная изменчивость составила 53%, а межпопуляционная – 47%.

В целом уровень внутри- и межпопуляционной генетической изменчивости был незначительным. Некоторые различия генетического разнообразия могут быть связаны с видовыми особенностями и эколого-географическими условиями существования исследованных популяций.

## ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ПОЛНОЭКЗОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МУТАЦИЙ, АССОЦИИРОВАННЫХ С РАЗВИТИЕМ СИМПТОМАТИЧЕСКОЙ ЭПИЛЕПСИИ И АУТИЗМА

Л.А. Скворцова, А.В. Перфильева, К.Б. Беспалова, Е.Б. Кузовлева, О.Х. Хамдиева, Н.П. Кабышева

Институт генетики и физиологии, Казахстан, 050060, Алматы, аль-Фараби 93  
e-mail: lilia\_555@rambler.ru

**Ключевые слова:** аутизм, эпилепсия, полноэкзомное секвенирование, ген *PRRT2*

Аутизм и эпилепсия - два различных состояния, которые могут существовать отдельно друг от друга или сочетаться в редких случаях. В основе каждого из них лежат уникальные неврологические нарушения, которые влияют на функционирование мозга и поведение человека. Установление молекулярно-генетических причин и механизмов развития аутизма и эпилепсии каждого отдельного случая, дает надежду на новые методы диагностики и их эффективное лечение.

В данной работе мы представляем результаты всестороннего исследования одного пациента с клиническим диагнозом симптоматическая эпилепсия, аутизм. Пробанд и члены его семьи прошли полноэкзомное секвенирование (анализ на базе Celomics, Inc., Сеул, Корея (Illumina NovaSeq Sequencing Platform)) для выявления генетических мутаций в целевых генах. Выравнивание чтений производилось с помощью алгоритма BWA-mem. Для подготовки файлов BAM к вызову вариантов использовали GenomeAnalysisTK, Picard и Samtools. Для вызова вариантов и аннотации использовали GenomeAnalysisTK, SnpSift и SnpEff. Ранжирование вариантов проводилось по критериям: частота аллели, патогенность, гомо-/гетерозиготность замены и т.д. Проведено подробное анкетирование, собран и проанализирован лабораторно-диагностический материал из анамнеза заболевания.

По результатам полноэкзомного секвенирования, у пробанда и членов его семьи были выявлены две патогенные гетерозиготные мутации в генах *KRIT1* и *PRRT2*. Обе мутации представляют собой однонуклеотидные дубликации в активных сайтах соответствующих белков и приводят к сдвигу рамки считывания, неполной трансляции. Обе мутации затрагивают патологии головного мозга и наибольший интерес для пробанда представляет мутация в гене *PRRT2*. Результатом является неспособность белка *PRRT2* взаимодействовать с ионными кальциевыми каналами и правильно регулировать передачу нервного импульса в нервных клетках. Выявленная мутация отмечена в ряде клинических баз данных как патогенная/возможно патогенная, встречающаяся в гетерозиготном состоянии и часто имеющая семейный характер наследования, обуславливая развитие транзиторных доброкачественных семейных судорог по 2-му типу и пароксизмальных дискинезий. Вариабельность клинических признаков у носителей, а также, возрастная элиминация судорог у большинства пациентов, говорит о неполной пенетрантности мутации и сочетанному влиянию дополнительных генетических локусов.

Принимая во внимание результаты периодического ЭЭГ-мониторинга, семейную отягощенность судорог неясного генеза по линии отца и предоставленный анамнез заболевания, была рекомендована консультация невролога для коррекции терапии с учетом выявленной мутации в гене *PRRT2*. Таким образом, изучение индивидуальных генетических особенностей пациентов имеет большой потенциал для коррекции и лечения заболевания.

## РАЗРАБОТКА ПСЕВДОВИРУСНЫХ ЧАСТИЦ БУНЬЯВИРУСОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ИНГИБИТОРОВ ИХ ПРОНИКНОВЕНИЯ

В.О. Труфанов, А.А. Исаева, Д.Н. Щербаков

ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора,  
630559, р.п.Кольцово, Новосибирская область, Россия  
e-mail: trufano8@mail.ru

**Ключевые слова:** буньявирусы, псевдовирусы, терпеноиды

Буньявирусы - группа РНК-вирусов, возбудители ряда лихорадочных и геморрагических заболеваний. Ежегодно число летальных исходов, вызванных данными заболеваниями, достигает 300000. Заболеваемость, обусловленная буньявирусами, неуклонно растет - возникает необходимость в разработке вакцинных и терапевтических препаратов.

Псевдотипированные вирусы - это биологически безопасные рекомбинантные частицы, имеющие капсид непатогенного вируса и поверхностные белки целевого вируса. Оболочки таких частиц имеют конформационную структуру, функционально аналогичную оболочке вирусов дикого типа, что позволяет исследовать взаимодействие этих вирусов с клеточными рецепторами, изучать механизмы проникновения вируса и вести поиск блокаторов проникновения различной природы. Псевдовирусные частицы неинфекционны, поскольку не содержат вирусного генетического материала, в связи с этим работа с ними не представляет биологической опасности.

Цель данной работы - получить частицы, псевдотипированные поверхностными белками вируса Хантаана, и оценить их трансдуцирующую активность, что в дальнейшем станет основой системы тестирования ингибиторов проникновения буньявирусов.

Для достижения поставленной цели были проведены следующие работы. Последовательность поверхностного гликопротеина вируса Хантаана была взята из базы данных NCBI и синтезирована на заказ в составе вектора pUC57. Путем клонирования гена поверхностного гликопротеина вируса Хантаана в составе экспрессионного вектора pCAG получена генетическая конструкция, обеспечивающая синтез полипептида в клетках млекопитающих. Корректность сборки вектора pCAG-Нап была проверена секвенированием по Сенгеру.

Сборка вирусных частиц осуществлялась с использованием рабдовирусной платформы. Трансфекцию культуры клеток НЕК293 рекомбинантной плазмидой pCAG-Нап проводили совместно с коровыми частицами вируса везикулярного стоматита, кодирующими ген люциферазы светлячка.

Функциональный анализ проводили с использованием клеток НЕК293, к культуре которых добавляли псевдовирусный супернатант с последующим лизированием (через 48) клеток с дальнейшим внесением люциферина и определением уровня люминисценции.

Таким образом, были проведены работы по конструированию рекомбинантных плазмид, содержащих гены поверхностных белков буньявирусов. Были собраны соответствующие псевдовирусные частицы. Функциональный анализ показал высокий уровень сигнала люминисценции.

Полученные псевдовирусы будут использованы для поиска веществ терпеновой природы, способных ингибировать проникновение полученных частиц в чувствительные клетки.

2

SECTION / БӨЛІМ / СЕКЦИЯ

BIOCHEMISTRY / БИОХИМИЯ / БИОХИМИЯ

## THE ROLE OF ANTIOXIDANT DEFENSE SYSTEMS IN MAIZE CHLOROPLASTS UNDER SALT STRESS

**N. Kh. Aliyeva, D.R. Aliyeva, S.Y. Suleymanov**

*Institute of Molecular Biology and Biotechnologies,  
Azerbaijan, Az 1073, Baku, 11 Izzat Nabiyev Str.  
e-mail: nahidaaliyeva@yahoo.com*

**Keywords: maize, chloroplast, mesophyll, bundle sheath, antioxidant enzymes**

Salinity has a negative effect on the growth, development and formation of agricultural crops, including maize. The increase in the activity of antioxidant enzymes under stress conditions is considered one of the main factors that provide the plant's resistance to stress.

The maize plant taken as the object of research was exposed to various salt concentrations during the vegetative growth period in hydroponic conditions under artificial climatic conditions - 5 days after 2 leaves were fully formed, and biochemical analyzes were carried out by separating the mesophyll (M) and bundle sheath (BS) cell fractions from the leaves. The amount of malondialdehyde (MDA) and superoxide anion radicals, the activity of superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX), catalase (CAT), and isozyme composition, were studied in control and salt-stressed plants.

It was shown that the amount of MDA in M chloroplasts of salt-stressed plants was higher than that of BS chloroplasts. As a result of histochemical analysis, it was determined that the accumulation of reactive oxygen species (ROS) is more intense in the damaged parts of the leaves due to stress. The accumulation of superoxide radicals in leaves exposed to 2% and 3% NaCl salt is greater than that of 1% salt. As a result of the analysis, an inverse correlation was observed between APX and CAT activity. A decrease in the activity of APX was observed in the 3% NaCl environment against the background of the increase in the activity of CAT in M and BS cells depending on the salt concentration. This can be attributed to the decrease in the amount of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, the substrate of APO as a result of its utilization by CAT.

The analysis of the isozyme composition of antioxidant enzymes in M and BS cells revealed 5 isoforms of APX in M, 1 isoform in BS, 3 isoforms of SOD in M, 1 isoform in BS, and 1 isoform of CAT in BS on the electropherogram. In contrast to mesophyll cells, the intensities of isoforms in BS cells increased with increasing salt concentrations, indicating that M cells are more sensitive to salt stress than BS cells.

It was concluded that the chloroplasts of the M and BS cells of the maize plant related to the C<sub>4</sub> metabolism of photosynthesis differ significantly from each other in terms of salt stress tolerance. Chloroplasts of bundle sheath cells of maize show higher tolerance to salt stress than mesophyll cells.

## FUTILE REPAIR CATALYSED BY HUMAN MISMATCH-SPECIFIC THYMINE-DNA GLYCOSYLASE

D. Manapkyzy<sup>1</sup>, S.M. Taipakova<sup>1</sup> and M.K. Saparbaev<sup>2</sup>

1- SRI of Biology and Biotechnology Problems, Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan

2 - Université Paris-Saclay, Gustave Roussy Cancer Campus, F-94805 Villejuif Cedex, France  
e-mail: manatkyzy.diana@gmail.com

**Key words:** TDG<sup>FL</sup>, TDG<sup>cat</sup>, BER, aberrant repair, futile activity

The human thymine-DNA glycosylase (TDG) excises T mispaired with G to initiate the base excision repair (BER) pathway. It was demonstrated that TDG involved in the epigenetic regulation of gene expression by protecting CpG-rich promoters from *de novo* DNA methylation. Likewise, TDG can excise T opposite to damaged A residue, initiating aberrant mutagenic BER which leads to TpG→CpA mutations. Recent animal studies have revealed an association between loss of TDG and the onset of tumorigenesis. Analysis of mutations in *Aristolochic acids* induced cancers revealed that irreparable aristolactam adducts (dA-AL) generates mutation signatures such as CpTpG→CpApG corresponding to the sequence context preferred by TDG-catalysed aberrant excision. Given that we hypothesized a possible involvement of TDG in the aberrant BER of aristolactam-DNA adducts.

To study the involvement of TDG in the initiation of aberrant repair, we carried out reconstitution of the BER pathway *in vitro*. Recombinant hTDG was purified by nickel affinity chromatography and incubated with radiolabeled synthetic oligonucleotides containing dA-ALI/ALII adducts opposite to T in different sequence contexts.

So far, as our study progressed, we found that that under extended incubation time the full-length TDG (TDG<sup>FL</sup>), but not the truncated version of TDG (TDG<sup>cat</sup>) containing only catalytic domain of the protein, exhibits significant excision of T and C opposite to regular A and G, respectively, compare to T paired with the dA-AL adducts. TDG targets the non-damaged pyrimidines in regular DNA duplex preferentially in TpG/CpA and CpG/CpG contexts. Although, time course of the cleavage product generation under single-turnover conditions revealed that the maximal rate of base excision ( $k_{obs}$ ) of TDG<sup>FL</sup>-catalyzed cleavage of T in T•A base pair is 1000-fold lower than in T•G base pair ( $0.165 \text{ min}^{-1}$ ), this activity become significant upon long incubation time (18h). We showed that TDG<sup>FL</sup>, but not TDG<sup>cat</sup>, exhibits prolonged enzyme stability under 37°C in the presence of equimolar concentration of regular DNA duplex, suggesting that disordered N- and C-terminal domains of TDG<sup>FL</sup> can interact with DNA and stabilize overall conformation of the protein. Interestingly, the presence 5-mC, but not 5-hmC, strongly inhibits futile excision in CpG context. These findings prompted us to consider a possible involvement of this futile BER activity in the formation of single-strand breaks (SSB) within enhancers in the postmitotic neuronal cells suggesting the role of TDG in enhancer activation and neurodegenerative diseases.

In conclusion, under experimental conditions used TDG catalyses sequence context-dependent futile excision of pyrimidine residues in regular DNA duplex, which under *in vivo* conditions would lead to generation of the persistent SSB in non-methylated regions of chromosomal DNA.

## THE EFFECT OF MULTISPECTRAL LED ON TOMATO PRESERVATION

A.Zh. Temirbekova, Zh. Adylbek

*Department of Environmental Engineering and Management, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Kazakhstan, 010000, Astana, Satpayev Str. 2  
e-mail: aliya\_090494@mail.ru*

**Key words: LED light; preservation; lycopene; ascorbic acid; tomato fruits**

Major losses of fresh tomatoes happen during post-harvest storage due to prompt senescence and diseases. The aim of the research was to evaluate the effects of different spectra of LED lights on the post-harvest preservation of ascorbic acid, lycopene, and total soluble solids, the weight and size of tomato fruits, as well as to determine the optimal exposure time and extension of shelf-life. Therefore, experiments were carried out in a climate chamber with shelves equipped with three different light spectra: red light-emitting diodes (RL), red-blue-white light-emitting diodes (FL), and ultraviolet-light-emitting diodes (UV-LED). The samples were stored (at room temperature around 20°C) in the Water Management laboratory of L.N. Gumilyov Eurasian National University. The tomatoes were equally distributed into three storage shelves of the experimental facility, each with a different light spectrum and intensity mode. The samples were kept at a distance of 50 cm from the LED lights. The temperature in the climate chamber was maintained at 13–15°C, with humidity at 85% correspondingly. The control samples were stored in cardboard in the dark at room temperature.

Every seventh day, external quality parameters (mass, size, and firmness) of the same four tomato fruits of a replicate were evaluated. For the evaluation of the preservation of ascorbic acid, lycopene, and total soluble solids, every seventh day a tomato fruit from each group was randomly selected and subjected to analysis. The spectrophotometric method was employed to quantify the lycopene and ascorbic acid content in the food samples. Total soluble solids were measured from the blended and filtered sample with a held refractometer.

Light treatment had a certain positive effect on the firmness, size, and mass of samples. Tomato fruits exposed to the spectra of LED lights demonstrated a better quality of firmness and mass. The full spectrum preservation approach produced the lowest weight. The treatments with RL significantly improved the concentration of lycopene than FL and UV-LED lights, although the highest concentration of lycopene was observed in the control samples for the first 7 days of the storage. After 21 days, the ascorbic acid content in the red spectrum was found to be much higher than in the other samples, coming in at about 1.8 mg/100 mL compared to 1.0 mg/100 mL for the control samples. Total soluble solids also increased significantly after preservation, rising from 3.9 °Brix in the control samples to roughly 7.3 °Brix in samples preserved using the full spectrum after 21 days. Overall, the results of the study demonstrated that tomato preservation using the investigated techniques induced lycopene concentration, ascorbic acid, and total soluble solids concentrations. The results derived from this study provide highly useful information in the field of post-harvest preservation.

This research was funded by the Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Kazakhstan to support the grant AP14972696 “Innovation technology for long-term storage of fruits and vegetables” for 2022–2024 under “Zhas Galym” project for postdoctoral research.

# IMMOBILIZATION OF HORSERADISH PEROXIDASE ENZYME ONTO POLYMERIC MICROBEADS AND ITS USAGE IN DYE DECOLORIZATION

A. Zhumabekova<sup>1</sup>, S.A. Nomaa<sup>2</sup>, E.T. Özera<sup>2</sup>, B. Osman<sup>2</sup>

1 - Atyrau University named after Kh. Dosmukhamedov  
Kazakhstan, 060000, Atyrau, Student Avenue 212

2 - Bursa Uludag University,  
Republic of Türkiye, 16000, Bursa city, Görükle Campus 16059 Nilüfer  
e-mail:altynay99@mail.ru

**Keywords:** Horseradish peroxidase, enzyme immobilization, dye decolorization, polymeric microbeads

Horseradish peroxidase (HRP; EC 1.11.1.7) is receiving significant attention as a result of its easy availability, broad substrate specificity, and high inhibition resistance over a wide concentration range. It catalyzes the oxidation reaction of different substrates by degrading hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (Onder et al., 2011). However, HRP has disadvantages that limit its techno-commercial application, such as deactivation in extreme pH or temperature values, expensive cost, and reusability problem. The enzyme immobilization process can overcome these disadvantages and improve enzyme's properties and application potentials.

In this study, horseradish peroxidase (HRP) enzyme was immobilized onto poly(ethylene glycol dimethacrylate-N-methacryloyl-amido-L-tryptophan methyl ester) [PEDMT] microbeads by adsorption method and used in decolorization of Congo red (CR) and Reactive Black 5 (RB5) dyes. The microbeads were characterized by Brunauer–Emmett–Teller (BET) analysis, Fourier Transform infrared spectroscopy (FTIR), and scanning electron microscopy with energy dispersive X-ray analysis (SEM/EDX).

Immobilization yield, activity yield, and immobilization efficiency were determined and had a value of  $84.86 \pm 2.06\%$ ,  $73.78 \pm 5.91\%$ , and  $86.95 \pm 6.92\%$ , respectively. Relative activities of free and immobilized enzymes were compared, and optimum reaction conditions were determined as pH 6.0, 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentration, and temperature of 50°C for PEDMT-HRP and 40°C for free HRP. The effect of metal ions and organic solvents, thermal and storage stability of enzymes were estimated. Also, it was possible to reuse PEDMT-HRP for ten cycles with 55% of the remaining activity. The decolorization studies were performed and the effects of pH, microbeads amount and enzyme concentration, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and dye concentration, and contact time were indicated. The best decolorization was obtained at pH 6.0, 25 mg/L dye concentration, 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentration, and 2 h of contact time for both enzymes. PEDMT-HRP preserved 44% of activity after the ten cycles with CR and 17% after the five cycles with RB5. Moreover, decolorization was followed via HPLC analysis.

The results revealed that PEDMT-HRP could simultaneously decolorize both dyes with 94% (CR) and 29% (RB) efficiency, but the free enzyme displayed 4.5% decolorization.

## БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ТРИПСИН ПОДОБНОЙ ПРОТЕАЗЫ ГРИБА *FUSARIUM GRAMINEARUM*

Э.О. Абайлдаев<sup>1</sup>, Г.А. Утегенова<sup>1,2</sup>, В.А. Кузовлев<sup>1</sup>, А.А. Хакимжанов<sup>1</sup>

1 - Институт молекулярной биологии и биохимии им. М.А. Айтхожина, Казахстан, 050012, Алматы, ул. Досмухамедова, 86

2 - Южно-Казахстанский педагогический университет им. У. Жанибекова, Казахстан, 160012, Шымкент, А. Байтурсынова, 13  
e-mail: abaildayevaset@gmail.com

**Ключевые слова:** *F. graminearum*, протеаза, биохимические свойства

Микроскопические грибы усваивают пищу с помощью экстрацеллюлярных ферментов - эндоглюканазы, хитиназы, ксиланазы, целлюлазы, липазы,  $\alpha$ -амилазы, протеазы. Сериновые протеазы грибов рода *Fusarium* относятся к семействам субтилизины и трипсина и переводят белки в легкоусвояемые вещества - аминокислоты [Pessôa, M.G., 2017; Lowe, R.G., 2015]. Цель работы - выделение и изучение свойств трипсиновой протеазы гриба.

Гриб *F. graminearum* культивировали 12 дней при 30°C в 500 мл колбах на твердой среде в двух вариантах - с 12 г пшеничных отрубей и на отрубях с 0,36 г пшеничного глютена, с добавкой солей 1,5 г  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,25 г  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,01 г  $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  / 100мл  $\text{H}_2\text{O}$  с pH 5,5. Отбор образцов твердой фазы проводили каждые 2 суток. К 1,5 г образца добавляли 7,5 мл  $\text{H}_2\text{O}$ , затем 0,375 мл 1 М Tris-буфера pH 8,0, инкубировали 1 ч, центрифугировали при 10000 $\times$ g 20 мин и обессоливали на колонке Centri Pure P-25 с 0,01 М Tris-буфером pH 8,0. Протеазу определяли в смеси 0,3 мл  $\text{H}_2\text{O}$  + 0,1 мл 0,5 М Tris-буфера и 0,1 мл супернатанта после 2 ч инкубации при 40°C с 0,5 мл 0,5 % гемоглобина. Добавляли 1 мл 10 % ТХУ, центрифугировали при 5000 $\times$ g 30 мин и измеряли активность при  $\lambda=280$  нм. Для очистки фермента супернатант 0,75 л осаждали  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . Аффинную хроматографию 1 мл диализованного белка проводили в 1,0 $\times$ 5 см колонке с Benzamidine-sepharose (сорбент для трипсина). Затем промывали 0,05 М  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , pH 5,5 с 0,5 М NaCl, протеазу элюировали 40 мМ  $\text{CH}_3\text{COOH}$  и нейтрализовали 0,2 М NaOH до pH 7,0. Электрофорез белков проводили по методу Лэммли.

Исследована динамика накопления биомассы мицелия на твердой среде с отрубями (от 1,3 до 6,1 г) и с глютенем (от 1,5 до 6,3 г) в период 2-12 дней культивирования. Активность протеазы в варианте с отрубями составила от 100 до 420 ед./мл<sup>-1</sup>.ч<sup>-1</sup>, а в варианте отрубей с глютенем от 80 до 430 ед./мл<sup>-1</sup>.ч<sup>-1</sup>. Максимум активности протеазы в первом случае составил 610 ед./мл<sup>-1</sup>.ч<sup>-1</sup>, а во втором - 475 ед./мл<sup>-1</sup>.ч<sup>-1</sup>. Разница в активности между двумя вариантами составила 23% на 8 сутки. Класс-специфические ингибиторы E-64, пепстатин А (цистеиновые протеазы) и ЭДТА (металлопротеиназы) не ингибировали очищенный фермент, а ингибиторы сериновых протеаз ФМСФ, соевый трипсиновый ингибитор и ДФП снижали активность на 85, 90 и 94%, соответственно. Очищенная протеаза имела М.в. 25 кДа, оптимум pH 7,0-8,0, температурный оптимум 40-50°C и термостабильность 40-50°C (10 мин).

В результате оптимизирована твердофазная среда с максимум продукцией протеазы гриба *F. graminearum* на 8 сутки культивирования. С помощью специфических ингибиторов установлена природа фермента - сериновая трипсин подобная протеаза. Определены молекулярный вес, pH- и температурные оптимумы, термостабильность. Полученные данные по культивированию *F. graminearum*, получению протеазы и ее свойствам дополняют накопленные сведения по грибным гидролитическим ферментам.

## ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ГРИБА *FUSARIUM GRAMINEARUM* С ПОВЫШЕННОЙ ПРОДУКЦИЕЙ ПРОТЕАЗЫ

Э.О. Абайлдаев<sup>1</sup>, Г.А. Утегенова<sup>1,2</sup>, В.А. Кузовлев<sup>1</sup>, А.А. Хакимжанов<sup>1</sup>

1 - Институт молекулярной биологии и биохимии им. М.А. Айтхожина,  
Казахстан, 050012, Алматы, Досмухамедова 86

2 - Южно-Казахстанский педагогический университет им. У. Жанибекова,  
Казахстан, 160012, Шымкент, А. Байтурсынова, 13  
e-mail: abayldayevaset@gmail.com

**Ключевые слова:** *F. graminearum*, культивирование, сериновая протеаза

Представители рода *Fusarium* в основном поражают зерновые культуры. Одними из дигестивных ферментов этих грибов являются протеазы, переводящие запасной нерастворимый протеин в легкоусвояемые вещества. Протеазы делятся на шесть классов – серин, цистеин, тронин, аспарагин, глутамин и металлопротеазы. Протеазы грибов серинового типа представлены семействами субтилизина и трипсина.

Для получения культуры гриба *F. graminearum* использовали конидии в концентрации  $2,2 \times 10^6$ /мл (или  $3,8 \times 10^6$ /мл) в жидкой среде Чапек-Докс (1,5 г  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,25 г  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,01 г  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ). В качестве источника белка использовали дрожжевой экстракт, казеин или желатин в количестве 1г/100 мл, а в качестве источника углерода – глюкозу 1г/100 мл  $\text{H}_2\text{O}$ . Гриб культивировали 21 день при 25°C и 120 об./мин. Глюкозу определяли в образцах КФ динитросалициловым методом при длине волны 540 нм. Для определения протеазы смесь 0,1 мл КФ, 0,1 мл 0,5 М фосфатного буфера pH 7,6, 0,3 мл  $\text{H}_2\text{O}$  и 0,5 мл 1% гемоглобина инкубировали 4 ч при 37°C. Добавляли 1 мл 10% ТХУ и измеряли активность при 280 нм.

Была установлена связь динамики накопления биомассы мицелия от 0,8 до 3,0 г с увеличением pH от 7,7 до 8,9 и снижением количества глюкозы с 590 до 440 мг/100мл в культуральной жидкости в период с 3 до 21 день. Выявлены различия влияния разных белковых добавок на активность протеазы. В присутствии 1% дрожжевого экстракта рост активности составлял от 105 до 215 ед./мл<sup>-1</sup>·ч<sup>-1</sup>. В сравнении с 1% казеином (94-154 ед./мл<sup>-1</sup>·ч<sup>-1</sup>) и 1% желатином (93-140 ед./мл<sup>-1</sup>·ч<sup>-1</sup>) эта активность была выше на 35%. Добавка глюкозы повышала активность фермента почти вдвое по сравнению с вариантом отсутствия углевода (213-423 ед./мл<sup>-1</sup>·ч<sup>-1</sup> против 104-213 ед./мл<sup>-1</sup>·ч<sup>-1</sup>) в период культивирования 3-18 дней. Инокуляция конидиями в концентрации  $3,8 \times 10^6$ /100 мл по сравнению с  $2,2 \times 10^6$ /100 мл приводила к увеличению протеазы в период от 3 до 12 суток на 20 %. Установлено влияние разных двухвалентных металлов на протеазу из КФ. При концентрации 1 и 10 мМ  $\text{Mg}^{2+}$  остаточная активность составила 97 и 93%,  $\text{Ca}^{2+}$  - 94 и 89%,  $\text{Ba}^{2+}$  - 92 и 87%, присутствие  $\text{Mn}^{2+}$  и  $\text{Cu}^{2+}$  значительно подавляло фермент (81 и 42%, 72 и 22%).

В результате работы оптимизирована среда Чапек-Докс с внесением 1% глюкозы, 1% дрожжевого экстракта и конидий  $3,8 \times 10^6$ /100мл для повышенной продукции протеазы гриба *F. graminearum* в период 14-дневного культивирования. Установлена чувствительность протеазы из КФ к разным ионам металлов. Разработанные методы культивирования гриба могут быть использованы для повышения синтеза протеазы, количественного выхода и изучения ее биохимических свойств.

## БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЛИСТЬЕВ ЛАВРА БЛАГОРОДНОГО, РАСТУЩЕГО В ГОРОДЕ ГЯНДЖА

А.Ш. Алиева, А.С. Сердарова

Азербайджанский государственный аграрный университет,  
Республика Азербайджан, город Гянджа, ул. Озан 146  
e-mail: edalet270705@gmail.com

**Ключевые слова:** лавр благородный, метаболиты, эфирные масла, биологически активные вещества

Лавр (*Laurus nobilis* L.) также называемый настоящим, римским или турецким лавром или лавром сладким, представляет собой ароматное вечнозелёное дерево или большой кустарник с голыми, гладкими зелёными листьями. Он произрастает в регионах Средиземноморья и принадлежит к семейству лавровых. Листья очередные, узко-продолговато-ланцетные. Цветки растения мелкие, четырёхлепестные; женские цветки обычно имеют от 2 до 4 стаминодий, а мужские - от 8 до 12 тычинок. Односемянные яйцевидные плоды растения, известные как лавровые ягоды, имеют размер примерно 10–15 мм и темно-фиолетовый цвет, который при полном созревании становится черным. Эти плоды характеризуются тонким, ломким и морщинистым околоплодником, при вскрытии которого обнажается семенное ядро, при этом семенные кожуры прилипают к внутренней поверхности околоплодника. В плодах присутствуют как фиксированные, так и летучие масла, и эти масла в основном используются в мыловарении. Это растение широко используется в пищевой и косметической промышленности. Его листья обычно используют в кулинарии в качестве приправы к мясу и рыбе. Растение также используется для защиты от канцерогенеза и может действовать как растительный инсектицид. Лавровый лист, богатый биологически активными молекулами, обладает значительными антиоксидантными, противомикробными, противовоспалительными и другими полезными для здоровья свойствами. В эфирном масле лавра благородного содержится множество биологически активных соединений. Почва окружающей среды, климатические условия, сезон, место и время сбора растения влияют на химический состав его эфирного масла. Кроме того, на содержание эфирного масла влияют методы сушки, методы экстракции и методы анализа. Экстракты и эфирные масла растения широко используются благодаря их антиоксидантной активности. Наиболее изученными являются водно-спиртовые экстракты лавровых листьев.

Образцы масла листьев или плодов лавра были собраны в городе Гянджа. Образцы сушили в сушильном шкафу при температурном режиме 150°C в течение нескольких недель. Они имели конечную влажность 10,01%. Перед использованием высушенные образцы измельчали в блендере. В конце процесса измельчённые размеры частиц находились в диапазоне 0,8-0,9 мм. Эфирные масла листьев или плодов лавра получали методом гидродистилляции в аппарате Клевенджера. 100 г листьев или плодов лавра помещали в колбу (2,5 л) и подвергали гидродистилляции в течение 2,5 часов. Пробы масла сушили над безводным сульфатом натрия и хранили в темноте при температуре 4°C.

В результате проведённых анализов были выделены четыре активных флавоноида: кемпферол, кемпферол-3-рамноиранозид, кемпферол-3,7-дихамрамноиранозид.

## ИЗУЧЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ БАРБАРИСА

Э.Э. Алиева, М.Э. Габиллов

Азербайджанский государственный аграрный университет,  
Азербайджанская Республика, город Гянджа, ул. Озан 146  
email: malik.qabilov@mail.ru

### Ключевые слова: дикорастущие плоды, барбарис

Выращивание плодовых культур играет важную роль в процветании любого народа. Они являются важным экспортным товаром во многих странах. Фрукты также составляют значительную часть общего сельскохозяйственного производства в Азербайджане, и страна, способная выращивать более 100 видов фруктов, в основном включает фрукты умеренного пояса, а также некоторые субтропические и даже тропические. Наряду с культивируемыми фруктами в стране имеются многочисленные естественные популяции диких съедобных фруктов. Дикорастущие съедобные плоды выращиваются в определённых сельских районах по всему миру в плохих условиях выращивания и в настоящее время имеют большое значение из-за их особых свойств как крупного источника фитохимических веществ, которые важны для здоровья и благополучия человека.

Барбарис – обширный род, включающий около 450-500 видов, которые в основном произрастают в умеренных и субтропических регионах мира. *Berberis vulgaris*, европейский барбарис, является наиболее известным видом и доминирует в естественном производстве барбариса в мире. Плод *B. vulgaris* – небольшая ягода длиной 5-15 мм, при вызревании становится красной или темно-синей, часто с розовым или фиолетовым восковым налётом на поверхности; у некоторых видов они могут быть длинными или узкими, а у других видов имеют сферическую форму.

Плоды барбариса собирали в стадии полного созревания вблизи Самухского и Гейгёльского района. Примерно 0,5 кг полностью созревших свежих плодов барбариса собирали вручную и передавали в лабораторию для анализа. Биохимический анализ проводили в трёх повторностях, по 50 плодов в каждой. Массу плодов измеряли электронными весами с чувствительностью 0,01 г. Кожуру плодов определяли с помощью лабораторного колориметра (Lico 690). Содержание растворимых твёрдых веществ (SSC) измеряли в отфильтрованном соке с помощью цифрового рефрактометра. Образцы изучаемых фруктов также использовались для анализа соотношения мякоти плодов. Средняя масса плода, соотношение мякоти и значения РВ (содержание растворимых твердых веществ) плодов барбариса собранных из Самухского и Гейгёльского района варьировались от 0,102 г до 0,342 г; от 60,81% до 75,41% и от 16,95% до 20,85% соответственно. Образцы показали общее содержание фенолов от 2281 до 3462 мг/л фруктового сока. Результаты показали, что общее содержание фенолов барбариса сильно зависит от генотипа.

Все эти исследования показывают, что плоды барбариса, выращиваемые в разных частях страны, различаются по массе плодов. Эта изменчивость может быть связана с различными условиями выращивания, генетическим фоном, климатом, географией, культурным применением и стадией созревания.

Результаты показали, что среди барбариса собранных из двух районов, выращенного в Азербайджане естественным путем, существует достаточное разнообразие, а также результаты подтвердили, что барбарис, может быть важным источником фенольных соединений с высокой антиоксидантной активностью.

# ВЛИЯНИЕ NaCl НА АКТИВНОСТЬ H<sup>+</sup>- НАСОСОВ В КОРНЯХ, ФОТОСИНТЕЗ И КОЛИЧЕСТВО БИОПОЛИМЕРОВ В ЛИСТЯХ ХЛОПЧАТНИКА В ОНТОГЕНЕЗЕ

Н.И. Аллахвердиев<sup>1</sup>, Ш.Э. Алакбарова<sup>2</sup>, Г.Г. Бабаев<sup>1</sup>

1 - Центральный ботанический сад, Азербайджан, AZ 1073, Баку, ул. М. Мушфика, 2  
2 - Азербайджанский государственный аграрный университет, Азербайджан, AZ 2000,  
Гянджа, ул. Озан 146  
e-mail: babayev\_hg@yahoo.co.uk

**Ключевые слова:** *G.hirsutum* L., NaCl, H<sup>+</sup>-насос, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, биополимеры

В работе изучено влияние NaCl на динамику изменения активности H<sup>+</sup>-насосов в корневой системе хлопчатника вида *Gossypium hirsutum* L. Ganja-182 и скорость фотосинтеза (Pn). Сравнительно изучена активность фермента глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Q6PDH) и количественные изменения синтезируемых биополимеров (белков, углеводов, жиров).

Фермент Q6FDH играет важную роль в устойчивости растений к засухе, засолению, недостатку кислорода и другим стрессам. В серии экспериментов было выявлено, что этот фермент играет важную роль в регуляции H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Поскольку H<sup>+</sup>-насосы являются центром минерального питания растений с корнями, на основе H<sup>+</sup>-насосов полезно оценивать ионный обмен в корнях в условиях солевого стресса.

Семена хлопчатника замачивали в условиях обычного орошения и помещали в термостат, полученные из них проростки культивировали в фитотроне в контролируемой среде при концентрациях 1, 5, 10, 50, 100, 200 и 300 мМ NaCl. Эксперименты проведены на ризосфере и листьях полученных растений в разные фазы их онтогенеза.

P<sub>n</sub> измеряли с помощью инфракрасного газоанализатора LI-COR 6400 XT (Biosciences, США). Количество жиров в органах растений определяли по Сокслету, количество сахаров - по Бертрану, количество белков - колориметрическим методом Лоури. Активность фермента Q6PDH определяли по изменению оптической плотности в спектрофотометре при 4°C в течение 2 мин на длине волны 334 нм. Активность H<sup>+</sup>-насосов измеряли обычным рН-метрическим методом.

Полученные результаты показывают, что активность Q6FDH более четко регулируется при концентрации NaCl 50-100 мМ, чем при концентрации 1-10-50 мМ. В таких условиях при концентрации 100 мМ наблюдался некоторый застой интенсивности фотосинтеза, но, соответственно, возрастала активность H<sup>+</sup>-насосов, осуществляющих ионный обмен в корнях. Активность H<sup>+</sup>-насосов возрастала до концентрации NaCl 200 мМ, а ослабление наблюдалось при концентрациях 200-300 мМ. Это ослабление происходило более отчетливо при концентрации соли 300 мМ. На фоне всего этого чувствуется, что существует «согласованная» функциональная связь между количеством биополимеров и активностью H<sup>+</sup>-насосов, интенсивностью фотосинтеза и активностью фермента Q6PDH.

Все это позволяет предположить, что активность Q6FDH, одного из ферментов анаэробного обмена, более активно регулируется при более высоких концентрациях соли. В такой среде уменьшение количества сахаров, жиров и белков, играющих роль источников энергии в растениях, свидетельствует о преобладании катаболического обмена при солевом стрессе.

## ВЛИЯНИЕ СОЛЕЙ НА АКТИВНОСТЬ КАРБОАНГИДРАЗЫ И КАТАЛАЗЫ В ЛИСТЬЯХ ХЛОПЧАТНИКА В ОНТОГЕНЕЗЕ

Ш.Е. Алакбарова<sup>1</sup>, Г.А. Абиев<sup>2</sup>, Г.Г. Бабаев<sup>3</sup>

1 - Азербайджанский государственный аграрный университет, Азербайджан, AZ 2000,  
Гянджа, ул. Озан 146

2 - Азербайджанский медицинский университет, Азербайджан, Баку. ул. Бакиханова 23

3 - Центральный ботанический сад, Азербайджан, AZ 1073, Баку, ул. М. Мушфика 2  
e-mail: babayev\_hg@yahoo.co.uk

**Ключевые слова:** *G. hirsutum* L., NaCl, FeCl<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, ZnSO<sub>4</sub>, карбоангидраза, каталаза, адаптация

В настоящее время ~25% поверхности земли и ~20% пригодных для использования пахотных земель стали засоленными. По статистике ФАО, в 2025 году население мира приблизится к 10 миллиардам человек. Чтобы предотвратить подобные глобальные угрозы, важно изучить физиолого-биохимические механизмы солеустойчивости растений.

Фермент КА участвует в диффузии и транспорте CO<sub>2</sub> к центрам карбоксилирования при фотосинтезе у высших растений, а КАТ участвует в утилизации H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, образующегося в тканях растения во время метаболизма.

В данном исследовании сравнительно изучено влияние хлорных и сульфатных солей на динамику изменения активности ферментов карбоангидразы (КА) и каталазы (КАТ) в онтогенезе в листьях сорта Гянджа-182 хлопчатника *Gossypium hirsutum* L.

Эксперименты проводили на листьях проростков хлопчатника в фазах онтогенеза развивающихся растений в различных концентрациях NaCl, FeCl<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и ZnSO<sub>4</sub> (1, 5, 10, 50, 100, 200 и 300 мМ). Активность КА определяли по Вилбур Андерсону, а активность КАТ по Кумару Кновлес.

Полученные результаты показывают, что, несмотря на аналогичное повышение активности КА за счет воздействия солей, взятых в концентрациях 5-50, а иногда и 5-100 мМ, наибольшее повышение активности происходит за счет воздействия ZnSO<sub>4</sub> из сульфатных солей. Полученный результат мы связываем с наличием атома Zn в активном центре КА. Известно, что продуктивность фотосинтеза сильно зависит от активности КА, одного из ферментов CO<sub>2</sub>-обмена. КА участвует в фиксации CO<sub>2</sub> и доставке его к центрам карбоксилирования при фотосинтезе. Учитывая это, после получения экстракта листьев с применением 0-5 мМ о-фенантролина, образующего комплекс с тяжелыми металлами, мы установили, что активность КА максимально ингибируется в реакционной среде, содержащей 3-4 мМ о-фенантролина.

Под действием солей хлора активность КАТ быстро возростала. По-видимому, увеличение активности КАТ связано с увеличением содержания H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, образующегося в присутствии NaCl и FeCl<sub>3</sub>.

На основе полученных данных, можно предполагать, что как КА, так и КАТ участвуют в формировании высокой биологической продуктивности и солеустойчивости растений, путем модификации своих физиологических функций под воздействием солей.

# ПОЛУЧЕНИЕ МЕТАБОЛИТОВ ОРАЛТУРИНАБОЛА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РЕКОМБИНАНТНОЙ СТЕРОИДГИДРОКСИЛАЗЫ СУР3А4 ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ ЦЕЛЕЙ ДОПИНГ-КОНТРОЛЯ

Д.В. Бабарико<sup>1</sup>, Ю.С. Бакакина<sup>1</sup>, А.А. Кашаева<sup>3</sup>, Т.В. Цыбрук<sup>2</sup>, А.В. Свирид<sup>2</sup>, А.М. Тумилович<sup>2</sup>, А.А. Гилеп<sup>2</sup>, В.Э. Сяхович<sup>1</sup>

- 1 - Национальная антидопинговая лаборатория, Беларусь, 223040, Минская область, Минский р-н, Боровлянский с/с, 106 - 1, район аг. Лесной
- 2 - Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Беларусь, 220084, Минск, ул. академика В.Ф. Купревича, 5/2
- 3 - МГЭИ им. А.Д. Сахарова БГУ, Беларусь, 220070, Минск, ул. Долгобродская, 23/1  
e-mail: rlab@antidoping.by

**Ключевые слова:** анаболические стероиды, оралтуринабол, рекомбинантный СУР3А4 человека, жидкостная хромато-масс-спектрометрия, допинг-контроль

Оралтуринабол (дегидрохлорметилтестостерон) – один из наиболее часто выявляемых анаболических андрогенных стероидов (ААС) при допинг-контроле, употребление которого полностью запрещено. После приема ААС подвергаются метаболической дезактивации с участием ферментов I и II фаз биотрансформации с образованием ряда метаболитов, которые экскретируются с мочой. СУР3А4 является одним из наиболее важных ферментов семейства цитохромов P450, который вовлечен в метаболизм большого количества лекарственных средств, включая ААС. По требованиям WADA тестирование проб спортсменов на присутствие ААС основано на использовании стандартных веществ метаболитов ААС. В связи с этим, актуальным является вопрос синтеза высококачественных стандартов различных метаболитов ААС для подтверждения положительных результатов тестирования.

Объектом исследования являлось получение метаболитов оралтуринабола с использованием рекомбинантной ферментативной системы СУР3А4 человека. Рекомбинантные препараты ферментов СУР3А4, НАДФН- цитохром P450 редуктазы (CPR) и цитохрома b5 были получены в высокоочищенном виде (чистота >95% по данным электрофореза в денатурирующих условиях). Разделение метаболитов проводили с использованием сверхвысокоэффективного жидкостного хроматографа Dionex Ultimate 3000 («Thermo Scientific», США). Масс-спектрометрическую детекцию осуществляли на масс-спектрометре высокого разрешения Q Exactive Plus («Thermo Scientific», США). Выделение 6 $\beta$ -гидроксиоралтуринабола проводили методом ВЭЖХ с помощью жидкостного хроматографа Infinity 1290 с диодно-матричным детектором («Agilent Technologies», США). Чистоту выделенного целевого метаболита оценивали хроматографически.

В результате проведения реакции гидроксирования оралтуринабола с участием ферментативной системы СУР3А4 были получены четыре моногидроксипроизводных, основным из которых является метаболит 6 $\beta$ -гидроксиоралтуринабол. Показано совпадение времени удерживания стандарта 6 $\beta$ -гидроксиоралтуринабола и продукта реакции с участием СУР3А4. Выход основного метаболита – 6 $\beta$ -гидроксиоралтуринабола, составил 25% от исходного содержания оралтуринабола, взятого для проведения реакции. Далее было проведено выделение 6 $\beta$ -гидроксиоралтуринабола из реакционной смеси методом ВЭЖХ с регистрацией на диодно-матричном детекторе.

Таким образом, был разработан метод получения метаболитов оралтуринабола с использованием рекомбинантной стероидгидроксилазы СУР3А4 человека. Выделен в чистом виде основной метаболит – 6 $\beta$ -гидроксиоралтуринабол. Дальнейшая работа направлена на получение долгоживущих метаболитов оралтуринабола с участием ферментов I и II фаз биотрансформации ААС.

## ИЗУЧЕНИЕ БИОАКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ПОЛЫНИ ГОРЬКОЙ

А.Т. Газиев, А.М. Джафаров, Э.Ф. Рахимли

Азербайджанский государственный аграрный университет,  
Азербайджанская Республика, Гянджа, ул. Озан 146  
email: arif\_qaziyev@mail.ru

### **Ключевые слова:** полынь, биологически активные вещества, биохимия

Растения использовались с древних времен для лечения некоторых инфекционных заболеваний. Из-за побочных эффектов и устойчивости патогенных микроорганизмов к антибиотикам и большинству лекарств, представленных на рынке, большое внимание уделяется экстрактам и биологически активным соединениям, выделенным из видов растений, используемых в фитотерапии. Полынь (*Artemisia*) – важное многолетнее кустарниковое растение, которое широко используется для лечения ряда заболеваний. *Artemisia Campestris* L., широко известная как полынь, является важным многолетним кустарниковым лекарственным растением. *Artemisia* – один из наиболее преобладающих и широко распространенных родов семейства Asteraceae, который состоит из более чем 500 различных видов, классифицируемых как однолетние, многолетние и двулетние естественные растения или небольшие кустарники.

Отбор проб проводился в чистой зоне, вдали от воздействия загрязнений и после исчезновения утренней росы. Эта территория расположена на территории Самухского района. Его географические координаты: 40°50' северной широты и 46°30' западной широты, высота 79 м. Сбор проб проводился в ноябре, когда *A. Campestris* достиг стадии цветения. Используемые части растений – листья и цветы. Прежде чем перейти к биохимическому анализу, растение должно пройти два этапа, а именно сушку и хранение. Растение высушили в сушильном шкафу при температуре 120°C в течение двух дней. Затем его измельчали в очень мелкий порошок для скрининговых тестов и экстракции эфирных масел. При фитохимическом скрининге, приготовление 5% настоянного 5 г растительного порошка смешивали со 100 мл горячей дистиллированной воды. Смесь фильтровали через 15-20 минут и затем доводили до 100 мл дистиллированной воды. Также были проведены различные тесты для идентификации вторичных метаболитов: общие дубильные вещества, флавоноиды, кумарины, хиноны и свободные сапонозиды. Эфирные масла экстрагировали методом паровой дистилляции.

Химические анализы показали, что полынь содержит преимущественно флавоноиды, дубильные вещества и свободные сапонины. Выяснилось, что *A. Campestris* содержит множество фитохимических соединений, а именно лактоны, терпеноиды, эфирные масла, органические кислоты, смолы, дубильные вещества и фенолы. Он также содержит флавоноидные гликозиды, такие как изорамнетин-3-О-рамнозный глюкозид, изокверцитрин, кверцитин-3-О-D-глюкозид, кверцетин-3-О-рамноглюкозид и изорамнетин-3-О-глюкозид, а также фенольные кислоты, которые способствуют механизму удаления свободных радикалов. Кроме того, метанольный экстракт полыни содержит изофлавоновые гликозиды, которые характеризуются как изофлавонилглюкозилловый диэфир полыни и бис-изофлавонилдирхамнозид. Определение эфирного масла выявило наличие  $\alpha$ - и  $\beta$ -пинена,  $\beta$ -цимена и лимонена, которые известны как биоцидные соединения.

Результаты подчеркнули потенциальную возможность использования эфирного масла полыни в качестве консерванта, который очень перспективен для пищевой промышленности, из-за его способности предотвращать окисление пищевых продуктов.

## ИЗУЧЕНИЕ ЭФИРНОГО МАСЛА РОМАШКИ ОБЫКНОВЕННОЙ (*CHAMOMILLA RECUTIT L.*)

А.Б. Гасанова, К.Т. Алиева, Р.А. Мамедова

Институт биоресурсов, Республика Азербайджан, AZ 2000, Гянджа, Г.Алиева 419  
e-mail: ayshe\_hesenova@rambler.ru

**Ключевые слова:** ромашка, эфирное масло, спирт этиловый, экстракция, биологически активное вещество

В мировой флоре насчитывается около 70 видов ромашки. Самые известные виды ромашки - обыкновенная или аптечная (*Matricaria chamomilla L.*), душистая (*Chamomilla suaveolens L.*), ложные и дикие ромашки (*Tripleurospermum perforatum L.*). В Азербайджане распространены в основном 2 вида ромашки: обыкновенная и душистая. Ромашка естественным образом широко распространена в Западном регионе Азербайджана.

В целях изготовления лечебно-косметологических препаратов в качестве сырья были использованы растения, одним из которых является ромашка обыкновенная (*Chamomilla recutita L.*). Первичное сырье было собрано в первую неделю мая из природных биоценозов Газахского района Западного региона. Перед экспериментами сырье измельчали до 2-3 мм в лабораторной мельнице. Эфирное масло из цветков ромашки обыкновенной получали методом экстракции этиловым спиртом при температуре 45-50°C в течение 6-7 часов в аппарате Сокслета.

Максимальное количество эфирного масла, полученного методом экстракции, установлено на уровне 1.24 %. При выборе 200.48 г. и 200.74 г. растения, как оптимальный вариант, среднее количество эфирного масла составило  $1.1 \pm 1.24$  %, по влажному сырью.

Подлинность эфирных масел определяли органолептическими и физико-химическими методами: зеленое прозрачное вещество со специфическим запахом и вкусом; плотность - 0.9769-0.8842 г/см<sup>3</sup>; показатель преломления - 1.3358-1.2356 (постоянен для всех масел); эфирное число - 51.14; кислотное число - 1.43. По значению показателя преломления можно отметить, что определенные компоненты масла являются предпочтительными. Наибольшее преломление характерно для масел с высоким содержанием алифатических терпенов с тремя двойными связями, а наименьшее - для трициклических терпенов.

Эфирное масло ромашки обыкновенной, полученное методом экстракции, обладает более высоким терапевтическим эффектом, и не содержит синтетических веществ. Содержание бисаболола и хамазулена определяет фармакологическое действие экстрактов ромашки обыкновенной в качестве противовоспалительного и бактерицидного средства. Ценность полученных экстрактов определяется тем, что масляная часть вместе с ароматическими компонентами представляет собой биологически активный комплекс, пригодный для использования в косметических продуктах (мази, лосьоны, средства для очищения кожи, мыло).

## ЖИРНО-КИСЛОТНЫЙ СОСТАВ МАСЛА СЕМЯН VITIS VINIFERA SUBSP. SYLVESTRIS GMEL.

Э.К. Гусиев

*Дагестанский государственный аграрный университет имени М.М. Джамбулатова,  
Махачкала, Россия  
e-mail: emin9415@gmail.com*

### **Ключевые слова: дикорастущий виноград, масло, метиловые эфиры**

Известно, что одним из важных источников моно- и полиненасыщенных жирных могут являться продукты растительного происхождения, в частности масла, выделенные из семян дикорастущих и культурных растений. Виноград является одним из самых известных плодовых культур, широко применяемых в пищевой, фармацевтической и косметической промышленности. Виноград является богатым источником вторичных метаболитов, особенно флавоноидов (флаван-3-олов, флавонолов), фенольных кислот, антоцианов, жирных кислот, аминокислот и витаминов. Богатый химический состав растения обуславливает его применение в фармацевтической промышленности в качестве источника сырья с антиоксидантной, кардиопротекторной, гепатопротекторной, противораковой, антибактериальной и противовирусной активностью.

Целью настоящей работы явилось исследование жирнокислотного состава образца масла семян дикорастущего винограда, произрастающего на территории Азербайджанской Республики.

Растительный материал собран в июле 2023 года в селе Хужбала Губинского района (41°25'05" с.ш. 48°27'56" в.д.) Азербайджанской Республики. Семена, высушенные при 105°C измельчались до размера частиц 3–5 мм. Затем измельченные семена экстрагировали н-гексаном при 60°C в аппарате Сокслета в течение 10 ч. Метиловые эфиры жирных кислот (МЭЖК) получали путем метилирования общих липидов (Хартманом и Лаго (1973)). Исследования проводили на газожидкостном хроматографе «НР» серии 6890 с пламенно-ионизационным детектором. Разделение метиловых эфиров проводилось на 100-метровой капиллярной колонке «Agilent 112-88A7». В результате хроматографического анализа в составе жирного масла семян винограда было установлено 11 высших жирных кислот. Было установлено, что в составе масла семян преобладают полиненасыщенные жирные кислоты (84.9%). Преобладающими насыщенными жирными кислотами были пальмитиновая (10.7%) и стеариновая кислоты (3.6%). Среди моноеновых жирных олеиновая (20%), а среди полиеновых жирных кислот линолевая кислота (62.3%). Наименьшее количество приходится на долю гептадекановой и гадолеиновой кислот – по 0,2%.

Полученные данные показывают, что дикорастущий виноград является ценным источником незаменимых жирных кислот и может служить сырьем для получения лекарственных средств в медицине и биологически активной добавка в производстве пищевых и косметических продуктов.

## АКТИВНОСТЬ КАТАЛАЗЫ У ИМАГО *MUSCA DOMESTICA* L. ПРИРОДНОЙ ПОПУЛЯЦИИ

К.Ю. Маслакова, Л.Я. Янгирова

Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной энтомологии и арахнологии – филиал ТюмНЦ СО РАН, Россия, 625041, Тюмень, Институтская 2  
e-mail: k.y.maslakova@gmail.com

**Ключевые слова:** комнатная муха, антиоксидантная система, окислительный стресс, инсектициды

Каталаза (ЕС 1.11.1.6) – это антиоксидантный фермент, основной функцией которого является разложение токсичного пероксида водорода до молекулярного кислорода и воды (Karakus, 2020). Насекомые развили сложную и эффективную сеть ферментативных антиоксидантных систем (Barbehenn, 2002). Исследования экспрессии и активности антиоксидантных ферментов у насекомых позволяют предположить, что окислительно-восстановительное состояние клеток регулирует многочисленные физиологические процессы и может нарушать рост и развитие, выживаемость, плодовитость, фертильность, а также продолжительность жизни взрослых особей (Sahoo et. al., 2015). Целью настоящей работы стало изучение активности каталазы у имаго *Musca domestica* L. природной популяции.

Исследование проведено на лабораторной и природной популяции *M. domestica*. Активность каталазы определяли в гомогенатах имаго (в возрасте 4-6 суток) комнатной мухи без разделения по полу. За основу определения активности фермента был взят метод Королюка М.А. (Королюк и др., 1988) с небольшими модификациями. Удельную активность каталазы выражали в ед/мг белка. Статистическая обработка результатов включала вычисление среднего значения и стандартного отклонения. Статистическую значимость различий оценивали по t-критерию Стьюдента. Различия считали статистически достоверными при  $p < 0.05$ .

Обнаружено, что активность каталазы у имаго природной популяции ( $0,0719 \pm 0,0063$  ед/мг белка) статистически выше по сравнению с особями лабораторной линии ( $0,0644 \pm 0,0077$  ед/мг белка) в 1,12 раза. Естественная природная среда в отличие от искусственной лабораторной является нестабильной. Такие факторы, как колебания условий внешней среды, доступность пищи, различные заболевания, инсектицидное воздействие – являются стрессовыми для насекомых. Любое изменение гомеостаза приводит к окислительному стрессу – дисбалансу между производством свободных радикалов и их нейтрализацией. В свою очередь, это приводит к активации антиоксидантной системы, что выражается в увеличении активности соответствующих ферментов.

Изучение антиоксидантной системы насекомых может быть очень полезным при решении проблемы устойчивости к инсектицидам. Дальнейшие наши исследования будут сосредоточены на изучении других ферментов антиоксидантной системы и исследовании активности каталазы на разных стадиях жизненного цикла *M. domestica*. Это позволит наиболее полно охарактеризовать работу антиоксидантной защиты *M. domestica*, что в дальнейшем может оказаться перспективной мишенью при разработке методов регуляции численности как комнатной мухи, так и насекомых в целом.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (Проект №122122800052-9 Изучение молекулярной биологии, биохимии и генетики инсектицидной резистентности).

## ГИДРОКСИПРОИЗВОДНЫЕ КОРИЧНОЙ КИСЛОТЫ ИНГИБИРУЮТ ОКСИДАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ МИЕЛОПЕРОКСИДАЗЫ

Е.А. Мельникова<sup>1</sup>, К.А. Лукьянова<sup>1</sup>, Н.В. Амаэбери<sup>1</sup>, Г.Н. Семенкова<sup>2</sup>

1 - *Белорусский государственный университет, Беларусь, 220030, Минск, пр-т Независимости 4*

2 - *Белорусская медицинская академия последипломного образования, Беларусь, 220013, Минск, ул. Бровки 3  
e-mail: katerinamelnikova999@gmail.com*

**Ключевые слова:** гидроксипроизводные коричной кислоты, миелопероксидаза, оксидазная активность

Миелопероксидаза (МПО) – гемсодержащий фермент, локализованный преимущественно в нейтрофилах. Эти клетки первыми мигрируют в очаг воспаления и генерируют активные формы кислорода и хлора (АФКХ), уничтожая патогены. Важную роль в развитии иммунного ответа играет МПО. Этот фермент катализирует образование сильного окислителя и источника свободных радикалов - НОСl. Повышенное образование АФКХ вызывает повреждение нуклеиновых кислот, белков, липидов и приводит к развитию ряда патологических состояний. С целью снижения гиперпродукции АФКХ актуальным является поиск нетоксичных и эффективных ингибиторов МПО, в том числе и среди природных соединений. Особый интерес представляют природные фенольные соединения, ввиду широкого спектра биологической активности этих веществ. Ранее нами показано, что коричная, кофейная, феруловая и синаповая кислоты регулируют образование АФКХ активированными нейтрофилами, причём в генерацию этих активных интермедиатов при действии исследуемых соединений вовлечена МПО. Мы предположили, что коричная кислота и её гидроксипроизводные могут оказывать ингибирующее действие на МПО.

Нейтрофилы выделяли из крови здоровых людей в градиенте плотности гистопак-1077 по стандартной методике. Лизат, содержащий МПО, получали из суспензии нейтрофилов путём трёхкратного замораживания/размораживания клеточной суспензии с последующим центрифугированием. Peroксидазную активность МПО оценивали спектрофотометрическим методом ( $\lambda = 450$  нм) по скорости окисления 3,3',5,5'-тетраметилбензидаина пероксидом водорода в присутствии МПО в 3,3',5,5'-тетраметилбензидиндиимин.

Установлено, что коричная кислота в диапазоне концентраций 0,1–100 мкмоль/л не оказывает влияния на пероксидазную активность МПО. Кофейная кислота в концентрации 0,1 мкмоль/л незначительно (12 %) снижает активность этого фермента. Инкубирование лизата, содержащего МПО с 1 и 10 мкмоль/л кофейной кислоты приводит к уменьшению активности этого фермента на 32,6 и 95 % соответственно. Феруловая кислота в диапазоне концентраций 0,1–10 мкмоль/л подавляет активность МПО на 79, 45,8 и 10,5 % соответственно. В случае синаповой кислоты, ингибирующее действие зарегистрировано для концентраций 1 и 10 мкмоль/л и составляет 39,4 и 99,3 %.

Таким образом, в отличие от коричной кислоты, кофейная, феруловая и синаповая кислоты ингибируют пероксидазную активность МПО, причём наиболее эффективным воздействием обладает синаповая кислота.

*Работа выполнена при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований, грант М22М-071.*

## СРАВНЕНИЕ СТРУКТУР ЛЕД-СВЯЗЫВАЮЩИХ БЕЛКОВ ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ СО ЛЬДОМ

Г.А. Олейник<sup>1</sup>, М. А. Мажорина<sup>2</sup>, А.А. Чернонос<sup>1</sup>, Т.Н. Мельник<sup>2</sup>, Б.С. Мельник<sup>2</sup>, В.В. Коваль<sup>1,3</sup>, С.В. Баранова<sup>1</sup>

1 - Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Россия, 630090, Новосибирск, пр-т академика Лаврентьева 8

2 - Институт белка РАН, Россия, Московская область, 142290, Пушкино ул. Институтская 4

3 - Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Россия, 630090, Новосибирск, ул. Пирогова 1  
e-mail: oleinik@niboch.nsc.ru

**Ключевые слова:** лед-связывающие белки (ЛВБ), белки антифризы, круговой дихроизм, вторичная структура белка

Ареалы обитания живых организмов на нашей планете могут разительно отличаться. Даже в условиях, где, казалось бы, существование жизни невозможно, встречаются представители животного и растительного мира. Околонулевая температура является одним из неблагоприятных факторов для существования жизни, поскольку при этом возможно образование кристаллов льда, повреждающих клетки. Живые существа смогли приспособиться к жизни в данных условиях благодаря лед-связывающим белкам. ЛВБ – это группа белков, которые обладают способностью связываться со льдом, и с помощью различных механизмов воздействия препятствуют его росту.

Свойства этих белков могут найти применение во многих сферах жизнедеятельности человека: от простых повседневных задач до более сложных. Например, ЛВБ можно использовать в качестве криопротекторов при транспортировке органов.

Лед-связывающие белки найдены в различных видах живых организмов: рыбах, членистоногих, растениях, водорослях, грибах, дрожжах, бактериях и эти белки имеют различное строение. В данной работе была изучена структура двух рекомбинантных белков: из рыбы *Muhocephalus octodecemspinus* (ISP LS-12) и из жука *Rhagium inquisitor* (RiAFP).

Вторичная структура белка ISP LS-12 была охарактеризована методами кругового дихроизма и масс-спектрометрии. Установлено, что белок имеет  $\alpha$ -спиральную вторичную структуру, а его масса составляет 17,5 кДа. Методом масс-спектрометрии также был рассмотрен белок RiAFP, и с помощью кругового дихроизма проанализирована его вторичная структура. Белок RiAFP, по полученным данным, имеет  $\beta$ -складчатую структуру и массу 12,5 кДа. Aaron Nakim et al. показали, что RiAFP связывается со льдом остатками треонина, тогда как нами установлено, что ISP LS-12 взаимодействует с поверхностью льда не только за счет треонина, но также за счет аминокислотных остатков аспарагина и аспарагиновой кислоты, глутамина и глутаминовой кислоты.

В результате данной работы установлена вторичная структура двух лед-связывающих белков – ISP LS-12 и RiAFP. Первый имеет  $\alpha$ -спиральную, а второй –  $\beta$ -складчатую структуру. Несмотря на различие во вторичной структуре белков показано, что одним из основных аминокислотных остатков, взаимодействующих со льдом является треонин.

Работа выполнена при поддержке проекта базового бюджетного финансирования ИХБФМ СО РАН № 0245-2021-0002 и гранта Минобрнауки России № 075-15-2022-263.

3

SECTION / БӨЛІМ / СЕКЦИЯ

IMMUNOLOGY / ИММУНОЛОГИЯ / ИММУНОЛОГИЯ

# TRAINED IMMUNITY OF HUMAN PERIPHERAL MONOCYTES AND NEUTROPHILS IS INDUCED BY COVID-19 ADENOVIRAL VECTOR VACCINE AND MILD/MODERATE INFECTION

Y.O. Ostapchuk, S.A. Kan, A.V. Lushova, N. Abdolla, A. Kali, R. Tleulieva,  
Y.V. Perfilyeva

*M. Aitkhozhin Institute of Molecular Biology and Biochemistry, Kazakhstan, 050012,  
Almaty, 86 Dosmukhamedov str.  
e-mail: katyostapchuk@gmail.com*

**Keywords: trained immunity, monocytes, neutrophils, COVID-19, SARS-CoV-2**

Recent studies have increasingly shown that microbial stimuli can induce long-lasting phenotypical and functional alterations in innate immune cells so-called 'trained immunity' that may confer increased protection against further homologous or heterologous challenges that could not be solely attributed to the adaptive immunity. Therefore, we sought to determine whether the COVID-19 infection and Gam-COVID-Vac or Sputnik V (Gamaleya Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Russia), which uses an adenoviral vector for COVID-19, could induce trained immunity in humans.

Peripheral blood samples were obtained from 13 healthy donors (Control group) without history of vaccination or COVID-19 infection; ten volunteers, who received two-doses of Gam-COVID-Vac vaccine during last six months (Vac group); 11 volunteers, who had mild or moderate COVID-19 infection during last six months (COVID group). Neutrophils were obtained by elimination of PBMCs using density gradient centrifugation, followed by erythrocyte lysis with NH<sub>4</sub>Cl solution. Monocytes were purified from PBMCs by plastic adherence. Neutrophils and monocytes were cultivated overnight without any stimulation or in presence of recombinant virus antigens: SARS-CoV-2 Spike Protein S1 (S-Ag) or SARS-CoV-2 Nucleocapsid (N-Ag). Cell phenotype was determined by flow cytometry and production of cytokines was analyzed by ELISA.

Expression of HLA-DR, CD11b, CD63 and TLR7 was enhanced on CD14<sup>+</sup> monocytes in the Vac and COVID groups, compared with Control group. We also observed an increase of CD182- and a decrease of CD49-expressing CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup> classical monocytes in the Vac and COVID groups. Moreover, resting monocytes had increased production of IL-6, IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  in the Vac and COVID groups comparing to Control group. In the Vac and COVID groups we observed an increase of CD11b<sup>+</sup>CD66b<sup>+</sup> and CD182<sup>+</sup> cells, compared with Control group. Furthermore, in the COVID group we detected increased percentage of TLR7<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> and CD49<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> neutrophils, compared with Control group. Upon stimulation *ex vivo* with S-Ag or N-Ag, in the Control group monocytes expressed increased levels of HLA-DR and TLR7, while in the experimental groups monocytes did not respond to the related antigens. We did not find any changes in the neutrophils phenotype in all the studied groups after stimulation with S-Ag or N-Ag.

These data provide evidence for the prolonged induction of trained immunity following a two-dose of the Gam-COVID-Vac vaccine and mild or moderate COVID-19 infection.

This work was funded by the by the Science Committee of Ministry of education and science of the Republic of Kazakhstan under Grant #AP09259390 "Study of the effect of SARS-CoV-2 coronavirus antigens on the pro-inflammatory activity of neutrophils, monocytes and T-regulatory cells".

## STUDY OF IMMUNOLOGICAL PROPERTIES OF THE DRUG SUBSTANCE OF COMPLEX IODINE COMPOUND ON PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEARS

A.A. Serikbay, A.D. Zhundibaeva, A.O. Abekova, S.G. Murzageldinova

Scientific Centre for Anti-Infectious Drugs, Kazakhstan, 050060, Almaty, Al-Farabi ave 75B  
e-mail: arai\_00.0@mail.ru

### **Key words: drug substance IF, cytokine profile**

The primary response of the innate immune system to pathogens is the secretion of cytokines. A variety of cytokines produced by cells of the immune system regulate the growth, differentiation, and function of other cells in the body. These cytokines act as signals between cells and in the body's regulatory integration system, ensuring high-quality regulatory relationships.

One promising candidate is the iodine complex compound (KC), which has shown interferon-inducing properties. The investigated substance KC has a patent for invention No. 36253, RSE "NIIS" dated 06.09.2023.

The purpose of this study is to study the immunopathological, immunotoxic and immunomodelling effects of the drug substance IF on the population of human peripheral blood mononuclear cells (PBMCs). The work used methods for isolating a fraction of peripheral blood mononuclear cells using centrifugation on an isopaque density gradient, enzyme-linked immunosorbent assays for the production of cytokines (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-10, IL-8, IL-2, IL-12p70, IL-4, IFN- $\alpha$  and IFN- $\gamma$ ), and statistical analysis of the obtained data.

As a result of the studies, it was established that the level of production of IL-1 $\beta$  with significance ( $P < 0.0001$ ) and TNF- $\alpha$  ( $P < 0.0001$ ) was significantly higher when exposed to IF at a concentration of 200 ng/ml compared to the control. Spontaneous production of IL-6 ( $P = 0.01$ ) was observed only at a concentration of 0.2  $\mu\text{g/ml}$ . IF had no significant effect on the production of IL-10, IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-4, IFN- $\alpha$ , IL-8. The level of spontaneous and induced production of IL-12p70 when exposed to CS at a concentration of 20  $\mu\text{g/ml}$  was significantly higher ( $P < 0.0001$ ) in comparison with the control and in comparison with CS concentrations of 0, 2 and 2  $\mu\text{g/ml}$  ( $P = 0.0002$  and  $P < 0.0001$ , respectively).

Thus, the medicinal substance CS at concentrations from 2 to 200  $\mu\text{g/ml}$  has no immunopathological and immunotoxic effects, and a concentration of 0.2  $\mu\text{g/ml}$  stimulates the synthesis and secretion of IL-12p70 and IFN- $\gamma$ , which in turn increase the functional activity of the components immune system, enhances the functions of T-lymphocytes and macrophages, which promotes the development of cellular immunity *in vitro*.

## DENDRITIC CELL DIFFERENTIATION AND IODINE COORDINATION COMPOUND TOXICITY

A.D. Zhundibayeva, A.O. Abekova, A.A. Serikbay

Scientific Centre for Anti-Infectious Drugs, Kazakhstan, 050060, Almaty, Al-Farabi ave 75B  
e-mail: akzhan.zhundi@gmail.com

**Keywords:** dendritic cells, iodine coordination compound, IC50

Coordination compound (CC) of iodine - patent for invention No. 36253, RSE "NIIP" dated 09.06.2023 - refers to compounds in which iodine is a complexing agent and polypeptides and carbohydrates are ligands. Investigation of the effect of CC on the functional activity of antigen-presenting cells *in vitro* was planned as part of a preclinical study, and human dendritic cells (DCs) were chosen as an experimental model. DCs are professional APCs that induce the differentiation of naive T cells through the expression of processed antigen and co-stimulatory molecules, as well as through cytokine secretion.

To construct the experimental design, we optimized the method of differentiation of immature DCs from human peripheral blood monocytes *in vitro*, and determined the cytotoxic and effective concentrations. MNCs from whole peripheral blood were isolated using polyglucin and histopaque, monocytes were isolated using the method of adhesion on plastic. MNCs were dispersed into adhesion-enhanced plates at a concentration of  $5 \times 10^5$  cells/well, and then incubated for 3 h for monocyte attachment. After incubation, the medium containing non-adherent cells was removed from the plates and washed with medium. Adhered monocytes were cultured with recombinant human GM-CSF and IFN- $\alpha$  at a final concentration of 40 ng/mL and 1000 U/mL, respectively, for 3 days (to obtain immature IFN- $\alpha$ -DC), and with GM-CSF and IL-4 at a final concentration of 40 ng/mL for 5 days (to obtain immature IL-4-DC). To confirm the immature phenotype, the obtained DCs were phenotyped using CD54, CD274, CD80, CD86, CD273 markers on a flow cytometer. Cytotoxicity was assessed by survival of DCs after incubation for 48 hrs in the presence of CC (0.009-5 mg/mL) using the MTT assay.

DCs were efficiently produced *in vitro* from monocytes when GM-CSF in combination with IFN- $\alpha$  in (IFN- $\alpha$ -DC) or in combination with IL-4 (IL-4-DC) was added to the medium at the concentrations indicated above. IFN- $\alpha$ -DC and IL-4-DC differ in generation time, phenotype, and produced cytokines. On microscopy, immature DCs were recorded as large cells of rounded or oval shape, almost without outgrowths, single or forming few colonies adherent to the surface. Thus, when monocytes were cultured in the presence of GM-CSF and IFN- $\alpha$  for 3 days or in the presence of GM-CSF and IL-4 for 5 days, the cells acquired typical morphological features characteristic of immature DCs. The obtained DCs were characterized by low expression of surface molecules B7-1, B7-2, PD-L2, PD-L1 and ICAM-1, which confirmed their immature phenotype.

The IC50 value of CC was found to be 1.68 mg/mL, and the maximum nontoxic concentration for DC was 0.42 mg/mL.

Based on the results, the application of this differentiation protocol and the use of concentrations of 1/1000; 1/100 and 1/10 of the maximum nontoxic concentration were recommended in following studies on the effect of CC on DCs.

## COVID-19 ҚАРСЫ ADV5/ADV26 GAM-COVID-VAC ВАКЦИНАСЫНЫҢ ЭНДОТЕЛИЙ ФУНКЦИЯСЫНЫҢ, КОАГУЛЯЦИЯНЫҢ ЖӘНЕ ТРОМБОЦИТТЕРДІ БЕЛСЕНДІРУДІҢ БИОМАРКЕРЛЕРІНЕ ӘСЕРІ

Л.Н. Әбсағит, И.А. Кадырова

*Қарағанды медицина университетінің ғылыми-зерттеу орталығы,  
Қазақстан, 100012, Қарағанды, Гоголь к. 40  
e-mail: absaghit@qmu.kz*

**Кілт сөздер:** COVID-19, Gam-COVID-Vac, аденовирустық вакцина, эндотелин-1

Аурудың ауыр өтуі мен өлімнің алдын алу үшін COVID-19-ға қарсы аденовирустық вакциналарды қолдану барысында сирек, бірақ өмірге қауіп төндіретін тромбоцитопениямен және тромбоцитопениясыз өтетін веноздық әрі артериялық тромбоздар кездесті. Жақында аденовирустық Gam-COVID-Vac вакцинасын енгізгеннен кейін вакцинадан туындаған иммунотромбоцитопения мен тромбоздан (ВТИТТ) адамның қайтыс болған жағдайы туралы хабарланды.

Gam-COVID-Vac вакцинасы – бұл 21 күндік аралықпен екі дозада енгізілетін rAd26 негізгі және rAd5 қосымша векторлардан тұратын рекомбинантты аденовирустық (rAd) векторлық вакцина. 2021 жылдың ақпан-қыркүйек айлары аралығында Қазақстанда COVID-19-ға қарсы вакцинациялау кезінде Gam-COVID-Vac вакцинасы кеңінен пайдаланылды.

Иммундаудан кейін тіркелген қан ұюының белсендіру мен эндотелиальды функциядағы өзгерістерді, вакцинация стратегияларын жетілдіру және олардың бүкіл әлем бойынша қауіпсіздігі мен тиімділігін арттыру үшін вакцинация мерзімдерін және SARS-CoV-2-нің алдын ала табиғи әсерін ескере отырып, Gam-COVID-Vac сияқты аз зерттелген вакциналардың контекстінде одан әрі зерттеу өте маңызды.

Біз эндотелиальды функция (эндотелин, ET-1), қанның ұюы (тромбомодулин, TNBD және плазминоген активаторының ингибиторы, PAI), сонымен қатар тромбоциттерді белсендіру (тромбоциттерді белсендіру факторы, PAF және тромбоциттер факторы 4 IgG антиденесі, PF4 IgG) биомаркерлерінің COVID-19-ға қарсы Adv5/Adv26 векторлы Gam-COVID-Vac-тың бірінші (негізгі) әрі екінші (қосымша) дозаларынан кейінгі өзгерістерін үш аптадан кейін бағаладық. Вакцинацияланған адамдардан жиналған қан плазмасы (N=58) ИФТ әдістерімен талданды. Қатысушылардың SARS-CoV-2-ге тән серологиялық зерттеудің бастапқы нәтижелеріне сүйене отырып, COVID-19-дың алдыңғы әсерлері бойынша стратификацияланды.

Біз негізгі дозаны қабылдағаннан кейін айналымдағы ET-1 мөлшері айтарлықтай жоғарлағанын байқадық, ал бастапқы деңгеймен салыстырғанда қосымша дозаны енгізгеннен кейін өзгеріс болмады. Екінші дозаны енгізгеннен кейін ET-1 деңгейінің жоғарылауы, бұрын COVID-19 әсеріне ұшырамай вакцинацияланған адамдарда ең айқын болды. Бұрын COVID-19 тіркелгендерде бірінші дозаны енгізгеннен кейін PAI мөлшерінің шамалы жоғарлауы байқалды.

Иммундау әсері вакцинаның екінші дозасынан кейін 21-ші күнге дейін ET-1 деңгейінің жоғарылауымен байланысты болды, ал басқа биомаркерлерде, соның ішінде PF4 IgG-де айтарлықтай өзгерістер байқалмады. COVID-19 вакцинациясынан кейін эндотелийді тұрақты белсендірудің рөлі қосымша зерттеуді қажет етеді.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗМОЖНОЙ АССОЦИИАЦИИ МЕЖДУ УРОВНЕМ MDSC И АНТИГЕН-СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИЕЙ IFN- $\gamma$ CD4<sup>+</sup> Т-КЛЕТКАМИ

Ю.Р. Абдусаттарова<sup>1</sup>, Ю.В. Перфильева<sup>1,2</sup>, А. Кали<sup>1</sup>, Р.Т. Тлеулиева<sup>1</sup>, Д.С. Эбен<sup>1</sup>, А.В. Лушова<sup>1,2</sup>, Н. Абдолла<sup>1,2</sup>

1 - *Институт молекулярной биологии и биохимии им. М.А. Айтхожина, Казахстан, 050012, Алматы, Досмухамедова 86*

2 - *Филиал ТОО «Национальный центр биотехнологии», Казахстан, 050054, Алматы, Жакангер 14д  
e-mail: yulduz2000a@gmail.com*

**Ключевые слова:** MDSC, IFN- $\gamma$ , антиген-специфичность, иммунизация, старение

Миелоидные супрессорные клетки (MDSC) представляют собой группу незрелых миелоидных клеток, способных подавлять функции клеток врожденного и адаптивного иммунитета посредством ряда механизмов. Согласно некоторым исследованиям, экспансия MDSC может ингибировать пролиферацию CD4<sup>+</sup> Т-клеток и продукцию ими провоспалительного цитокина IFN- $\gamma$ . Целью данной работы является исследование возможной связи между уровнем MDSC и антиген-специфической продукцией IFN $\gamma$  CD4<sup>+</sup> Т-клетками.

В эксперименте были использованы старые и молодые мыши инбредной линии BALB/c, для иммунизации которых был выбран инактивированный цельновирионный вирус SARS-CoV-2. Иммунизация проводилась двукратно внутримышечно; бустерную дозу вводили через 21 день. Фенотип клеток оценивали путем определения CD-маркеров с помощью проточной цитофлуориметрии. Для поверхностного окрашивания использовали следующие антитела, меченные флуорохромами: FITC anti-CD11b, APC anti-CD4, PerCP-Cy5.5 anti-Ly6G, PE anti-Ly6C. Антитела PE anti-IFN- $\gamma$  и FITC anti-IFN- $\gamma$  использовали для внутриклеточного окрашивания. Для блокировки неспецифического связывания антител, перед окрашиванием использовался реагент для блокирования Fc-рецептора мыши. Чтобы оценить супрессорное действие MDSC в отношении Т-клеточного антиген-специфического ответа был проведен тест, состоящий из двух подходов: исследование культуры спленоцитов при добавлении MDSC, выделенных магнитной сепарацией из спленоцитов старых мышей, и после деплеции MDSC из культуры.

Результаты эксперимента показали достоверное повышение доли PMN-MDSC у старых мышей по сравнению с молодыми мышами (25.1 $\pm$ 5.8 % у молодых мышей и 42.2 $\pm$ 10.5 % у старых мышей,  $p \leq 0.05$ ). Антиген-специфический Т-клеточный ответ у старых и молодых вакцинированных мышей по продукции IFN- $\gamma$  CD4-клетками после добавления в культуру цельновирионного SARS-CoV-2 in vitro, показал, что продукция IFN- $\gamma$  была заметно снижена у старых иммунизированных мышей по сравнению с молодыми мышами (1,1 % у старых мышей, и 18,6 % у молодых мышей). При добавлении MDSC к культуре клеток спленоцитов в соотношении супрессор: мишень равном 1:5, MDSC были способны значительно ингибировать антиген-специфическую продукцию IFN- $\gamma$  CD4<sup>+</sup> Т-клетками (1,2 %) в ответ на SARS-CoV2 in vitro. В свою очередь, удаление MDSC в некоторой степени повышало продукцию IFN- $\gamma$  данными клетками (4,4 %).

Таким образом, повышение количества MDSC у старых иммунизированных животных, по сравнению с молодыми, и способность данных клеток подавлять продукцию IFN- $\gamma$  продемонстрировало, что подбор препаратов, направленных на улучшение эффективности вакцинации, путем ингибирования активности MDSC на момент проведения вакцинации, очень перспективен и будет способствовать улучшению иммунного статуса вакцинируемого.

## ОЦЕНКА АНТИГЕН-СПЕЦИФИЧЕСКОГО ОТВЕТА В- И Т-КЛЕТОК У РАЗНОВОЗРАСТНЫХ МЫШЕЙ ПРИ ИММУНИЗАЦИИ ПРОТИВ COVID-19

**Д.С. Эбен, Ю.В. Перфильева, Н. Абдолла, А. Кали, Р.Т. Тлеулиева, А.В. Лушова,  
Ю. Р. Абдусаттарова**

*Институт молекулярной биологии и биохимии им М.А. Айтхожина,  
Казахстан, 050012, Алматы, Досмухамедова 86  
e-mail: a.diana.04.02.00@gmail.com*

**Ключевые слова:** иммунный ответ, В-клетки, Т-клетки, SARS-CoV-2, COVID-19

Адаптивная иммунная система состоит из трех основных типов лимфоцитов: В-клеток (клеток, продуцирующих антитела), CD4<sup>+</sup> Т-клеток (вспомогательных Т-клеток) и CD8<sup>+</sup> Т-клеток (цитотоксических или киллерных Т-клеток). Изучение иммунного ответа В- и Т-клеток у разных возрастных групп мышей может помочь понять, почему возраст становится фактором риска развития COVID-19 или его осложнений. Целью работы является сравнение иммунного ответа старых и молодых мышей при иммунизации против COVID-19.

Для оценки содержания антител против антигенов N и S вируса SARS-CoV-2 у иммунизированных мышей была разработана рабочая тест-система на основе твердофазного иммуноферментного анализа. В качестве модели были выбраны молодые (2-3 месяца) и старые (от 1 года и старше) мыши инбредной линии BALB/c, которые были иммунизированы инактивированным цельновирионным SARS-CoV-2 (штамм 2019-n-CoV/USA-WA1/2020; ATCC, США). Иммунизацию проводили двукратно внутримышечно; бустерную дозу вводили через 21 день. Фенотип клеток оценивали путем определения CD-маркеров с помощью проточной цитофлуориметрии. Для анализа продукции IFN- $\gamma$  CD4<sup>+</sup> Т-клетками проводилось внутриклеточное окрашивание с последующим цитофлуориметрическим анализом. Для оценки продукции В-клеток исследовали долю B220<sup>+</sup>MHCII<sup>+</sup> клеток.

Цитофлуориметрический анализ показал, что до иммунизации у молодых мышей доля В-клеток составила 36,5%  $\pm$  2,1%, у старых мышей она составила 37,8%  $\pm$  1,9%. Эти результаты говорят о схожей базовой активности В-клеток в обеих возрастных группах. После иммунизации было отмечено увеличение доли В-клеток как у молодых, так и у старых мышей. У молодых иммунизированных мышей доля В-клеток составила 47,8%  $\pm$  2,5%, а у старых иммунизированных мышей - 42,5%  $\pm$  2,3%. Однако было показано, что у молодых иммунизированных мышей наблюдалась высокая антиген-специфическая продукция IFN- $\gamma$  CD4<sup>+</sup> клетками по сравнению со старыми иммунизированными мышами. После добавления в культуру спленоцитов цельновирионного SARS-CoV-2 при оценке Т-клеточного ответа у молодых мышей была зафиксирована значительно более высокая продукция IFN- $\gamma$  CD4<sup>+</sup> клетками, составляющая 18,6%  $\pm$  4,4%, в то время как у старых мышей данная продукция была всего лишь 1,1%  $\pm$  3,4%. Полученные данные в ходе исследования гуморального иммунного ответа методом иммуноферментного анализа показали, что титры антител против антигенов N и S не отличались у молодых и старых мышей.

Таким образом, результаты говорят о существенном влиянии возраста на Т-клеточный иммунный ответ при вакцинации от COVID-19, при этом В-клеточный иммунный ответ не зависел от возраста.

## ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ АНТИГЕНОВ КОРОНАВИРУСА SARS-COV-2 НА ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ МОНОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА

А.В. Лушова, С.А. Кан, Н. Абдолла, Р.Т. Тлеулиева, Е. О. Остапчук

*Институт молекулярной биологии и биохимии им М.А. Айтхожина,  
Казахстан, 050012, Алматы, Досмухамедова 86  
e-mail: anzhelika.lushova@gmail.com*

**Ключевые слова:** моноциты, иммуностарение, SARS-CoV-2, COVID-19, пост-COVID-синдром

Популяция моноцитов является важным эффекторным звеном врожденного иммунного ответа, отвечающим за распознавание патогенов, презентацию антигена В- и Т-лимфоцитам и эффероцитоз. При коронавирусной инфекции 2019 года (COVID-19) решающее значение принадлежит взаимодействиям между клетками эпителия и иммунной системы, регулируемым передачей сигналов при помощи цитокинов и прямыми межклеточными контактами. Имеющиеся на сегодняшний день данные свидетельствуют о высоком риске смертности от COVID-19 среди пожилого населения, а также о ведущей роли моноцитов и дисрегуляции иммунного ответа в развитии тяжелого течения заболевания и плохих прогнозов. Следует отметить, что, несмотря на клиренс вируса, у лиц, перенесших COVID-19 может развиваться пост-COVID-синдром (PASC), при котором наблюдаются нарушения в активации и регуляции иммунных клеток, приводящие к повышенной восприимчивости к бактериальным и вирусным патогенам и значительным повреждениям тканей в очагах воспаления. Целью нашей работы было оценить влияние антигенов коронавируса SARS-CoV-2 на провоспалительную активность моноцитов, выделенных из периферической крови молодых здоровых доноров и пожилых людей, в ответ на воздействие антигенов вируса SARS-CoV-2.

Для изучения влияния антигенов коронавируса SARS-CoV-2 использовали образцы венозной крови, полученной от добровольцев-доноров, не имеющих признаков ОРВИ или других очевидных симптомов острых инфекционных заболеваний на момент забора крови. Уровень экспрессии поверхностных молекул субпопуляциями моноцитов оценивали путем определения CD-маркеров с помощью проточной цитофлуориметрии. Для фенотипической идентификации субпопуляций моноцитов использовали маркеры CD14 и CD16.

Анализ влияния антигенов коронавируса SARS-CoV-2 показал, что доля HLA-DR<sup>+</sup>, CD11b<sup>+</sup>, CD54<sup>+</sup>, TLR7<sup>+</sup>-моноцитов, выделенных из периферической крови пожилых доноров, достоверно снижалась в ответ на стимуляцию антигенами SARS-CoV-2, в то время как в группе молодых доноров наблюдалось повышение экспрессии данных поверхностных молекул, участвующих в распознавании вируса, презентации антигенов клеткам адаптивной иммунной системы, трансэндотелиальной миграции и клиренсу вируса.

Таким образом, моноциты пожилых людей отличаются сниженным антиген-презентирующим потенциалом, способностью мигрировать в область воспаления и распознаванием вирусных антигенов, что может вносить вклад в нарушение механизмов активации компонентов адаптивной иммунной системы и отсутствие своевременного клиренса патогена, весьма вероятно, что дисфункция моноцитов может играть ключевую роль в патогенезе SARS-CoV-2 у пожилых людей, ассоциированного с повышенным риском развития тяжелых форм заболевания и летальных исходов.

## ШАПЕРОН GRP78 ОСЛАБЛЯЕТ НЕЙРОВОСПАЛЕНИЕ В МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

М.Б. Пази, И.В. Екимова

*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН,  
Россия, 194223, Санкт-Петербург, проспект Тореза 44  
e-mail: pazimariia@gmail.com*

**Ключевые слова:** болезнь Паркинсона, нейровоспаление, лактацистин, GRP78

Болезнь Паркинсона (БП) – неизлечимое нейродегенеративное заболевание, характеризующееся гибелью дофамин (ДА)ергических нейронов в компактной части черной субстанции (кЧС) и их аксонов в стриатуме. Другой патогенетический признак БП – хроническое нейровоспаление в нигростриатной системе, которое вносит вклад в развитие нейродегенерации. Актуальной задачей является поиск эффективной противовоспалительной терапии БП. Белок GRP78 ингибирует воспаление за счет (1) индукции противовоспалительных цитокинов, (2) регуляции иммунных клеток, (3) модуляции NF-κB каскада и ответа стресса эндоплазматического ретикулума. Аналог GRP78 (IRL201805) способствует восстановлению иммунного гомеостаза при терапии ревматоидного артрита. Однако противовоспалительные свойства GRP78 при развитии БП не изучались.

Цель исследования - оценить противовоспалительный эффект терапии с экзогенным белком GRP78 в модели доклинической стадии БП.

Опыты выполнены на самцах крыс Вистар (6 мес). Модель БП (n=14) создана с помощью двукратных микроинъекций ингибитора протеасом лактацистина (ЛЦ) в кЧС. Рекombинантный белок GRP78 вводили интраназально через 4 ч и 28 ч после каждой микроинъекции ЛЦ, и через 7 дней после последней микроинъекции ЛЦ (n=14). В контрольную группу вошли животные, получавшие растворители ЛЦ и/или GRP78 (n=14). Патоморфологические и нейрохимические изменения исследованы методами иммуногистохимии и иммуноблоттинга. Проникновение экзогенного GRP78 в мозг оценено с помощью конфокальной микроскопии и GRP78 с флуоресцентной меткой Alexa555\*. Статистическую обработку данных выполняли с помощью двухфакторного дисперсионного анализа ANOVA с следующим Sidak post-hoc.

Для модели доклинической стадии БП характерна гибель 30% ДА-ергических нейронов в кЧС и их аксонов в стриатуме. Нейродегенерация сопряжена с увеличением количества микроглиоцитов, повышением уровней провоспалительных цитокинов TNF-α и IL-6 в кЧС и активацией NF-κB. GRP78 проникает в паренхиму мозга и интернализуется нейронами и микроглиоцитами кЧС через 1-3 ч после его интраназального введения. GRP78 ослабляет нейродегенерацию и реактивный микроглиоз, ингибирует выработку воспалительных цитокинов и развитие NF-κB каскада.

Данные указывают, что экзогенный GRP78 оказывает нейропротективный и противовоспалительные эффекты в модели доклинической стадии БП с помощью ослабления нейровоспаления и воздействия на NF-κB.

(Финансирование: государственное задание No AAAA-A18-118012290427-7).

## ДИЗАЙН ПРАЙМЕРОВ И УСЛОВИЙ ПЦР ДЛЯ РАННЕГО ВЫЯВЛЕНИЯ РЕДКИХ МИССЕНС-МУТАЦИЙ НАСЛЕДСТВЕННОГО АНГИОТЕКА ТРЕТЬЕГО ТИПА

А.В. Седых, Ю.В. Останкова

Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера,  
Россия, 197101, Санкт-Петербург, Мира 14  
e-mail: ann\_sedykh@mail.ru

**Ключевые слова:** наследственный ангиотек, праймеры, ПЦР, ХРNPEP2

Наследственный ангиотек (НАО) – генетически-детерминированное жизнеугрожающее заболевание, характеризующееся нарушением работы иммунитета. Симптомы НАО чаще всего проявляются в детстве и сопровождаются периодическими отеками мягких тканей и подслизистых оболочек. Высокий уровень брадикинина приводит к повышению проницаемости сосудов, что в конечном итоге влияет на образование отеков. На данный момент известно три типа НАО, первые два связаны с мутациями в гене SERPING, приводящие к дефициту или дисфункции С1-ингибитора соответственно. Третий тип НАО с нормальным уровнем С1-ингибитора, связан с генетическими нарушениями в генах, кодирующих фактор XII Хагемана (F12), плазминоген (PLG), ангиопозтин (ANGPT) и другими генами, участвующими в калликреин-кининовой системе. Сложность биологических путей, приводящих к развитию НАО, предполагает существование еще не описанных мутаций и генов, потенциально связанных с патогенезом данного заболевания. Известно, что на течение НАО также могут влиять мутации в промоторе гена ХРNPEP2, который кодирует аминокептидазу, участвующую в метаболизме брадикинина.

Цель работы – дизайн и адаптация работы праймеров фрагмента гена ХРNPEP2.

Для дизайна праймеров и оптимизации условий ПЦР использовали программу VectorNT1 (Thermo Fisher Scientific, США). Экстракция геномной ДНК проводили с помощью тест-системы «Ампли-Прайм Рибо-преп» (ФБУН ЦНИИЭ). Нуклеотидные последовательности исследуемых генов определяли с помощью прямого секвенирования фрагментов с использованием генетического анализатора ABIPRISM 3500 (AppliedBiosystems, США).

На основе базы данных GenBank были сконструированы специфические праймеры к последовательности промоторной части гена ХРNPEP2. Для проведения ПЦР разработанными праймерами была установлена температура отжига равная 58°C. В результате секвенирования было выяснено, что ПЦР-продукт совпадает с референсной последовательностью со 100% точностью.

Подобраны высокоспецифичные праймеры и условия амплификации, позволяющие выявить клинически значимые полиморфизмы в промоторной части гена ХРNPEP2 для ПЦР-диагностики наследственного ангиотека.

# РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ МУЛЬТИПЛЕКСНОГО АНАЛИЗА НА ОСНОВЕ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОГО ГИДРОГЕЛЕВОГО БИОЧИПА С ОДНОВРЕМЕННЫМ ОПРЕДЕЛЕНИЕМ ИНДЕКСА АВИДНОСТИ АУТОАНТИТЕЛ К АНТИГЕНАМ ТКАНИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

**В.В. Соколова<sup>1</sup>, Н.Ф. Нуралиева<sup>2</sup>, М.П. Исаева<sup>2</sup>, Е.Н. Савватеева<sup>1</sup>**

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

*2 ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России,  
Россия, 117292, Москва, Дмитрия Ульянова 11  
e-mail: sokolovavera99@mail.ru*

**Ключевые слова: авидность, аутоантитела, щитовидная железа, мультиплексный анализ**

Аутоиммунные заболевания щитовидной железы (АИЗЩЖ) широко распространены в популяции. Аутоантитела (аутоАТ) к антигенам (АГ) ткани ЩЖ могут быть обнаружены в сыворотке крови до клинической манифестации заболевания. Выявление аутоАТ играет роль вспомогательного диагностического критерия, поскольку аутоАТ могут присутствовать у здоровых лиц и пациентов с неаутоиммунными ЗЩЖ. В то же время определение авидности аутоАТ, характеризующей суммарную силу взаимодействий между аутоАТ и АГ, может быть дополнительной характеристикой, потенциально позволяющей повысить специфичность анализа.

Целью данной работы являлось создание специализированного гидрогелевого биочипа с иммобилизованными АГ, и реализация методики мультиплексного анализа аутоАТ с одновременным определением индекса авидности (ИА) аутоАТ к АГ ткани ЩЖ и белкам-кандидатам.

Разработан гидрогелевый биочип и метод мультиплексного анализа на его основе для выявления и одновременного определения ИА аутоАТ к АГ ткани ЩЖ и белкам-кандидатам, (тиреопероксидазе, тиреоглобулину, трийодтиронину, тироксину, натрий-йод симпортёру, рецептору тиреотропного гормона, пендрину, карбоангидразе-2 и пируваткиназе). Метод был апробирован на образцах сыворотки крови пациентов (n=117), включая пациентов с АИЗЩЖ (n=28), неаутоиммунными ЗЩЖ (n=16) и здоровых доноров (n=31). Установлено, что ИА для разных аутоАТ ЩЖ носит индивидуальный характер для каждого пациента. На примере аутоАТ к тиреопероксидазе (ТПО) продемонстрировано, что созданный метод позволяет уменьшить долю ложноположительных результатов. Для групп пациентов с АИЗЩЖ, неаутоиммунными ЗЩЖ и здоровых доноров обнаружено различие в медианах ИА для аутоАТ к ТПО.

Полученное различие ИА для аутоАТ к ТПО может представлять практическую ценность для повышения специфичности анализа при выявлении носителей аутоАТ – маркёров развития АИЗЩЖ.

4

SECTION / БӨЛІМ / СЕКЦИЯ

BIOMEDICINE / БИОМЕДИЦИНА / БИОМЕДИЦИНА

## BIOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF MUTANT FORMS OF APOLLO GENE (SNM1B-APOLLO-DCLRE1B) LINKED TO HEREDITARY KIDNEY CANCER

A.A. Almasbekova<sup>1</sup>, U.B. Sarsenbaeva<sup>2</sup>, M.Saparbaev<sup>3</sup>, K.O. Sharipov<sup>1,4</sup>

1 - *Asfendiyarov Kazakh National Medical University*

2 - *al-Farabi Kazakh National University*

3 - *Université Paris-Saclay, Gustave Roussy Cancer Campus, France*

4 - *M.A. Aitkhozhin Institute of Molecular Biology and Biochemistry*

*e-mail: adina\_94.94@mail.ru*

**Keywords: kidney cancer, Appollo gene, mutation, repair, diagnosis**

According to WHO, kidney cancer accounts for about 5% in the structure of cancer incidence among men and 3% among women. Every year, 403.3 thousand new cases of kidney cancer and 175,000 deaths from this pathology are registered in the world, which is 2.0% of all deaths from cancer. In Kazakhstan, kidney cancer occupies the 8th place in the structure of morbidity, more than 1,200 cases of malignant neoplasms are detected annually for the first time in life, and mortality is more than 300 cases. An unambiguous cause of kidney tumors has not been established. Smoking tobacco increases the risk of kidney tumors. The role of immune system insufficiency, obesity and hypertension is also substantiated.

The DCLRE1B gene encodes the *SNM1B/Apollo* protein involved in several cellular processes: telomere protection, DNA damage repair, cell cycle regulation and apoptosis. Apollo is a 5'->3' DNA exonuclease, the nuclease activity of which involves two domains - metallo- $\beta$ -lactamase and  $\beta$ -CASP. Apollo can dimerize and interact with numerous proteins (TRF2, FANCD2, MRE11, Gastrin, etc.). However, the molecular mechanisms by which Apollo functions *in vivo* are far from being studied, and the tissue-specific role of Apollo in human kidney oncogenesis has not been studied to date.

The aim of the present study is biochemical characterization of oncogenic mutations in the Apollo gene (DCLRE1B) associated with hereditary kidney cancer in humans.

Expression and purification of mutant forms of Apollo will be conducted using laboratory strains of *Escherichia coli* BL21 (DE3) bacteria, plasmid vectors for the protein expression pET11a and pET28c. Non-small cell lung carcinoma (NSCLC) A549 wild-type cells resistant to cisplatin and renal cell carcinoma (RCC) associated with mutations in the VHL, MITF and BAP1 genes will also be used. We will perform *in vitro* reconstitution of DNA repair assays using radioactively labeled DNA substrates. Analysis of reaction products will be accomplished using gel electrophoresis and MALDI TOF mass spectrometry.

In conclusion, our study will advance the characterization of activities of wild-type and mutant forms of Apollo in human renal epithelial cells and determine the effect of mutations in the Apollo gene on hereditary kidney cancer, and may also serve as the basis for identifying new targets for diagnosis and therapy aimed at DNA damage signaling and DNA repair pathways.

## INVESTIGATING THE IMPACT OF MIRNAS ON SORTILIN DEREGULATION IN NON-SMALL CELL LUNG CARCINOMA

J.E. Holder<sup>1</sup>, C.M. Wilson<sup>1,2</sup>

1 - Canterbury Christ Church University, School of Human and Life Sciences, Life Sciences Industry Liaison Lab, Canterbury, UK

2 - University of Liverpool, Institute of Translation Medicine, Dept of Molecular & Clinical Cancer Medicine, Liverpool, UK

e-mail: [jessica.holder@canterbury.ac.uk](mailto:jessica.holder@canterbury.ac.uk)

**Keywords: miRNA, lung cancer, carcinoma, sortilin, expression, biomarkers**

Lung cancer is the leading cause of cancer deaths worldwide, with over 80% of cases being non-small cell lung carcinoma (NSCLC). MicroRNAs (miRNAs) are small, non-binding RNAs that play a role in post-transcriptional regulation of gene expression. They have been studied for their possible role as biomarkers for disease, including NSCLC. Sortilin, a receptor that is known to be important in regulating cancer cell development in NSCLC, has previously been shown to have its expression modulated by miRNAs.

This study aimed to characterise the effects of sortilin expression in NSCLC, identify miRNAs that may be deregulated in this disease and characterise their effects using miRNA mimics and inhibitors.

In this study, resuspended EVs were sent to HTG Molecular Diagnostics where miRNA transcripts were assessed by next generation sequencing. Selected miRNAs were transfected into SKMES-1 cells and cultured in medium. The effect of the miRNAs on SKMES-1 cells proliferation and migration were assessed by resazurin assay and a wound healing assay. qPCR was used to determine changes in the expression of selected genes after miRNA treatment and western blot was used to show changes in the expression of the sortilin protein.

A study of exosomal miRNA levels highlighted deregulation of many miRNAs in lung cancer patients. This study demonstrated that a miRNA mimic and miRNA inhibitor affect proliferation, migration, and gene expression in human lung cancer SK-MES-1 cells. As well as this, the miRNA inhibitor appears to exert its effect through the regulation of sortilin. Increasing sortilin levels in SK-MES-1 cells appears to decrease cell proliferation, migration and affect the expression of several genes, including the pro-apoptotic gene, BCL211. This research demonstrates how sortilin may be targeted using miRNA mimics and inhibitors to increase its expression and produce these anti-cancer effects, possibly through the regulation of BCL211 transcription.

# IMMEDIATE IMPACTS OF MEDIUM-CHAIN TRIGLYCERIDE SUPPLEMENTATION ON NEUROPLASTICITY GENE EXPRESSION, BRAIN MONOAMINE LEVELS, AND BLOOD CYTOKINE LEVELS IN MALE WISTAR RATS

V.A. Nikitina<sup>1</sup>, A.P. Schwarz<sup>2</sup>, D.S. Traktirov<sup>1</sup>, S.A. Apyatin<sup>1</sup>, M.N. Karpenko<sup>1</sup>,  
D.U. Krytskaya<sup>1</sup>, V.M. Klimentko<sup>1</sup>, K.P. Shcherbakova<sup>1</sup>, A.N. Trofimov<sup>1</sup>

1 - Institute of Experimental Medicine, Russia, 197022, St. Petersburg, Acad. Pavlov st. 12

2 - Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences, Russia, 194223, St. Petersburg, Thorez 44

e-mail: v.a.n1kitina@yandex.ru

**Keyword:** ketosis, medium-chain triglycerides (MCT), brain, neuroplasticity, immunomodulation

Medium-chain triglycerides (MCT) possess neuroprotective properties, but the underlying molecular mechanisms are insufficiently understood. We previously demonstrated that chronic 3 g/kg/day MCT improved working memory in rats without causing chronic metabolic changes. Studying the acute effects of MCT on brain gene expression and immunomodulating effects is important for identifying the mechanisms of procognitive effects of MCT.

We administered a single oral dose of 3 g/kg MCT to rats and assessed their blood cytokines (by multiplex immunoassay), brain gene expression (by RT-qPCR), and striatal monoamine levels (by HPLC) at 30, 60, 120, and 180 min post-administration.

In the dorsal hippocampus, MCT administration significantly reduced gene expression of the matrix metalloproteinase-9 (*Mmp9*) at 120-180 min and glucose transporter (*Glut3*) at 120 min, increased the fibroblast growth factor-2 (*Fgf2*) mRNA at 180 min, and increased the relative mRNA levels of NMDA receptor subunits (*GluN1* and *GluN2a*, but not *GluN2b*) at 180 min after administration. Blood ketone body levels inversely correlated with the *GluN1* and *GluN2a* hippocampal expression. In the medial prefrontal cortex, the *GluN2b* and *GluA1* expression peaked at 60 min. Striatal levels of dopamine, serotonin, and their metabolites were not affected, while the HVA/DOPAC ratio significantly increased at 30 min compared to baseline. Several cytokines, including IL-1 $\beta$ , IL-10, and LIX, showed a similar pattern of decreasing at 60 min and then returning to baseline levels at 120-180 min. Leptin and RANTES levels also initially decreased at 60 min but increased significantly above baseline at 120-180 min. IL-2 levels decreased at 30 min, remaining low until 180 min. No significant differences were observed for VEGF, TNF- $\alpha$ , MIP-1 $\alpha$ , IL-4, IL-13, and IL-17.

MCT administration acutely affects gene expression in the brain and blood cytokine levels, suggesting potential therapeutic effects of MCT in neurological and immunological disorders.

Research support: Russian Science Foundation, project no. 19-75-10076.

## STUDYING THE POTENTIAL OF THE CYTOKINE-PRECONDITIONED MESENCHYMAL STEM CELLS FOR PSORIASIS

A.Ye. Sekenova, M.A. Sarsenova, A.S. Issabekova

National Center for Biotechnology, Kazakhstan, 010000, Astana, 13/5, Kurgalzhynskoye road  
e-mail: a.sekenova@biocenter.kz

**Key words:** MSCs, preconditioning, effect, psoriasis

Psoriasis as a skin disease describes with formation of red spots and plaques on human skin, which are areas of excessive proliferation of the immune cells. The incidence of psoriasis in the world is about 2%. In Kazakhstan, psoriasis ranks first among skin diseases. According to statistics, the total number of patients is 34.5 cases per 100 thousand population. The treatment methods for psoriasis include surface medications (creams), phototherapy, immunosuppressive drugs, and monoclonal antibodies. The need to find new methods for treating psoriasis arises due to chronic inflammation and emerging drug resistance. Currently, the search for new effective treatments for psoriasis continues, and an alternative method may be the application of mesenchymal stem cells (MSCs), preconditioned with using various factors to increase their immunoregulatory and immunomodulatory properties. Thus, we aimed to find the optimal method for preconditioning the MSCs and study their effects on psoriasis-like skin inflammation in mice.

MSCs were isolated from human umbilical cord blood (hUCB-MSCs) using the earlier described protocol. Cells were characterized using the multilineage differentiation method, clonogenic test (CFU) and phenotyping with a flow cytometry kit (StemFlow MSC, BD Biosciences, USA). hUCB-MSCs were preconditioned with IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-17 and IL-22 individually and/or in combination for 24 hours. The choice of these cytokines is because they play an important role in the pathogenesis of psoriasis. Cytokine-preconditioned hUCB-MSCs were analyzed for the production of PGE2, TGF- $\beta$ 1 and IL-6 in ELISA, as well as for gene expression (COX2, IL-6) in RT-PCR.

Our results showed that the obtained hUCB-MSCs showed the abilities that are characteristic of this cell type: multilineage differentiation, colony formation, and expression of surface markers (CD73, CD90, CD105). We revealed that the production of the immunoregulatory and anti-inflammatory cytokine IL-6, as well as the immunomodulatory PGE2, increased in hUCB-MSCs when preconditioning with a combination of TNF- $\alpha$  and IL-22 was used, compared with untreated hUCB-MSCs. Moreover, preconditioning of hUCB-MSCs with the combination of TNF- $\alpha$  and IL-22 increased the secretion of TGF- $\beta$ 1, which is responsible for the proliferation and differentiation of these cells, compared to untreated hUCB-MSCs. Our RT-PCR results demonstrated that preconditioning with TNF- $\alpha$  alone, as well as preconditioning with the combination of TNF- $\alpha$  and IL-22, increased the expression level of the IL-6 gene in hUCB-MSCs, compared with preconditioning with other cytokine combinations. Furthermore, we observed the increased level of expression of the immunomodulatory COX-2 gene in unstimulated hUCB-MSCs, and in hUCB-MSCs preconditioned with only TNF- $\alpha$ . Thus, our results showed that preconditioning with the TNF- $\alpha$  and IL-22 in combination is most effective in increasing the immunoregulatory, proliferative and immunomodulatory properties of hUCB-MSCs.

The obtained results can be the basis for developing cell therapy approaches for the treatment of psoriasis, and other types of immune-related diseases.

## ANTIMICROBIAL AND CYTOTOXIC PROPERTIES OF THE ROOT EXTRACTS OF *ARTEMISIA VULGARIS* AND *ARTEMISIA GLAUCA* FROM KAZAKHSTAN

A.N. Trofimov<sup>1</sup>, G.K. Mamytbekova<sup>1,2</sup>, B. Akbay<sup>1</sup>, O. Karapina<sup>1</sup>, Y.M. Suleimen<sup>2</sup>, T. Tokay<sup>1</sup>

1 - Nazarbayev University, Kazakhstan, 010000, Astana, Qabanbay Batyr Ave. 53

2 - Kazakh University of Technology and Business, Kazakhstan, 010000, Astana,  
Mukhamedkhanov St. 37 A

e-mail: alexander.n.trofimov@gmail.com aleksandr.trofimov@nu.edu.kz

**Keywords:** *Artemisia* spp., root extracts, bioactive effects, antimicrobial activity, cytotoxicity

*Artemisia* species, such as *A. vulgaris* and *A. glauca* known for their historical use in traditional medicine, have recently garnered scientific interest due to their rich bioactive compounds. These compounds exhibit a wide range of biological effects, including antibacterial, antimalarial, antiviral, antioxidant, anti-inflammatory, anticancer, and potential antiepileptic properties (Nurlybekova *et al.*, 2022; Ekiert *et al.*, 2022). This preliminary study focuses on exploring the antimicrobial and cytotoxic characteristics of root extracts from these *Artemisia* species as a first step towards exploring their potential for treating epilepsy in animal models.

Roots of *A. vulgaris* and *A. glauca*, sourced from the Akmola region in Kazakhstan, underwent extraction using organic solvents via a Soxhlet apparatus. For cytotoxicity assessment, brine shrimp (*Artemia salina*) eggs were hatched in aerated seawater at 25°C, 20-30 larvae were placed in each well of a 24-well plate. Root extract samples at concentrations ranging from 1 to 10 µg/ml were introduced. Actinomycin D served as a reference drug. After a 24h incubation period, the surviving nauplia were counted, and mortality percentages were calculated. In the antimicrobial evaluation, the extracts were tested against clinical strains of microorganisms, including *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Candida albicans*, and *Aspergillus flavus*, via serial dilution.

It was revealed that the ethanol extract from *A. vulgaris* root exhibited low cytotoxicity, with mortality rates of 27.5% at 10 mg/ml, 10.3% at 5 mg/ml, and 3.7-6.6% at 2.5 and 1 mg/ml concentrations. In contrast, the extract from *A. glauca* root displayed chronic toxicity, with a mortality rate of 38.09% at 10 mg/ml, 29.1% at 5 mg/ml, and 4.3-14.8% at 2.5 and 1 mg/ml concentrations, along with 27.2% nauplia paralysis at 10 mg/ml, indicating neurotoxic and cytotoxic effects. In the antimicrobial assessment, both *A. glauca* and *A. vulgaris* extracts demonstrated potential antimicrobial activity against the tested clinical strains of microorganisms. Some dilutions of both extracts exhibited no microbial growth after 24 h, suggesting their promise as sources of antimicrobial agents.

The study highlights the varying cytotoxicity of root extracts from *A. vulgaris* and *A. glauca*, with *A. glauca* demonstrating chronic toxicity and neurotoxicity. Both extracts displayed promising antimicrobial activity against clinical strains of microorganisms.

Research support: Collaborative Research Program 2023-2025, project OPCR2023015.

## ҰЙҚЫ БЕЗІНІҢ БЕТА КЛЕТКАЛАРЫНДАҒЫ ИНСУЛИННІҢ ТЕРБЕЛМЕЛІ СЕКРЕЦИЯСЫН АНЫҚТАУ

Г.Х. Нармуратова<sup>1,2</sup>, Джуд Т. Дини<sup>3</sup>, Н. Абдолла<sup>2</sup>

- 1 - М.А. Айтхожин атындағы Молекулалық биология және биохимия институты, Қазақстан, 050012, Алматы, Досмұхамедов көш., 86
- 2 - Әл Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, 050040, Алматы, әл-Фараби даңғылы 71
- 3 - Бостон университеті, Медицина мектебі, АҚШ, MA02118, Бостон, Олбани көш., 650  
e-mail: narmuratova15@gmail.com

### **Түйін сөздер: қант диабеті, инсулин, глюкоза, секреция, бета клеткалар**

Соңғы жылдары әлемде қант диабетіне шалдыққандар саны еселеп артуда. Халықаралық диабет федерациясының 2021 жылғы мәліметі бойынша дүние жүзінде 537 миллион адам қант диабетіне шалдыққан және аталған аурумен ауратын науқастар саны 2030 жылға қарай 643 миллионға артуы мүмкін екендігі болжанып отыр. Қант диабетінің негізгі себебі бета клеткалары санының азаюынан туындайтын инсулин синтезінің бұзылысы болып табылады. Ұйқы безінің бета клеткалары глюкозаның метаболизмін реттейтін организм үшін ең маңызды инсулинді бөліп шығарады. Қант диабетінің 2-типі бета клеткаларындағы глюкозамен стимуляцияланған инсулин секрециясының (GSIS) бұзылысы арқылы сипатталады. Бета клеткаларынан инсулиннің синтезделуі глюкозаның қатысуымен би-фазалық және ырғақты түрде жүзеге асырылады. Инсулин секрециясының алғашқы фазасы, глюкозаның GLUT2 транспорттық белоктар арқылы клеткаға енуінен басталады. Клеткаға енген глюкоза цитоплазмадағы гликолиз және митохондрияда Кребс циклінен өтіп, АТФ молекуласы түзіледі. Түзілген АТФ клетка мембранасындағы АТФ-ке тәуелді  $K^+$  каналдарын жауып, клетка мембранасының деполяризациясын тудырады,  $Ca^{2+}$  каналдары ашылып, клеткаішілік  $Ca^{2+}$  иондарының артуына алып келеді. Клеткаішілік  $Ca^{2+}$  иондарының артуы мембранаға жақын орналасқан инсулин гранулаларының секрециясын қамтамасыз етеді. Алғашқы фаза глюкозаның қатысуымен шамамен 5-10 минутқа созылады. Инсулин секрециясының екінші фазасы резервтегі инсулин грануласының мобилизациясымен сипатталады және оның жүру уақыты алғашқы фазамен салыстырғанда ұзақтау. Қант диабетінің 2-типінде инсулин секрециясының бірінші және екінші фазасы бұзылғандығы анықталған және бұл тербелмелі инсулин секрециясының өзгерістерін тудырады.

Зерттеуге клоналды INS-1 832/13 бета клеткалары алынды. Клеткалар RPMI 1640 құрамында: 10 mM 4-(2-гидроксил этил)-1 пиперазин этан сульфат буфер (HEPES), 2 mM глутамин, 1mM натрий пируват, 50 IU/mL пенициллин, 50  $\mu$ g/mL стрептомицин, 10% сарысу белогы (FBS), and 50  $\mu$ M  $\beta$ -меркаптоэтанол (BME) бар қоректік ортада, екі түрлі қалыпты 4 mM және жоғары 11 mM глюкоза концентрациясында инкубацияланды. Инсулин секрециясының нәтижесі FRET негізделген HTRF инсулин тест арқылы анықталып, Тесан M1000 құрылғысында есептелді.

Зерттеу нәтижесіне сәйкес қалыпты 4 mM глюкоза концентрациясында өсірілген бета клеткаларының инсулин секрециясының орташа мәні 40 ng/ml тең болса, ал 11 mM глюкоза концентрациясында инсулин секрециясы 15 ng/ml тең екендігі анықталды. Демек, глюкоза концентрациясының артуы бета клеткаларына глюкотоксикалық әсер етіп, инсулин секрециясының бұзылысын тудырады.

## ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ miR-145 И miR-21 ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В КАЗАХСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

А.О. Абайлдаев, К.С. Саткен, Е.Е. Аширбеков

*Институт молекулярной биологии и биохимии им. М.А. Айтхожина,  
Казахстан, 050012, Алматы, Досмухамедова 86  
e-mail: armandj\_92@mail.ru*

**Ключевые слова:** рак молочной железы, микроРНК, miR-21, miR-145, диагностика

Рак молочной железы (РМЖ) является самым распространенным видом рака среди женщин в мире. Данная проблема служит основанием для поиска и изучения новых биомаркеров, способных помочь в раннем выявлении, диагностике и прогнозировании РМЖ.

МикроРНК являются перспективными маркерами для ранней диагностики и прогнозирования опухолей. МикроРНК – это обильный класс малых, не кодирующих белок РНК, функционирующих в качестве отрицательных регуляторов большинства генов в геноме и участвующих в важнейших биологических процессах, таких как развитие, дифференцировка, апоптоз, пролиферация и др. Преимущество микроРНК перед другими биомаркерами онкогенеза является их свободная циркуляция в биологических жидкостях, благодаря чему контроль изменения уровня его экспрессии можно осуществлять малоинвазивным методом. МикроРНК попадает в кровоток непосредственно из первичных или метастатических опухолей путем активной секреции, апоптоза или некроза, и таким образом изменения в количестве циркулирующей микроРНК может отражать патологический процесс.

Целью настоящей работы явилась проверка диагностической ценности двух циркулирующих микроРНК – miR-21-5p и miR-145-5p, рекомендуемых в литературе в качестве маркеров РМЖ, на выборке казахских женщин. Для этого мы сравнили уровни микроРНК в плазме 91 пациента РМЖ и 65 здоровых женщин из г. Алматы и Алматинской области Республики Казахстан.

Две циркулирующие в плазме микроРНК – miR-145-5p и miR-21-5p, были достоверно повышены у больных РМЖ по сравнению со здоровыми контролями в казахской популяции. Кроме того, была обнаружена связь с некоторыми клинико-патологическими характеристиками пациентов РМЖ: уровень miR-21-5p был ассоциирован с пролиферативной активностью опухоли, уровень miR-145-5p – с менопаузальным статусом, уровни обеих микроРНК – с возрастом менархе и употреблением алкоголя.

ROC-анализ показал средний потенциал применимости miR-145-5p в диагностике РМЖ, и низкий потенциал для miR-21-5p.

# МИКРОСТРУКТУРА И АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА МНОГОСЛОЙНЫХ КОМПОЗИТНЫХ ПОКРЫТИЙ CU-Nb-Ta, НАНЕСЕННЫХ НА БИМЕДИЦИНСКИЙ СПЛАВ Ti-6Al-4V МЕТОДОМ МАГНЕТРОННОГО РАСПЫЛЕНИЯ

**Б.Н. Азаматов, Ж.К. Азаматова, А.А. Борисов, Д. Калиев, Б. Маратұлы, С.В. Плотников**

*Восточно-Казахстанский технический университет им. Д. Серикбаева,  
Казахстан, 070004, Усть-Каменогорск, Серикбаева 19  
e-mail: azamatovy@mail.ru*

**Ключевые слова:** антибактериальное покрытие, титановый имплантат, магнетрон

Травматизм является одной из самых распространенных проблем нарушения костной ткани. В настоящее время ведутся интенсивные исследования по разработке имплантатов на основе биодеградируемых полимерных материалов как синтетических, так и природных. На практике, особенно при объемных нарушениях костной ткани, широко используются имплантаты на основе титана и его сплавов. При этом имеет место риск образования на поверхности имплантата микробной биопленки, ведущей к воспалению. Это предполагает повторное хирургическое вмешательство по извлечению имплантата. Для предотвращения образования биопленок разрабатываются активные антибактериальные покрытия на поверхности имплантата, что является эффективной стратегией защиты от биообрастания, при этом необходимо обеспечить длительное высвобождение антибактериальных веществ (Smart Drug-Releasing Coatings). Такими свойствами обладают некоторые металлы, наночастицы которых (а также их оксидов и нитридов) в настоящее время широко используются в медицине.

Антибактериальные покрытия получены методом магнетронного распыления на установке EPOS-PVD-440. Проведен эксперимент по определению их бактерицидной активности методом контакта исследуемых образцов с растущими клетками бактерий.

Исследование микроструктуры и оценку толщины покрытий проводили с помощью сканирующего электронного микроскопа JSM-6390LV (JEOL, Япония) с приставкой энергодисперсионного анализа (EDX) INCA ENERGY (Oxford Instruments, Великобритания). Концентрация меди, выделяющейся из пленок, нанесенных на подложки Ti-6Al-4V, измерялась при помощи масс-спектрометра с индуктивно связанной плазмой ICP-MS Agilent 7500cx (Agilent Technologies, США). Образцы погружали в среду физиологического раствора 0,9% NaCl при температуре 37°C. Концентрацию ионов меди (мкг/л) в растворе измеряли через 1, 2, 3 и 4 дня на трех образцах для каждого вида покрытия.

Исследованы антибактериальные свойства многокомпонентных композитных покрытий Ta-Cu-Nb. Подобраны режимы магнетронного напыления постоянного тока для осаждения антибактериальных тонких пленок Cu-Ta-Nb на подложки из сплава Ti-6Al-4V. Установлено, что высвобождение основного количества ионов меди (до 2200 мкг/л) происходит в течение первых суток погружения в физиологический раствор. Выяснено, что для полученных покрытий на образцах из Ti-6Al-4V зона ингибирования для *P. aeruginosa* составила по максимальному значению 36 мм (28,8 в среднем), *S. aureus* – 19 и 15,5 мм, соответственно.

Результаты перспективны для развития технологий получения покрытий для медицинских имплантатов с повышенными бактерицидными и биосовместимыми свойствами.

Исследование финансируется КН МНВО РК (грант № ИРН AP14871715).

## МИКРОДУГОВЫЕ БИОАКТИВНЫЕ Кальций-Фосфатные ПокрЫтия со Сложной Пористой Архитектурой Нанесенные на Образцы из Биомедицинского сплава Ti-6Al-4V

**Б.Н. Азаматов, Ж.К. Азаматова, А.А. Борисов, Д.С. Догадкин, Д.И. Калиев,  
Б. Маратулы, С.В. Плотников, А.Н. Сағидүғұмар**

*Восточно-Казахстанский технический университет им. Д. Серикбаева,  
Казахстан, 070004, Усть-Каменогорск, Серикбаева 19  
e-mail: azamatovy@mail.ru*

**Ключевые слова:** кальций-фосфатное покрытие, микродуговое оксидирование

В настоящее время в медицине широко используются искусственные материалы для замены суставов и восстановления костной ткани. В основном для медицинских имплантатов используют титан и титановые сплавы. Однако, материалы на основе титана из-за своей ограниченной биологической активности не могут эффективно взаимодействовать с костной тканью на ранних этапах имплантации, что может привести к потере имплантата. Для улучшения биологической активности одним из наиболее эффективных методов является нанесение кальций-фосфатных (КФ) покрытий на поверхность имплантата методом микродугового оксидирования (МДО).

Образцы с пористой структурой были изготовлены из порошка титанового сплава (Ti-6Al-4V) DIN EN ISO 22674 Rematitan® методом селективного лазерного (СЛП) плавления на установке аддитивного производства Concept Laser MLab Cusing R. Для нанесения покрытия методом МДО использовался импульсный источник питания «PV-500V/20kW». Поверхностный слой формировался на образце с пористой структурой в процессе микродуговой обработки в водном растворе электролита с использованием биполярного режима. В качестве катода была использована ванна из титанового сплава (Ti-6Al-4V). Состав электролита:  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  (30-40 г/л),  $\text{Ca}_3(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (40-50 г/л). При нанесении покрытия параметры процесса были следующие: частота импульсов – 50 Гц, импульсное напряжение – 200 В, длительность обработки – 5 мин. Исследование морфологии поверхности и элементный анализ проводили с помощью растрового электронного микроскопа (РЭМ) JSM-6390LV с системой энергодисперсионного анализа INCA Energy Penta FET X3. Рентгеноструктурный анализ полученных покрытий был выполнен на дифрактометре PANalytical X'PerPRO Cu K $\alpha$  с длиной волны 1,54056 Å.

Поверхность образца, полученного методом МДО, имеет пористую структуру и содержит частицы титана, припавленные в процессе аддитивного производства образцов с пористой структурой. За счет пористой поверхности образца была сформирована дополнительная пористость.

Элементный состав покрытия был определён методом энергодисперсионной спектроскопии (ЭДС). По результатам элементного анализа, можно наблюдать содержание в покрытиях основных элементов таких, как фосфор, кальций, кислород, титан. Среднее соотношение кальция к фосфору составляет 2,48. Соотношение Ca/P полученного покрытия близко к соотношению Ca/P в костной ткани человека, которое составляет 2,15.

Методом МДО на образцах с пористой структурой из титанового сплава были сформированы кальций-фосфатные и оксидные покрытия и изучены их фазовый и элементный состав, а также морфология поверхности, определено соотношение Ca/P.

Результаты показывают возможность применения каркасов из титанового сплава с пористой структурой в травматологии и ортопедии с кальций-фосфатными покрытиями для улучшения остеоинтеграции имплантатов из титановых сплавов.

# НЕЙРОИММУНОЛОГИЯ АЛКОГОЛИЗМА

М.И. Айрапетов<sup>1,2</sup>

1 - Институт экспериментальной медицины  
Россия, 197022, Санкт-Петербург, улица Академика Павлова 12

2 - Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова  
Россия, 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева 6  
e-mail: interleukin1b@gmail.com

## **Ключевые слова: алкоголь, нейровоспаление, Toll-подобные рецепторы**

Алкоголизм представляет глобальную социально-значимую проблему, до сих пор оставаясь одной из ведущих причин, приводящих к инвалидности и преждевременной смерти. Одним из основных признаков заболевания является потеря когнитивного контроля над количеством употребляемого алкоголя.

Выполненные за последние 20 лет исследования по изучению роли TLRs в патогенезе алкоголизма были сосредоточены преимущественно на двух подтипах TLRs - TLR3 и TLR4. В нескольких работах была исследована роль TLR7. Основное внимание было уделено анализу экспрессии этих рецепторов, а также компонентов-участников внутриклеточной сигнализации (в основном на уровне мРНК), которая опосредуется взаимодействием TLRs с их специфическими лигандами. Большая часть работ выполнена на культурах клеток и на мышах с применением различных моделей алкогольной интоксикации. Представленные в работах результаты убедительно показывают, что TLRs опосредуют развитие нейротоксического эффекта в ЦНС при употреблении этанола. Более того, TLR-сигнализация не только способствует развитию нейровоспалительного процесса в головном мозге, но, вероятно, вовлечена и в механизмы регуляции функциональной активности нейромедиаторных систем, что может вносить свой вклад в формирование патологического влечения к алкоголю. Однако представляется интересным изучить, как изменяются компоненты TLR-сигнализации во время отмены алкоголя на разных сроках отмены и как долго сохраняется в этом случае нейровоспалительный процесс в ЦНС, опосредуемый TLRs. Недостаточно исследован уровень экспрессии цитокинов на уровне белка в головном мозге при патологических состояниях, вызванных воздействием этанола. Интересным здесь остаётся и то, как изменяется уровень экспрессии TLRs и компонентов внутриклеточной сигнализации в различных структурах мозга, которые в первую очередь подвержены изменениям в ходе алкогольной интоксикации.

Понимание внутриклеточных механизмов, опосредуемых активаций TLRs, может открыть новые мишени для разработки эффективных средств, направленных на лечение алкоголизма.

## ВЫЯВЛЕНИЕ ИНСУЛИНА МЕТОДОМ ХЕХСТ-ОКРАШИВАНИЯ В КЛЕТКАХ С CRISPR-АКТИВИРОВАННЫМ ГЕНОМ ГОРМОНА

Б. Алжанулы<sup>1,2</sup>, К. Шарипов<sup>1,3</sup>

1 - Институт молекулярной биологии и биохимии им. М.А. Айтхожина,  
Казахстан, 050012, Алматы, Досмухамедова 86

2 - Казахский национальный университет им. аль-Фараби,  
Казахстан, 050040, Алматы, аль-Фараби 71

3 - Казахский национальный медицинский университет им. С.Д.Асфендиярова,  
Казахстан, 050000, Алматы, Толе би 94  
e-mail: bakhytzhana.alzhanuly@gmail.com

**Ключевые слова:** сахарный диабет, инсулин, бета-клетки, CRISPR, окрашивание

Технология CRISPR/Cas9 предоставляет исследователям широкие возможности для редактирования геномов. В этой связи имеется возможность для разработки новой терапии сахарного диабета 1 типа, которая может быть основана на человеческих стволовых клетках с активированной экспрессией гена инсулина с помощью метода CRISPR. В настоящее время проводятся масштабные исследования эмбриональных стволовых клеток человека как неиссякаемого источника  $\beta$ -клеток поджелудочной железы для трансплантации в организм больных. В этой нелегкой работе необходимо иметь данные, полученные с использованием технологии CRISPR/Cas9 и протестированные на обычных клетках человека. В этой работе мы изучали возможность выявления инсулина в форме белка у линии HEK 293 клеток, в которых была проведена активация транскрипции гена инсулина с помощью CRISPR/Cas9.

Была собрана генетическая конструкция, состоящая из элементов комплекса CRISPR (вместо активной нуклеазы Cas9 – деактивированная dCas9), направляющего гид РНК (гРНК), а также синтетического фактора транскрипции для активации генов VP64. Гид РНК, по принципу комплементарности направляющая комплекс CRISPR в промоторную часть гена инсулина клетки-мишени, был упакован в лентивирусный вектор. Полученный вирусный вектор далее был использован для трансфекции ранее полученной линии HEK 293 клеток с экспрессией dCas9 и VP64. После завершения необходимых трансфекций, была выделена РНК целевых клеток с последующим синтезом комплементарной ДНК (кДНК). Метод количественной ПЦР была использована для выявления инсулина в виде матричной РНК (мРНК). А для процесса выявления инсулина в форме экспрессированного белка был использован известный молекулярный краситель Хехст (Hoechst).

По итогам анализа результатов количественной ПЦР комплекс CRISPR (dCas9+VP64+гРНК) показал более чем 800-кратное увеличение активации гена инсулина по сравнению с контролем (без гРНК). Далее, экспрессированная молекула инсулина в форме белка была успешно обнаружена и окрашена с помощью метода окрашивания Хехст.

Известно, что молекулярный механизм регуляция гена инсулина является сложным по своей природе, однако, было установлено, что технология CRISPR/Cas9 с деактивированной нуклеазой и гРНК способна активировать работу гена. Более того, было определено, что с помощью молекулярного красителя Хехста можно выполнить детекцию белкового продукта активированного гена – гормона инсулина. Полученные результаты являются полезным дополнением к современным знаниям по разработке клеточной терапии для лечения пациентов с диабетом 1 типа.

# ОЦЕНКА УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДИНАМИКИ В КОРЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА ТРАНСГЕННЫХ МЫШЕЙ SOD1-G93A НА РАЗВЕРНУТОЙ СТАДИИ РАЗВИТИЯ БОКОВОГО АМИОТРОФИЧЕСКОГО СКЛЕРОЗА

Н.В. Белослудцева, В.С. Старинец, А.И. Ильзоркина

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Россия, 142290,  
Пушино, Институтская 3  
e-mail: nata.imagination@gmail.com

**Ключевые слова:** боковой амиотрофический склероз, SOD1-G93A мыши, кора головного мозга, митохондриальная динамика

Боковой амиотрофический склероз (БАС) характеризуется прогрессирующей дегенерацией верхних и нижних мотонейронов и неизменно приводит к летальному исходу. Большинство семейных случаев БАС связаны с геном *SOD1*, кодирующем фермент супероксиддисмутаза 1, мутантная форма которого накапливается в клетках внутри митохондрий. Нарушение структуры митохондриальной сети и её функциональной активности в мотонейронах коры головного мозга способствует развитию биоэнергетического кризиса, воспалительного процесса, окислительного стресса и последующей гибели нервных клеток.

Целью настоящего исследования явилась оценка уровня экспрессии генов, сопряженных с процессами митохондриального деления и слияния, в коре больших полушарий головного мозга в модели БАС на основе трансгенных мышей B6SJL-TgN (*SOD1-G93A*) dl1Gur/J на развернутой стадии патологии. Нейропатологические изменения животных были подтверждены в серии поведенческих экспериментов. Уровень экспрессии генов определяли методом RT-PCR. В качестве референсного гена был использован *Rplp0* (ribosomal protein large P0). Расчеты уровня относительной экспрессии исследуемых генов определяли относительно контрольных групп.

В работе было показано резкое снижение уровня экспрессии генов митохондриального деления – *DRP1*, и слияния – *MFN2*, *Opa1* в тканях коры головного мозга животных с БАС. Предполагается, что процессы митохондриального деления связаны с деградацией митохондрий, и, следовательно, они индуцируются в условиях повреждения этих органелл. Белки *MFN2* и *Opa1*, помимо участия в митохондриальном слиянии, могут играть роль в поддержании структуры внутренних мембран и окислительного гомеостаза митохондрий. Соответственно, дефицит этих белков может свидетельствовать о снижении энергетического метаболизма. Параллельно, было обнаружено компенсаторное увеличение экспрессии гена ключевого митохондриального транскрипционного фактора *TFAM*, участвующего в регуляции транскрипции мтДНК, и снижение уровня экспрессии фактора *NRF1*. Известно, что основными функциями *NRF1* являются усиление биогенеза митохондрий и стимуляция митофагии для обеспечения здорового обмена митохондрий.

Баланс между митохондриальными процессами слияния и деления играет важную роль в регуляции митохондриальной биоэнергетики и редокс гомеостаза и потенциально способствует поддержанию активности мотонейронов. Таким образом, выявленная нами митохондриальная дисфункция, опосредованная изменением уровня белков динамики и соответствующих регуляторных транскрипционных факторов, может являться механизмом, способствующим нейродегенеративным изменениям и формированию фенотипа БАС.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ в рамках проекта № 23-25-00286.

## ПОЛУЧЕНИЕ МАКРОФАГОВ СО СТАБИЛЬНЫМ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫМ ФЕНОТИПОМ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

П.А. Вишнякова<sup>1,2</sup>, Е.А. Ганцова<sup>2,3</sup>, В.В. Киселева<sup>1</sup>, И.В. Арутюнян<sup>2,3</sup>, И.И. Хан<sup>6</sup>, В.С. Покровский<sup>6</sup>, Э.Б. Дашинимаев<sup>4,5</sup>, А.В. Ельчанинов<sup>3,1,2</sup>, Т.Х. Фатхудинов<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> НМИЦ акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад.В.И. Кулакова, Москва, РФ

<sup>2</sup> НИИ молекулярной и клеточной медицины, РУДН, Москва, РФ

<sup>3</sup>НИИ морфологии человека им.акад. А.П.Авцына, РНЦХ им. акад. Б.Петровского, Москва, РФ

<sup>4</sup> РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва, РФ

<sup>5</sup> Московский физико-технический институт, Долгопрудный, РФ

<sup>6</sup> НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, Москва, РФ

e-mail: vpa2002@mail.ru

### Ключевые слова: макрофаги, клеточная терапия, рак молочной железы

Макрофаги – клетки врожденного иммунного ответа, способные к фагоцитозу и антигенпрезентации, ключевые участники тканевого гомеостаза как при физиологическом состоянии, так и при развитии различных патологических процессов. Известно, что в опухолевом микроокружении присутствуют в значительном количестве опухолеассоциированные макрофаги (Tumor-associated macrophages - TAM). Согласно современной концепции бинарной поляризации выделяют про- (M1) и противовоспалительные макрофаги (M2). M2 макрофаги путем ингибирования Т-клеточного противоопухолевого иммунного ответа и участия в ангиогенезе опухоли могут приводить к прогрессированию опухоли. С другой стороны, M1 макрофаги оказывают противоопухолевый эффект из-за антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности.

Цель работы – разработка нового способа клеточной противоопухолевой терапии на основе M1 поляризованных макрофагов на примере лечения рака молочной железы.

Для формирования устойчивого провоспалительного фенотипа макрофагов проведена генетическая модификация клеток на основе CRISPR/Cas системы с помощью лентивирусной трансдукции. После проведенного анализа M1 in vitro поляризации, для нокаута были выбраны гены (*Bin1*, *Ido1*, *Asic1*, *Sosc3*, *Socs1*, *Irf4*, *Irf5*). Была использована доставка конструкций в клетки линии THP1 (human leukemia monocytic cell line) на основе лентивирусов третьего поколения. После проведения сортировки по наличию репортера – зеленого флуоресцентного белка GFP в зараженных клетках, оценка нокаута клеток методом ПЦР в реальном времени показала значимое снижение уровня экспрессии гена *Asic1*. Применение зараженных нокаутных клеток в мышинной модели рака молочной железы показало снижение роста опухоли относительно контроля в одной из временных точек. Оценка маркера, характерного для клеточной пролиферации – Ki67 – методом иммуногистохимии показала значимое снижение – Ki67+ клеток в опухолях, лечение которых проводилось нокаутными клетками THP1. При этом уровень экспрессии гена *p53* снижен в этой группе незначимо. При анализе поверхностных маркеров методом проточной цитометрии в группе интереса, пролеченной нокаутными клетками, выявлено значимое увеличение панлейкоцитарного маркера CD45, моноцитарного маркера CD11b, макрофагального маркера CD68 и маркера провоспалительных макрофагов – CD86. Уровень экспрессии гена *CCR7*, характерного для M1 клеток, незначимо повышался при лечении THP1 M1 модифицированными клетками, при этом уровень экспрессии гена *TGFbeta* – маркер M2 макрофагов – незначимо снижался.

Результаты свидетельствуют об успешном проведении генетической модификации макрофагов для получения провоспалительного фенотипа, а также позволяют предположить эффективность клеточной терапии опухолевых заболеваний на основе M1 макрофагов.

*Работа поддержана грантом Российского научного фонда [номер гранта 22-15-00241].*

## ИЗУЧЕНИЕ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ВАРИАЦИЙ SARS-COV-2 В КАЗАХСТАНЕ ВО ВРЕМЯ ПАНДЕМИИ COVID-19

Ж.М. Досмағамбет<sup>1,2</sup>, Э.Р. Мальцева<sup>1</sup>, Ж.А. Бердыгулова<sup>1</sup>, Д.А. Найзабаева<sup>1</sup>, А.В. Жигайлов<sup>1</sup>, Ю.А. Скиба<sup>1</sup>

1- Филиал ТОО «Национальный центр биотехнологии»,  
Казахстан, 050054, Алматы, Жакангер 14

2 - Казахский национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова,  
Казахстан, 050012, Алматы, Толе би 94  
e-mail: zhaniya.dosmagambet@gmail.com

**Ключевые слова:** SARS-CoV-2, COVID-19, генотипирование, эпидемиология

Глобальное распространение, увеличение числа госпитализаций и смертей пострадавших людей сделали COVID-19 одной из крупнейших катастроф общественного здравоохранения за последние десятилетия. Анализ динамики распространения вируса необходим для идентификации «горячих точек» эпидемии и определения необходимости усиления мер контроля и мониторинга. Кроме того, изучение сроков распространения определенных вариантов вируса SARS-CoV-2 важно для своевременного принятия решений системой здравоохранения страны.

Назофарингеальные и орофарингеальные мазки от людей были получены в рамках проекта AP09259103. Выделение и детекцию вирусной РНК из образцов осуществляли набором М-Сорб-ООМ-96 (Синтол) для ОТ-ПЦР-РВ-SARS-CoV-2 на автоматической станции для извлечения нуклеиновых кислот (ВитаНова). Реакцию обратной транскрипции проводили с помощью SuperScript IV Reverse Transcriptase (Thermo FS), полимеразную цепную реакцию (ПЦР) - посредством высокоточной полимеразы Phusion High-Fidelity (Thermo FS), секвенирование ДНК по Сэнгеру проводили с помощью набора BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) по методике производителя, полногеномное секвенирование нового поколения (NGS) проводили на приборе MinION (Oxford Nanopore Technologies) по протоколу Midnight.

В ходе исследования было проведено генотипирование 200 образцов, содержащих РНК вируса SARS-CoV-2, с целью определения вариантов вируса, вызывающих озабоченность (variants of concern, VOCs). Были выявлены: один образец варианта бета (B.1.351), 37 образцов варианта альфа (B.1.1.7), 25 образцов варианта дельта (B.1.617+) и 39 образцов варианта омикрон (B.1.1.529), однако в проанализированной выборке не было выявлено варианта гамма (B.1.1.248). Касательно временной динамики обнаружения различных вариантов, вариант альфа (B.1.1.7) был выявлен впервые 27.01.2021 и через 2-3 недели, к 16.02.2021, стал преобладающим, в то время как вариант дельта (B.1.617+) был выявлен впервые 20.06.2021, став преобладающим всего через неделю, к 27.06.2021 г., при этом вариант омикрон (B.1.1.529), который был впервые выявлен 08.12.2021, стал преобладающим только через месяц, с 07.01.2022.

Исследование позволило изучить распространение различных вариантов вируса в Казахстане в небольшой выборке образцов, собранной преимущественно в г. Алматы. Полученные данные могут быть использованы для более полного сравнительного анализа распространения вариантов вируса SARS-CoV-2, вызывающих озабоченность, в Казахстане и в дальнейшем соотнесение этих результатов с мировой статистикой для информирования системы здравоохранения и её подготовки к возможным предстоящим эпидемическим событиям.

Исследование проводилось в рамках грантового финансирования AP09259103, финансируемого КН МНВО РК.

# ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕНОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ КОМБИНИРОВАННОГО ПРЕПАРАТА НА БУККАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ КРОЛИКА МЕТОДОМ МИКРОЯДЕРНОГО ТЕСТА

Д.Н. Исаева, К.С. Шойбек

*Научный центр противоинокционных препаратов,  
Казахстан, 050060, Алматы, Аль-Фараби 75а  
e-mail: diana.isaeva.99@inbox.ru*

**Ключевые слова:** комбинированный препарат, генотоксический эффект, буккальный эпителий, микроядра

В последние годы возрос интерес к разработке комбинированных лекарственных препаратов. Наличие двух и более действующих активных фармакологических веществ в одной лекарственной форме направлено на улучшение клинических исходов у пациентов. Основной целью доклинических исследований при разработке комбинированного лекарственного препарата является получение фармакологических, фармакокинетических и токсикологических данных по совместно применяемым действующим веществам, входящих в состав разрабатываемой комбинации. Токсикологические исследования позволяют установить свойства, не отмечающиеся при применении по отдельности комбинированных лекарственных препаратов.

Цель исследования - оценить цитотоксическое и генотоксическое действие лекарственного комбинированного препарата «КС (ПА) и амоксициллин» (субстанция) из расчета 50 мг/кг при субхроническом (14 дней) пероральном введении кроликам. Выбор дозы комбинированного препарата «КС (ПА) и амоксициллин» обусловлен тем, что данная концентрация не оказывает общетоксического влияния и проявляет эффективность при бактериальной контаминации легочной и почечной ткани у грызунов.

Для исследования были взяты 3 кролика породы Chinchilla (группа 1), которые получали разрабатываемый комбинированный препарат объемом 1,0 мл и 3 кролика, получавшие апиогенную воду (растворитель) (группа 0) в объеме 1,0 мл. Масса животных составляла  $2,3 \text{ кг} \pm 10\%$ . Цитологические препараты клеток полости рта получали соскабливаем стерильной ватной палочкой до введения растворов (0 день) и на 15 сутки от начала эксперимента. Полученные цитологические препараты окрашивали по Май-Грюнвальду и анализировали 1 500 клеток на наличие протрузии ядра, микроядер, конденсированного хроматина, вакуолизации ядра, кариорексис, кариопикноз и кариолизис с помощью микроскопа DM1000 (Leica, Германия) при 400-кратном увеличении (окуляр 10x и объектив 40x) с иммерсионным маслом.

Статистически анализ не выявил значимой разницы (U-критерий Манна-Уитни) в буккальных эпителиальных клетках внутри группы (до введения и после введения) и межгрупповых различий по всем анализируемым показателям. Так, количество микроядер составляло  $3,0 \pm 1,3$  у кроликов, получавших растворитель и  $4,1 \pm 1,0$  у кроликов, получавших разрабатываемый комбинированный препарат (различия статистически незначимы). Индекс относительных хромосомных aberrаций (RCAI) колебался от 0,75 до 0,85. Уровень выявленных изменений находился на уровне спонтанных изменений.

В ходе исследования комбинированный лекарственный препарат «КС (ПА) и амоксициллин» не проявил цито- и генотоксического действия.

Работа проведена при поддержке программно-целевого финансирования BR09460548 «Разработка новых противоинокционных препаратов на 2021-2023 годы» (Министерство здравоохранения Республики Казахстан).

## СЕРОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ КУ-ЛИХОРАДКИ НА ТЕРРИТОРИИ ЮЖНОГО РЕГИОНА КАЗАХСТАНА

М.М. Куатбек<sup>1,2</sup>, Е.О. Остапчук, А.М. Дмитриевский, А.С. Машжан,  
Э.Ж. Битанова, Ю.В. Перфильева

1 - Филиал ТОО «Национальный центр биотехнологии», Казахстан, 050054,  
Алматы, Жакангер, 14

2 - Казахский национальный медицинский университет им. С.Д.Асфендиярова,  
050012, Алматы, Толе би 94  
e-mail: moldirkuatbek698@gmail.com

**Ключевые слова:** *Coxiella burnetii*, коксиеллез, эпидемиология

Ку-лихорадка - инфекционное заболевание, вызываемое бактерией *Coxiella burnetii*, принадлежащей к отряду *Legionellales*. Передача патогена человеку происходит чаще всего при вдыхании аэрозолей от зараженных животных, в основном крупного рогатого скота, овец и коз, или употреблении зараженных продуктов, реже через укусы клещей. На данный момент отсутствует информация о распространённости данной инфекции среди людей в Казахстане, в том числе, в южных областях Республики, где, в настоящее время, идет интенсивное развитие животноводческой отрасли, являющейся фактором риска в отношении распространения лихорадки Ку.

Сбор образцов сыворотки периферической крови проходил в городских клиниках сертифицированным персоналом после получения информированного согласия пациента. Скрининг образцов на наличие антител к *C. burnetii* проводили с помощью наборов "ID Screen® Q Fever Indirect Multi-species" (IDVet, Франция). Сыворотки, показавшие положительный результат, тестировали на наличие антител к фазе I и фазе II *C. burnetii* с помощью наборов anti-Coxiella burnetii (Q-Fever) Phase 1 IgG Human ELISA и anti-Coxiella burnetii (Q-Fever) Phase 2 IgG Human ELISA (Abcam) в последовательных двухкратных разведениях от 1:100 до 1:3200. О хронической лихорадке судили по наличию антител к фазе I *C. burnetii* в разведении 1:1600 и выше, согласно CDC. Об острой лихорадке судили по наличию антител к фазе II *C. burnetii* в разведении сыворотки 1:100 и выше.

Собраны образцы сыворотки от 316 резидентов Жамбылской области и г. Тараз, также от пациентов с признаками хронического или острого коксиеллеза в Алматинской (120 пациентов) и Туркестанской (110 пациентов) областях. Общая превалентность антител класса IgG к антигенам *C. burnetii* составила 7.3% (33/446; 95% CI: 8,4–14,5%). Серопревалентность достоверно не различалась между исследуемыми областями и составила 7.8% (24/306) в Жамбылской области, 5.4% (6/110) в Туркестанской области и 11.1% (3/27) в Алматинской области. Часть сероположительных образцов из Туркестанской (14 образцов) и Жамбылской областей (24 образца) были далее протестированы на наличие антител к фазе I и фазе II. У трех жителей Жамбылской области выявлен положительный результат на наличие антител к фазе I *C. burnetii* при разведении сыворотки до 1:3200. У одного пациента из Туркестанской области выявлен положительный результат на наличие антител к фазе II *C. burnetii* при разведении сыворотки 1:100.

Таким образом, скрининг жителей Жамбылской, Туркестанской и Алматинской областей с сероположительными образцами, предполагает циркуляцию *C. burnetii* в южном регионе Республики. В Жамбылской и Туркестанской областях выявлены пациенты с хронической и острой инфекцией *C. burnetii*, что подчеркивает острую необходимость совершенствования эпидемиологического надзора за лихорадкой Ку в регионе.

## ПОЛИМОРФИЗМ *VgIII* ГЕНА *ITGA2* ПРИ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИИ В КАЗАХСТАНСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

А.Р. Магазова<sup>1,2</sup>, А.В. Балмуханова<sup>3</sup>, К.О. Шарипов<sup>2</sup>

1 - Алматинская многопрофильная клиническая больница,  
Казахстан, 050019, Алматы, Демченко 83б

2 - Институт молекулярной биологии и биохимии им М.А. Айтхожина,  
Казахстан, 050012, Алматы, Досмухамедова 86

3 - Международная школа медицины, Каспийский университет, Казахстан, 050000,  
Алматы, Сейфуллина 521  
e-mail: [magazova91@mail.ru](mailto:magazova91@mail.ru)

**Ключевые слова:** сахарный диабет 2 типа, диабетическая ретинопатия, интегринный рецептор  $\alpha 2\beta 1$ , полиморфизм *VgIII* гена *ITGA2*

Сегодня в мире каждый десятый из числа взрослого населения страдает сахарным диабетом. Диабетическая ретинопатия (ДР) – наиболее частое микрососудистое осложнение сахарного диабета 2 типа (СД2) и ведущая причина приобретенной слепоты у людей среднего возраста во многих странах. Повышенное тромбообразование, наблюдаемое у больных диабетом, считается одной из основных причин сосудистых осложнений, в том числе ДР. По данным литературы, полиморфизм  $\alpha$ -субъединицы интегринного рецептора  $\alpha 2\beta 1$  (кодируемого геном *ITGA2*) играющего важную роль на начальных этапах свертывания крови, может быть рискован фактором развития ДР.

С целью проверить гипотезу о связи полиморфизма *VgIII* гена *ITGA2* с предрасположенностью к ДР у пациентов с СД2 в казахстанской популяции сравнили частоты аллелей и генотипов 94 больных ДР, 94 больных СД2 без ДР и 51 здорового контроля. Генотипирование проводили методом ПЦР-ПДРФ. Изученные группы больных СД2 достоверно не отличались по демографическим и клиническим характеристикам, за исключением длительности заболевания (пациенты ДР в среднем дольше болели диабетом чем пациенты СД2 без ДР,  $P = 3.59 \cdot 10^{-5}$ ). Во всех изученных группах распределение генотипов соответствовало равновесию Харди-Вайнберга. Различия в частотах аллелей и генотипов между больными ДР и больными СД2 без ДР были статистически недостоверными. Однако, обе группы больных СД2 достоверно отличались от здоровых контролей по частотам аллелей ( $P = 0.021$  и  $0.002$ , соответственно) и генотипов ( $P = 0.042$  и  $0.005$ , соответственно). Аллель *VgIII*- была достоверно ассоциирована с диабетом,  $OR = 1.81$  [95%CI: 1.09–2.99] для группы больных ДР, и  $OR = 2.24$  [95%CI: 1.34–3.75] для группы СД2 без ДР. Ассоциация также наблюдалась при сравнениях в подмножестве казахов.

Следует отметить заметное преобладание генотипа *VgIII*+/+ у больных ДР по сравнению с больными СД2 без ДР (10 против 4). Учитывая сниженную частоту встречаемости аллеля *VgIII*+ у казахстанских больных СД2, вполне вероятно, что ограниченный размер выборки не позволил нам выявить статистически достаточное количество гомозигот *VgIII*+/+ для выявления ассоциации с ДР. Поэтому необходимы дальнейшие исследования на более крупной выборке.

Резюмируя вышесказанное, мы не выявили ассоциаций между полиморфизмом *VgIII* гена *ITGA2* и ДР в популяции Казахстана, что не согласуется с некоторыми более ранними исследованиями. В нашей работе, мы впервые показали, что данный полиморфизм может быть ассоциирован не только с ДР, но и непосредственно с СД2. Согласно нашим данным, рискованной для диабета является дикая аллель *VgIII*–, а не минорная *VgIII*+, которая считается рискованной для ДР. Несоответствие наших данных предыдущим работам на других популяциях мира подтверждает тезис о сложности генетической архитектуры СД2 и его микрососудистых осложнений.

## ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ МАТРИКСОВ НА ОСНОВЕ ПОЛИЛАКТОГЛИКОЛИДА С АДЕНОВИРУСНЫМИ ВЕКТОРАМИ

В.О. Мокроусова<sup>1,2</sup>, И.А. Недорубова<sup>1,2</sup>, М.А. Хворостина<sup>1,3</sup>, А.Ю. Меглей<sup>1,2</sup>, В.П. Басина<sup>1</sup>, В.К. Попов<sup>3</sup>, Т.Б. Бухарова<sup>1,2</sup>, Д.В. Гольдштейн<sup>1</sup>, А.А. Кулаков<sup>2</sup>

1 - Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова, 115522, Москва, ул. Москворечье 1

2 - ФГБУ НМИЦ "ЦНИИСиЧЛХ" МЗ России, 119021, Москва, ул. Тимура Фрунзе, 16

3 - ФНИЦ «Кристаллография и фотоника РАН», 119333, Москва, Ленинский пр., д. 59  
e-mail: victoria-mok@yandex.ru

**Ключевые слова:** ген-активированные матриксы, аденовирусные векторы, BMP-2, полилактогликолид

В настоящее время одним из перспективных методов восполнения дефектов костной ткани является использование биорезорбируемых трехмерных матриксов, содержащих аденовирусные конструкции с генами остеоиндукторов. Такие ген-активированные матриксы (ГАМ) имеют заданную архитектуру и обеспечивают сохранение биологических свойств генетических конструкций.

Цель работы - *in vitro* исследование свойств трехмерных полилактогликолидных матриксов, содержащих аденовирусные векторы с геном *GFP*.

Для создания матриксов использовали полилактогликолид (PLGA) с соотношением звеньев лактид/гликолид - 75/25. Сетчатые PLGA матриксы с характерным диаметром волокна 350±20 мкм были сформированы методом антисольвентной трехмерной (3D) печати при 25°C.

Цитотоксичность PLGA матриксов исследовали при культивировании с мультипотентными мезенхимальными стромальными клетками жировой ткани крыс (ММСК) в течение 14 суток методом МТТ-теста и путем окрашивания клеток флуоресцентными красителями с целью выявления живых и мертвых ММСК. Для получения ГАМ PLGA матриксы смачивали в суспензии аденовирусных частиц с геном *GFP* (Ad-*GFP*) в течение 24 ч. При культивировании ММСК в присутствии ГАМ оценивали число клеток, трансдуцированных аденовирусными векторами, высвободившимися из матриксов, при помощи флуоресцентной микроскопии. Для определения кинетики высвобождения аденовирусных частиц из ГАМ, матриксы инкубировали в физиологическом растворе в течение трех недель и измеряли концентрацию вирусной ДНК на спектрофотометре при 260 нм.

Показано отсутствие цитотоксического действия матриксов на основе PLGA. Не обнаружено статистически значимых различий в количестве жизнеспособных ММСК культивируемых 14 суток в присутствии матриксов по сравнению с контролем. Ген-активированные 3D матриксы на основе PLGA обеспечивают полное высвобождение аденовирусных частиц с геном *GFP* в течение недели. Высвобождение порядка 30% векторов происходит за первые сутки, а к 4 дню этот показатель достигает 95%. При этом аденовирусные частицы с геном *GFP*, высвобождающиеся из матриксов, эффективно трансдуцируют клетки на протяжении 7 суток.

Исследованные PLGA матриксы обладают высокой биологической совместимостью. Аденовирусные вектора, высвобождающиеся из ГАМ, эффективно трансдуцируют клетки. Антисольвентная 3D-печать матричных структур из раствора полилактогликолида является перспективным методом для создания трехмерных персонализированных ген-активированных остеопластических материалов.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 22-15-00425).*

## ИЗУЧЕНИЕ АБЕРРАНТНОЙ РЕПАРАЦИИ ИНИЦИИРУЕМОЙ МИСМЭТЧ-СПЕЦИФИЧЕСКИМИ АДЕНИН-ДНК ГЛИКОЗИЛАЗАМИ

У.Б. Сарсенбаева<sup>1,2</sup>, А.Э. Алмасбекова<sup>2</sup>, М.К. Сапарбаев<sup>3</sup>, К.О. Шарипов<sup>1,2</sup>

1 - Институт молекулярной биологии и биохимии им. М.А. Айтхожина

2 - КазНМУ им. С.Д.Асфендиярова

3 - Университет Париж-Саклэ, Густав Русси, Франция, Вильжюиф

e-mail: [ulansarsenbayeva@gmail.com](mailto:ulansarsenbayeva@gmail.com)

**Ключевые слова:** окислительный стресс, бактериальная и человеческая Аденин-ДНК гликозилаза, репарация, мутация, белки MutY и MUTYH

Окислительный стресс является одной из основных причин возрастных дегенеративных заболеваний у людей. Во время старения стареющие неделяющиеся клетки накапливают окислительные повреждения ДНК. Интересно, что в клетках с дефектной репарацией и при определенных обстоятельствах мисмэтч-специфические Аденин-ДНК гликозилазы MutY в бактериях и MUTYH у человека могут действовать в абберрантной манере: MutY и MUTYH могут удалять неповрежденный аденин напротив ошибочно встроенного в процессе репликации 8-оксогуанина. Такая абберрантная репарация приводит к мутации путем трансверсии А•Т→С•G или к перманентному репарационному синтезу на поврежденной матрице.

Целью исследования является изучение абберрантной репарации, катализируемой Аденин-ДНК гликозилазами, и их влияние на онкологические заболевания. Эксперименты будут проводиться на рекомбинантных белках и лабораторных штаммах *Escherichia coli*. Задачей работы является реконструирование репарации ДНК *in vitro* с использованием очищенных ДНК-гликозилаз MutY и MUTYH. При этом мы будем использовать радиоактивно меченые синтетические ДНК-субстраты. Эффективность репарации ДНК будет измерена с помощью анализа ДНК продуктов в денатурирующем полиакриламидном геле последующей процедурой фосфоизображения.

Результаты многих наблюдений показывают, что в дополнение к накоплению окислительных повреждений ДНК в стареющих организмах, абберрантная репарация ДНК может также способствовать преждевременному старению и возрастным заболеваниям, таким как рак и нейродегенеративные заболевания. Мы предполагаем, что удаление окислительных повреждений ДНК в неделящихся дифференцированных клетках млекопитающих может происходить в абберрантной манере, в результате чего могут генерироваться и накапливаться мутантные белки в отсутствие репликации ДНК и деления клеток. Поэтому, мы исследуем абберрантную репарацию моно-функциональных Аденин-ДНК гликозилаз MutY и MUTYH на ДНК-дуплексе, содержащем окисленные основания и объемные ДНК аддукты. Эти анализы позволят нам установить роль абберрантной репарации в фиксации мутаций и характеризовать спектр мутаций, вызванных человеческими ДНК-гликозилазами.

## МИКРОРНК КАК БИОМАРКЕР ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИИ

К.С. Саткен<sup>1</sup>, А.Р.Магазова<sup>1,2</sup>, А.О. Абайлдаев<sup>1</sup>, Е.Е. Аширбеков<sup>1</sup>, К.О. Шарипов<sup>1</sup>

1 - *Институт молекулярной биологии и биохимии им М.А. Айтхожина, Казахстан, 050012, Алматы, Досмухамедова, 86*

2 - *Алматинская многопрофильная клиническая больница, Казахстан, 050019, Алматы, Демченко, 836  
e-mail: hdeathless@gmail.com*

**Ключевые слова:** диабетическая ретинопатия, микроРНК, экзосомы, биомаркер, диагностика

Диабетическая ретинопатия (ДР) – осложнение сахарного диабета (СД), является одной из основных причин необратимой слепоты во всем мире. ДР развивается в результате повреждения мелких кровеносных сосудов сетчатки из-за длительной гипергликемии в крови у людей с диабетом.

Существующие методы лечения ДР могут предотвратить или замедлить потерю зрения, однако часто выявить начальный момент заболевания не представляется возможным. Сложности в диагностике ДР определяются бессимптомностью протекания заболевания на ранних стадиях и неоднородностью клинических признаков, что определяет высокие квалификационные требования к врачу-офтальмологу. Это служит основанием для поиска и изучения биомаркеров, способных помочь в раннем выявлении, диагностике и прогностике ДР для более эффективной терапии.

Целью исследования явилось определение диагностической ценности циркулирующей микроРНК при ДР в казахстанской популяции. Для этого мы провели сравнительный анализ плазменной экзосомальной микроРНК методом количественной ПЦР между двумя группами: 30 пациентов СД 2 типа с клинически подтвержденным диагнозом ДР и 15 пациентов СД 2 типа без ДР (группа контроля). Для анализа по литературным данным были отобраны 28 кандидатных микроРНК. Относительная количественная оценка проведена методом  $\Delta\Delta Ct$  с применением U-критерия Манна-Уитни, при  $P < 0.05$  различия считались статистически значимыми. Характеристики маркеров оценивались по результатам ROC-анализа.

Содержание всех изученных микроРНК достоверно не отличались у больных ДР по сравнению с пациентами СД без ДР. Сравнительный анализ с учетом клинко-патологических параметров показал, что уровень miR-132-3p был достоверно понижен у больных с непролиферативной ДР (НПДР) по сравнению с больными СД без ДР ( $P = 0.045$ ), уровень miR-20a-5p был достоверно повышен у больных с пролиферативной ДР (ПДР) по сравнению с больными с предпролиферативной ДР (ППДР) ( $P = 0.015$ ) и больными ДР без ПДР (НПДР+ППДР) ( $P = 0.007$ ). Уровень miR-93-5p был достоверно повышен у больных ДР с макулярным отеком (ДМО) по сравнению с больными ДР без ДМО ( $P = 0.045$ ).

Далее, мы провели оценку микроРНК, показавших дифференциальную экспрессию, в качестве классификаторов в четырех моделях разделения. Разделение больных СД без ДР и больных с НПДР можно рассматривать как модель ранней диагностики ДР, однако ROC-анализ показал удовлетворительную оценку для miR-132-3p (AUC= 0.79, ДИ 0.58–0.99). miR-20a-5p позволяла на хорошем уровне различать больных ПДР от больных ППДР (AUC= 0.82; ДИ 0.63–1.02) и от больных на ранних стадиях ДР (НПДР+ППДР) (AUC= 0.80; ДИ 0.64–0.96). miR-93-5p немного не достигала уровня хорошего классификатора при выявлении ДМО у больных ДР (AUC= 0.79; ДИ 0.62–0.98). Наше исследование показало, что, вразрез с имеющимся литературными данными, циркулирующие микроРНК имеют низкий потенциал в качестве биомаркеров ДР в казахстанской популяции.

## ГИБРИДНЫЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ИМПРИНТИРОВАННЫЕ ПОЛИМЕРЫ НА ОСНОВЕ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ ДЛЯ БИМЕДИЦИНСКИХ ПРИМЕНЕНИЙ

А.Ю. Седельникова<sup>1,2</sup>, Е.В. Дмитриенко<sup>1,2</sup>

1 - Новосибирский государственный университет, РФ, 630090, Новосибирск, Пирогова 2

2 - Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, РФ, 630090,

Новосибирск, академика Лаврентьева 8

e-mail: a.sedelnikova@g.nsu.ru, elenad@niboch.nsc.ru

**Ключевые слова:** молекулярно-импринтированные полимеры, магнитные наночастицы, специфическое распознавание, нейлон-6

Актуальной задачей современных исследований является разработка эффективных систем для биомедицинских применений, включающих диагностику, терапию и доставку лекарственных препаратов. Специфичность и управляемость – важные критерии, которые должны выполняться для таких конструкций. Создание гибридных материалов и использование комбинированного подхода позволяют объединить преимущества отдельных компонентов в одной системе и достичь синергетического эффекта. Основываясь на перспективности использования композитов, в данной работе представлен простой и удобный подход к получению специфических магнитных наноматериалов на основе наночастиц магнетита и молекулярно-импринтированного полимера для биомедицинских применений.

Размеры и морфологические характеристики полученных материалов определены методами динамического светорассеяния, просвечивающей электронной микроскопии и атомной силовой микроскопии. Химический состав как отдельных компонентов, так и итоговой системы подтверждён инфракрасной спектроскопией с преобразованием Фурье. Различные стадии формирования и изучения свойств композитов проанализированы с помощью УФ-видимой спектроскопии.

В ходе работы получен гибридный магнитный молекулярно-импринтированный полимер (ММИП) на основе биосовместимого полимера нейлона-6 и наночастиц Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>. Подобран оптимальный состав реакционной смеси для получения эффективных ММИП с достаточными магнитными свойствами для управления системой под действием внешнего магнитного поля. Определено строение и размерные характеристики полимерного материала, находящиеся в нанометровом диапазоне. При сравнении ММИП с неимпринтированным аналогом продемонстрирована прекрасная адсорбционная способность импринтированного нанокомпозита (110 мкмоль/г), сродство с константой диссоциации  $\sim 10^{-7}$  М, а также значительно более высокая специфичность по отношению к модельному молекулярному шаблону, в роли которого выступал метиленовый синий, являющийся мощным фотосенсибилизатором. Доказана селективность полученных ММИП в сравнительных экспериментах по связыванию со структурными аналогами молекулы-шаблона. Исследована возможность повторного использования гибридного материала при проведении нескольких циклов поглощения и высвобождения метиленового синего, в которых наблюдалась практически идентичная экстракционная способность. Продемонстрирована высокая эффективность ММИП при взаимодействии с реальными образцами водных растворов в присутствии различных примесей.

Предложенный в данной работе подход к получению ММИП перспективен для использования в биомедицинских целях благодаря физико-химическим свойствам, таким как нанометровый размер, стабильность, управляемость внешним магнитным полем, высокая сорбционная способность, а также специфичность и селективность по отношению к молекулярному шаблону.

## ВОДНЫЕ ВЫТЯЖКИ ИЗ РАСТЕНИЙ РОДА *FILIPENDULA* КАК КОМПОНЕНТ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ПРОДУКТОВ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ПИТАНИЯ

Е.В. Соколова, Т.А. Кроль, Ю.М. Минязева, Д.Н. Балеев

Всероссийский институт лекарственных и ароматических растений, Москва, Россия  
e-mail: eka9739@yandex.ru

**Ключевые слова:** *Filipendula*, водные вытяжки

Развитие в области нутрицевтических продуктов питания привело к толчку в изучении полифенольных соединений растительного происхождения. Растения рода *Filipendula* (*Rosaceae*) относятся к терапевтическим и демонстрируют широкий спектр применения в приготовлении продуктов питания. Перечень нарушений здоровья человека, при которых используются эти растения, включает преимущественно воспалительные заболевания, в то время как другие области терапевтических свойств изучены недостаточно.

Целью данного исследования было изучение влияния водных вытяжек (водная экстракция из измельчённого растительного сырья при 92.5°C в течение 15 мин) из цветков и листьев растений рода *Filipendula* на коагуляцию крови. Объектом исследования были листья и цветки четырех видов растений рода *Filipendula* – *F. stepposa*, *F. palmata*, *F. ulmaria*, *F. camtschatica*. Изучение аниткоагулянтных свойств экстрактов проводили с помощью тестов активированного частичного тромбопластинного времени (АЧТВ) и протромбинового времени (ПТВ).

Анализ общего содержания фенольных соединений выявил, что экстракты цветков содержали большее количество фенольных соединений, чем экстракты листьев, особенно это заметно для экстрактов *F. palmata* (109 экв галловой кислоты мг/г сухого веса для листков и 380 экв галловой кислоты мг/г сухого веса для цветков). В то же время результаты анализа суммарного содержания флавоноидов показали наличие влияния вида растения, но не органа (цветок/лист). Экстракты *F. camtschatica* и *F. stepposa* содержали меньшее количество флавоноидов, чем растения других изучаемых видов.

Наши результаты показали, что водные вытяжки цветков растений рода *Filipendula* были сильными ингибиторами внутреннего пути коагуляции в АЧТВ тесте, по сравнению с экстрактами из листьев. Наиболее сильное ингибирующее действие было продемонстрировано вытяжками цветков *F. camtschatica* (наблюдалось двухкратное увеличение АЧТВ), но оно было ниже действия положительного контроля гепарина.

Влияние вытяжек из листьев и цветков на внешний путь коагуляции оценивали с помощью теста протромбинового времени (ПТВ), в котором экстракты из листьев были менее эффективными ингибиторами ПТВ, чем из цветков. Водные экстракты цветков *F. camtschatica* показали самое сильное ингибирование ПТВ (четырёхкратное увеличение времени коагуляции в сравнении с отрицательным контролем).

Таким образом, *F. stepposa*, *F. palmata*, *F. ulmaria*, *F. camtschatica* являются перспективными видами, с точки зрения, поиска пищевых ресурсов растительного происхождения для создания продуктов питания с антикоагулянтными свойствами.

Работа выполнена согласно Государственному заданию по теме FGUU-2022-0013.

## ПОИСК КАНДИДАТНЫХ МИКРОРНК НА РОЛЬ БИОМАРКЕРА ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ РАКА ЛЕГКОГО И ТУБЕРКУЛЕЗА

Н.Х. Хамитова<sup>1</sup>, Д.Қ. Қадірше<sup>2</sup>, Қ.С. Саткен<sup>2</sup>, А.О. Абайлдаев<sup>2</sup>,  
Е.Е. Аширбеков<sup>2</sup>, Г.А. Утегенова<sup>2,3</sup>

- 1 - КазНМУ им. С.Д. Асфендиярова», Казахстан, 050012, Алматы, Толе би 94  
2 - Институт молекулярной биологии и биохимии им. М.А. Айтхожина, Казахстан,  
050012, Алматы, Досмухамедова 86  
3 - ЮКГПУ им. У. Жанибекова, Казахстан, 160012, Шымкент, Байтурсынова 13  
e-mail: nazgul2608@mail.ru

### **Ключевые слова:** МикроРНК, рак легких, туберкулез, биомаркер

Туберкулез (ТБ) и рак легкого (РЛ) являются одними из наиболее актуальных медико-социальных проблем во всем мире. Для обоих заболеваний своевременность постановки диагноза является ключевым фактором успешности лечения. Однако, при отрицательном бактериовыделении у пациента, из-за схожести клинико-рентгенологической картины возникают трудности в дифференциальной диагностике, что приводит к задержке постановки правильного диагноза. Существующие инструментальные методы забора биопсийного материала из тканей легкого являются довольно травматичными процедурами и могут привести к серьезным осложнениям. Перечисленные трудности являются основанием для поиска новых малоинвазивных методик диагностики. Исследования показали, что содержание микроРНК (миРНК) в биожидкостях организма может изменяться при многих паталогических состояниях, особенно при онкологии, и поэтому циркулирующие миРНК рассматриваются как перспективные малоинвазивные биомаркеры заболеваний.

С целью поиска кандидатных миРНК на роль биомаркера дифференциальной диагностики РЛ и ТБ в казахстанской популяции проведен сравнительный количественный анализ 188 микроРНК между 5 объединенными образцами плазмы 5 исследуемых групп: 10 пациентов с плоскоклеточной карциномой (ПК), 10 пациентов с аденокарциномой (АК), 9 пациентов с мелкоклеточной карциномой (МК), 10 пациентов с ТБ и 10 здоровых доноров (контроли). Относительную количественную оценку проводили методом  $\Delta\Delta C_t$ , в качестве нормализатора использовали экзогенный контроль *ath-miR-159a*. Четырехкратные различия ( $\log_2$  fold change  $\geq 2$ ) на повышение и 3,25-кратные различия на понижение ( $\log_2$  fold change  $\geq 1,7$ ) считали значимыми.

По результатам анализа по сравнению с контролями у пациентов МК 29 миРНК были повышены (из них 15 специфичных, не выявленных в других группах), у пациентов АК 17 миРНК были повышены (5 специфичных), у пациентов ПК 14 миРНК были повышены (2 специфичных) и 1 миРНК понижена, у пациентов ТБ 2 миРНК были повышены и 6 миРНК понижены (4 специфичных). Наряду с этим, у пациентов РЛ (ПК+АК+МК) 7 миРНК были повышены по сравнению с пациентами ТБ и контролями (и поэтому могут рассматриваться как потенциальные биомаркеры РЛ), у пациентов ТБ 3 миРНК были понижены по сравнению с пациентами РЛ и контролями (потенциальные биомаркеры ТБ), у контролей 1 миРНК была понижена по сравнению со всеми группами пациентов (потенциальный биомаркер условно здоровых доноров).

Учитывая выраженность различий в содержании миРНК между сравниваемыми группами, общую представленность транскрипта в плазме, качество амплификационных кривых (т.е. эффективность реакции) мы отобрали 14 кандидатных миРНК: 6 для МК, 1 для АК, 1 для РЛ, 3 для РЛ, 2 для ТБ и 1 для условно здоровых доноров. Для валидации полученных результатов отобранные миРНК будут протестированы сначала на этой же выборке отдельных образцов, а затем на расширенной выборке.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИНТЕРВАЛЬНЫХ ГИПОКСИЧЕСКИХ ТРЕНИРОВОК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГИПОКСИКАТОРА «ЭВЕРЕСТ-1»

А.М. Холова

*КазНУ имени Аль-Фараби, Казахстан, 050040, Алматы, Аль-Фараби 71  
e-mail: a-kholova@inbox.ru*

**Ключевые слова:** ИГТ, гипоксия, гипоксические тренировки, психологическое тестирование, гипоксикатор «Эверест-1»

Интервальные гипоксические тренировки (ИГТ) представляют собой перспективное направление в спорте и медицине, которое способствует обеспечению физической подготовки и адаптации к стрессовым условиям. Кроме того, недавние исследования показали, что ИГТ не оказывают негативного воздействия на нейрофизиологические и психомоторные процессы.

Цель исследования: провести оценку воздействия интервальных гипоксических упражнений на психомоторные способности человека.

Для проведения исследования использовался гипоксикатор «Эверест-1», позволяющий контролировать уровень гипоксии воздуха, которым дышит спортсмен во время тренировки. Психологическое тестирование проводилось с использованием тестов на логическое мышление, наблюдение за вниманием и состоянием, распознавание образов, распознавание чисел, активность нейронных связей и зрительно-моторную реакцию. Данные собирались с использованием программного обеспечения «Психотест» от компании «Нейрософт».

Анализ результатов исследования выявил следующие важные моменты:

- В тестах на логическое мышление и распознавание образов произошло значительное увеличение числа испытуемых, достигших высоких результатов, после проведения ИГТ. Доля лиц, достигших самых высоких результатов, увеличилась с 15-17% до 80%, доля лиц, достигших результатов, среднего уровня увеличилась с 10% до 60%.

- В тесте на распознавание чисел более половины испытуемых получили высокие результаты после проведения ИГТ, процент низких результатов снизился на 47%.

- При тестировании визуально-моторной реакции наблюдалось увеличение процента испытуемых, достигших самых высоких результатов, после ИГТ с 38% до 60%, а скорость зрительно-моторной реакции увеличилась на 22%.

Эти результаты указывают на положительное воздействие ИГТ на психомоторные способности испытуемых. Дальнейшие исследования могут быть направлены на изучение нейрофизиологических механизмов этого положительного воздействия и определение оптимальных схем тренировок с использованием ИГТ.

# ПОЛУЧЕНИЕ ДНК-АПТАМЕРОВ И СОЗДАНИЕ КОЛОРИМЕТРИЧЕСКИХ СИСТЕМ НА ИХ ОСНОВЕ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ БЕЛКА DKK-1 ПРИ АНКИЛОЗИРУЮЩЕМ СПОНДИЛИТЕ

Е.А. Шатунова<sup>1</sup>, М.А. Королев<sup>1,2</sup>, М.А. Воробьева<sup>1</sup>

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

2 - *НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФИЦ Институт  
цитологии и генетики СО РАН, РФ, 630060, Новосибирск, ул. Тумакова, д.2  
e-mail: lizashatunova@yandex.ru*

**Ключевые слова:** аптамеры, Dickkopf-1, анкилозирующий спондилит, болезнь Бехтерева

Воспалительный процесс при ревматических заболеваниях, в частности при болезни Бехтерева (анкилозирующем спондилите), сопровождается патологическими изменениями в структуре костной ткани. В качестве маркера для мониторинга развития структурной прогрессии интерес представляет сывороточный белок Dickkopf-1 (DKK-1) – ингибитор Wnt-сигнального пути активации остеобластов. Перспективным подходом к детекции DKK-1 в сыворотке является создание тест-систем на основе аптамеров – синтетических РНК или ДНК, способных связывать молекулу-мишень с высоким сродством и селективностью.

Целью работы было получение аптамеров к DKK-1 и создание колориметрической системы детекции на их основе для определения уровня данного белка в сыворотке больных анкилозирующим спондилитом.

Для получения аптамеров использовали направленный отбор из комбинаторной библиотеки ДНК. Особенностью используемой библиотеки стал заранее заданный паттерн чередования пиримидиновых и пуриновых нуклеотидов. При этом каждая пиримидиновая позиция паттерна была дополнительно допирована небольшой долей пуриновых нуклеотидов и наоборот. Такой подход повышает вероятность формирования эффективных для связывания структур при сохранении высокой степени разнообразия. Белок DKK-1 иммобилизовали на магнитные частицы, каждый раунд отбора включал стадию «негативной» селекции для удаления фракции ДНК, связывающей носитель. За 4 раунда отбора была получена обогащённая библиотека ДНК, обладающая выраженным сродством к мишени.

На основе результатов секвенирования обогащенной библиотеки была выбрана для синтеза серия кандидатных аптамеров. Для оценки их аффинности использовали колориметрический метод с нековалентной иммобилизацией DKK-1 в лунки планшета. Аптамеры DK1, DK2, DK3, DK4 показали высокое сродство к DKK-1 со значениями констант диссоциации в диапазоне 1.3-3.7 нМ. С использованием рационального дизайна, основанного на моделировании наиболее вероятных вторичных структур, была сформирована, синтезирована и охарактеризована серия укороченных вариантов аптамеров DK1, DK2, DK4, сохранивших сродство к мишени при сокращении числа нуклеотидных звеньев.

Полученный аптамер DK4, ранее опубликованный аптамер TD10 и антитела к DKK-1 использовали для конструирования ИФА-подобных сэндвич-систем для колориметрической детекции DKK-1. В модельных условиях сэндвич-системы формата «аптамер/антитело» с аптамерами DK4 или TD10 позволяют определять DKK-1 в диапазоне 0.156-10 нг/мл. Данную систему использовали для анализа образцов сыворотки больных анкилозирующим спондилитом. Применение пары аптамер/антитело позволило получить согласующиеся с классическим ИФА результаты.

Работа поддержана грантом РНФ и правительства Новосибирской области № 22-15-20050.

# НАЗНАЧЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-НАПРАВЛЕННОЙ ТЕРАПИИ НА ОСНОВАНИИ ДАННЫХ ГЕНОМНОГО ПРОФИЛИРОВАНИЯ ПАЦИЕНТАМ С РАСПРОСТРАНЕННЫМИ ФОРМАМИ СОЛИДНЫХ ОПУХОЛЕЙ В УСЛОВИЯХ РЕАЛЬНОЙ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКИ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

П.С. Шило<sup>1</sup>, М.Л. Степанова<sup>2</sup>, А.А. Захаренко<sup>3</sup>

1 - ООО "Лахта клиника", Санкт-Петербург

2 - ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический) имени Н.П. Напалкова»

3 - Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова

e-mail: polinashilo0@gmail.com

**Ключевые слова:** прецизионная медицина, онкология, геномное профилирование

Выполнение геномного профилирования и назначение молекулярно-направленной терапии пациентам с распространенными солидными опухолями и исчерпанными возможностями лекарственной терапии может улучшать прогноз и вероятность ответа на терапию. Целью данной работы являлся анализ частоты назначения молекулярно-направленной терапии пациентам с распространенными формами онкологических заболеваний в условиях реальной клинической практики в Российской Федерации.

В исследование были включены данные 106 пациент с распространенными формами солидных опухолей, которые проходили лечение и наблюдались в клинике Лахта в Санкт-Петербурге, РФ с 2019 по 2023 гг. Всем пациентам было выполнено геномное профилирование – таргетное секвенирование с использованием панелей более 100 генов. Проведен анализ мутационного профиля опухолей и данные о назначении молекулярно-направленной терапии.

Геномное профилирование было выполнено пациентам с раком молочной железы (n=32, 30.2%), опухолями желудочно-кишечного тракта (n=29, 27.4%), гинекологическими опухолями (n=17, 16.0%) и другими локализациями (n=28, 26.4%). По меньшей мере одно клинически важное биологическое событие было обнаружено у 38 (35.8%) пациентов, и у 17 (16.0%) из них альтерация оказалась потенциально таргетируемой. Молекулярно-направленная терапия на основании данных выполненного геномного профилирования была назначена 6 пациентам, то есть в 35.3% случаев при условии выявления потенциально таргетируемой альтерации и в 5.7% случаев от числа всех пациентов, которым было выполнено геномное профилирование.

Геномное профилирование позволяет идентифицировать дополнительные потенциально таргетируемые альтерации для назначения молекулярно-направленной терапии, однако данная терапия назначается не во всех случаях при идентификации мишеней. Необходимы дополнительные проспективные исследования для оценки целесообразности внедрения данного подхода в реальную клиническую практику.

5

SECTION / БӨЛІМ / СЕКЦИЯ

BIOTECHNOLOGY / БИОТЕХНОЛОГИЯ / БИОТЕХНОЛОГИЯ

## SEARCH FOR INFLUENCE FACTORS IN LACTOBACILLI WITH PROBIOTIC PROPERTIES ISOLATED FROM TRADITIONAL KAZAKH FOODS

**A. Abilkhadirov, A. Satenova, M. Urazova, A. Tuyakova, S. Shaikhin, A. Khalymbetova**

*Republican collection of microorganisms, 010000, 13/1 Valikhanov Str.,  
Astana, Kazakhstan  
e-mail: good\_alien@mail.ru, aiscor87@mail.ru*

**Key words: probiotic properties, protein factor, lactobacilli, food security, intestinal microflora**

The relevance of the work is determined by the importance of searching for lactobacilli protein factors that perform adhesive and/or signal functions, by analogy with homologous proteins of pathogenic and commensal/probiotic bacteria and classified as functional factors. The goal is to study the molecular mechanisms of probiotic action implemented with the protein factors produced by probiotic lactobacilli, to solve the problems of creating new synbiotics and postbiotics from traditional Kazakh food products.

Protein factors of probiotic action (action factors, AF) were isolated from lactobacilli that live in traditional Kazakh food products and have pronounced probiotic properties. AFs were fractionated from cell-free supernatants of four lactobacilli by saline extraction and column chromatography, then detected by Western blotting, and identified by enzymatic activity.

The AFs were found to perform adhesive functions like homologous proteins of probiotic bacteria. Three of the AF proteins, namely: ENO, GAPDH, and p66/DNA, are moonlighting proteins of adhesion to mammalian body components human plasminogen and porcine mucin, two proteins are muramidases P40 and P75, and all five proteins are classified as potential probiotic action factors.

The practical significance of the results of this study lies in the possibility of their application in planning and carrying out activities in the field of ensuring food security in Kazakhstan. The prospects for further research lie in the need to find effective ways to isolate lactobacilli and their action factors from traditional food products to study the intestinal microflora and improve the quality of bacterial diagnosis of diseases of the gastrointestinal tract.

This research is funded by the Science Committee of the Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Kazakhstan (Grant No. BR18574066; Grant No. AP09260001).

## PHYTIC ACID ANALYSIS OF SOYBEAN SEEDS GROWN IN THE SOUTH-EAST OF KAZAKHSTAN

**B.N. Doszhanova**<sup>1,2</sup>, **E. Satou**<sup>3</sup>, **T. Suzuki**<sup>3</sup>, **Y. Turuspekov**<sup>1,2</sup>

1 - *Institute of plant biology and biotechnology, Kazakhstan, Almaty*

2 - *Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty*

3 - *Hokkaido Research Organization, Japan*

*e-mail: sybanbaeva\_bota@mail.ru*

**Key words: soybean, phytic acid, DNA markers, genome-wide association study**

Soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] is the major crop worldwide and its seed is important source of edible protein, oil and carbohydrates. According to the USDA report, the largest soybean production countries are Brazil, the United States of America and Argentina. Kazakhstan nowadays is in top of 40 countries exporters soybean and broad lands for soybean plants every year.

Phytic acid (PA) is the major storage of seed phosphate (P). During seed maturation, it forms indigestible chelates with Zn<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>. These forms reduce bioavailability of essential micronutrients and resulting in deficiency in human and monogastric animal dietary. Despite low PA (lpa) soybean plants are highly desirable and can increase the nutritional seed quality, they have negative pleiotropic effects in seed emergence, germination and plant development. Hence, it's crucial to maintain a low-PA concentration in soybean to prevent any negative effects. The purpose of our study was to analyze the soybean collection on phytic acid content from different origin grown in the south-east of Kazakhstan for further development and cultivation of new, competitive soybean varieties in breeding programs.

The soybean collection consisted of 288 samples from 5 different origin (Central Asia, Eastern Europe, East Asia, Western Europe and Northern America) was grown in the condition of south-eastern Kazakhstan and analyzed by modified colorimetric methods with Wade reagent. Screening for PA content in the seeds of soybean plants was ranged from 1.56 to 3.24 % on a dry weight with mean of 2.4%. The highest content of PA was determined in our Kazakhstan lines "126/1" (3.24%) and "261/1" (3.21%), leading with cultivars from Eastern Europe. The lowest value of PA among Kazakhstan cultivars was detected in "Sabira" and "Kazakhstan", 1.84% and 1.90% of PA respectively. The majority of lowest value of PA content from the whole soybean collection were observed in soybean from East Asia origin, starting with minimum value of 1.56 % of PA ("6877" line, Philippines). For soybean plants from Western Europe and Northern America low PA content was observed in "Voevodzhanka" (Serbia) and "SI 02 25" line (Canada) with 1.84% and 1.77% value respectively.

Results of PA content analysis in the whole soybean collection from different origin will be used for identification of DNA marker traits associations of soybean seed quality based on genome-wide association studies.

The research was performed with the support of the funding from the Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Kazakhstan for the grant AP13068118.

Supervisor: Turuspekov Yerlan, candidate of biological sciences, professor, Head of Molecular Genetics Lab, Institute of Plant Biology and Biotechnology, Almaty, Kazakhstan

## EFFECT OF INITIAL ACIDITY (pH) OF THE ENVIRONMENT ON THE BIOMASS FORMATION CAPACITY OF FUNGI OF THE GENUS GANODERMA KARST

S.E. Nagiveva, S.I. Ismayilova

Azerbaijan State Agricultural University, Azerbaijan, Ganja city, 146 Ozan str.  
e-mail: sevil\_murquzova@mail.ru

**Key words: biotechnology, microorganism, pH, fungi**

The acidity of the environment is one of the important indicators for the normal functioning of the processes occurring inside or outside living organisms. For this reason, its regulation in the environment is important in terms of keeping both the direction and character of ongoing processes under control. As a rule, they use buffer solutions to keep the pH stable in this or that reaction medium, and solid nutrient mediums used for the cultivation of microorganisms are characterized as a weak buffer system, so that the nutrient medium made of known components is acidic or its pH can be changed by adding a certain amount of alkali, and the amounts of acid and alkali used in this case are much less than those used for buffer solutions.

On the other hand, microorganisms, including macromycetes and micromycetes, synthesize various metabolites as a result of their life activity, among which organic acids are included. These acids also change the pH of the medium, that is, hydrogen ions causes an increase, i.e. acidification of the environment, and even in the end it is characterized by such a quantitative indicator that its presence at the beginning does not even allow growth to occur.

In the studies related to all of these, it was also clarified how the initial pH of the environment affects the formation of biomass in the fungal strains selected for further research as active producers. For this purpose, pH obtained after mixing and sterilization of optimized carbon and nitrogen sources, as well as the mineral content of the medium, which is usually between 5.5 and 5.7, was used as a control. It was also clear from the obtained results that the control option is considered more favorable for both fungal strains, adding either acids or alkalis to the medium has a negative effect on the process of biomass formation. As it can be seen, during the cultivation of the *G.lipsiense* S-17 fungus, the formation of biomass during acidification of the environment causes a 1.4-fold decrease in biomass, and an alkalization causes a 2.4-fold decrease in biomass. A similar indicator is correspondingly times in other fungal strains. It was clear that the starting pH was equal to the final value, which was 4.5 in *G.lipsiense* S-17 and 4.0 in *G.lucidum* S 42. Based on this fact, it can be said that among the metabolites produced by the second fungus, organic acids are more abundant.

In general, it should be noted that all fungi, as a rule, grow better in an acidic environment and produce a large amount of biomass, and this has been repeatedly confirmed in various studies. Therefore, the production process for fungi in an acidic environment can be considered as a generally accepted reality.

It is interesting that the acidity of the environment affects not only the growth of xylotrophic macromycetes, but also the amino acid content of the biomass it produces.

# EFFECT OF THIOUREA AND GIBBERELIC ACID ON GERMINATION AND GROWTH OF RHODIOLA SP. SEEDLINGS

N.A. Yessenbekova

*National Center of Biotechnology, Kazakhstan, 010000, Astana, 13/5 Korgalzhyn highroad  
e-mail: naira.adilkhankizi@mail.ru*

## **Keywords: thiourea, gibberellic acid, rhodiola, seed dormancy**

Thiourea is a substance that has various effects in biological studies. It is known to disrupt the natural or environmentally-induced dormant period of seeds and buds. The dormancy of seeds occurs when the embryonic tissues are unable to break through the seed coat. This can happen due to the hardness of the seed coat or the presence of a non-viable embryo. In the latter case, the seed cannot germinate at all, and the dormant state associated with the seed coat can be disturbed in different ways, whether it is innate or caused by the environment. Thiourea, along with other nitrogenous compounds and growth stimulants, has been found to be effective in breaking both innate and environmentally-induced seed dormancy and promoting germination. Additionally, thiourea possesses strong disinfecting properties. This thesis focuses on the impact of thiourea and gibberellic acid on the germination of seeds and the growth of seedlings belonging to the *Rhodiola* sp. plant species.

The raw materials used for this study were the seeds of *Rhodiola rosea* and *Rhodiola quadrifida*, collected from their natural habitat. To prepare the seeds, they were first washed with liquid soap and rinsed to remove any dirt or debris. Then, they were treated with gibberellic acid (GA3) and thiourea, and incubated in a thermostat at 37°C for 1-2 days. After this, the seeds were placed in a refrigerator at a temperature below 4°C, in solutions containing gibberellic acid and thiourea, for further stratification. To ensure sterility, the *rhodiola* seeds were sterilized using thiabendazole after the stratification process. The seeds were soaked in thiabendazole for 20 minutes, followed by thorough washing with sterile distilled water three times. For planting the seeds, a hormone-free nutrient medium called Mursige-Skuga was used.

As a result of studies, it was discovered that thiourea has a different impact on seed germination and significant inhibitory effect on seedling growth when compared to gibberellic acid, which serves a similar purpose. As part of the study, *Rhodiola rosea* seeds soaked in thiourea exhibited a 100% germination rate on the 5th and 6th days after planting, whereas *Rhodiola quadrifida* seeds showed a 40% germination rate. Conversely, *Rhodiola* seeds soaked in gibberellic acid did not produce any seedlings during the same time frame. This suggests that thiourea affects seed germination positively, whereas gibberellic acid may not be effective for these purposes.

While used as a preforcing treatment of seeds, thiourea increased the germination of *Rhodiola rosea* and *Rhodiola quadrifida* seeds, whereas the use of gibberellic acid did not show such results. Thus, it seems fair to say that thiourea is an effective chemical agent releasing seeds, mainly from physiological rest, and promotes seed germination.

The work was carried out within the framework of the project: "Identification of patterns of production of biologically active metabolites with potential antioxidant and wound-healing activity in the culture of stem cells of *Rhodiola* sp." AP19675359

## ЭСТЕРАЗАЛЫҚ АКТИВТІЛІГІ БАР МИКРООРГАНИЗМДЕРДІ ТҰРМЫСТЫҚ ҚАЛДЫҚТАР УТИЛИЗАЦИЯСЫНДА ПАЙДАЛАНУ МАҚСАТЫНДА БӨЛІП АЛУ, ИДЕНТИФИКАЦИЯЛАУ ЖӘНЕ ЗЕРТТЕУ

М.Р Астраханов<sup>1,2</sup>, А.С Мусахметов<sup>2</sup>

1 - Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті,  
Қазақстан, 010008, Астана, Сәтпаев көшесі 2

2 - Ұлттық биотехнология орталығы, Қазақстан, 010000,  
Астана, Қорғалжын тас жолы, 13/5  
e-mail: astrakhanov@biocenter.kz

### Түйін сөздер: ПЭТ, эстераза, ферменттер

Эстеразалар органикалық қосылыстардағы эфирлік байланыстың ыдырауының катализаторы болып табылады. Эстеразалар органикалық химиялық синтезде, энантиомерлі фармацевтикалық препараттар және агрохимикаттар өндіруде, полимерлі қосылыстардың гидролизінде және ксенобиотик деградациясында қолданылады. Эстеразаның алыну көзі ретінде микроорганизмдер, оның ішінде бактериялар және саңырауқұлақтар бола алады. Микробальді эстеразаны қолданудың перспективті бағыты ретінде органикалық синтез нәтижесінде алынған полимерлердің деградациясы мен утилизациясын айта аламыз. Полиэтилентерефталат(ПЭТ) ең әйгілі және сұранысқа ие материал болып табылады. ПЭТ-тің беріктілігі, химиялық тұрақтылығы және мөлдірлігі бұл материалды өндіріске қолайлы ретінде айқындады. Бірақ химиялық тұрақтылық және механикалық беріктілік қасиеттері бұл материалдың утилизациясына және қайта өңделуінде қиындықтар туғызады. Терепталь қышқылы және этиленгликоль арасындағы эфирлік байланысқа сезімтал эстеразалар полиэтилентерефталатты бастапқы мономерге дейін гидролиздей алады.

Жұмыс барысында лабораториялық микроорганизм коллекциясынан және әр түрлі ортадан, соның ішінде тұрмыстық қалдықтардың жиналу орындарынан, атап айтқанда Астана қаласындағы "ЭКО ПОЛИГОН АСТАНЫ" ЖШС, Грузия мемлекеті, Алматы қаласы территорияларынан топырақ үлгілері алынды. Топырақ үлгілері сериялық сұйылту әдісі арқылы Tween және Tributyrin қоректік орталарына егілді. Бұл әдіс арқылы бактериалды изоляттар алу және культуральды-морфологиялық анықтау мүмкіншілігі пайда болды. Инкубация нәтижесінде қоректік орталарда бактериалдық культуралар алынып, эстераздық активтілікке скрининг жүргізілді. Изоляттарды молекулярлы-генетикалық және протеомды масс-спектрометрия әдістері көмегімен түрлік идентификация жүргізілді.

Нәтижесінде: Грузия-11 үлгі, Астана қаласы полигоны-18 үлгі, Алматы-4 үлгі эстераздық активтілік көрсетті. Молекулярлы-генетикалық және масс-спектрометрия әдісі бойынша идентификацияланған микроорганизмдер қатарында *Bacillus pumilus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis* анықталды.

## ЖЕТЫСУ 5 КЛОНДЫ ТЕЛІТУШІСІН КЛОНДЫҚ МИКРОКӨБЕЙТУ

А. Рахатқызы, Л.С. Ерболова, Қ.П. Аубакирова, Ж.Н. Бакытжанова,  
Н.Н. Галиакпаров

М.А. Айтхожин атындағы Молекулалық биология және биохимия институты,  
Қазақстан, 050012, Алматы, Досмұхамедов көш. 86  
e-mail: akbotarahatkyzy1@gmail.com

**Түйін сөздер:** телітуші, *in vitro*, алма, сұрыптау, бүршік, қалемше, *ex vitro*

Жетісу 5 – «Жеміс және жүзім шаруашылығы» ҒЗИ-да өсірілген алманың жартылай ергежейлі клондық телітушісі. Жетісу 5 клондық телітушісінің өркендері өте жоғары тамырланады. Бұл стандартты көшеттердің жоғары өнімін алуға мүмкіндік береді. Телітуші құрғақшылыққа өте төзімді. Бұл телітуші республиканың оңтүстік-шығыс климаты үшін перспективті болып саналады.

Клондық микрокөбейту - өсімдіктердің *in vitro* жағдайында жыныссыз жолмен көбею әдісі. Нәтижесінде пайда болған өсімдіктер (клон) бастапқы өсімдікпен және өзара бір-бірімен генетикалық тұрғыдан айнамастай бірдей болады. Бұл биотехнологиялық әдістің вегетативтік жолмен көбеюімен салыстырғанда бірталай артықшылықтары бар: көбею коэффициенті жоғары, вирустар мен патогендік микроорганизмдерден сауықтырылады, сұрыптау процесі жылдам, вегетативті жолмен көбейе алмайтын өсімдіктерді *in vitro* жағдайында көбейтуге болады.

Зерттеу объектісі ретінде Жетісу 5 клондық телітушісінің апикалды және қолтық бүршіктері қолданылды. Олар сәуір-мамыр айларында ұзындығы 10-15 см біржылдық бұтақтардан алынды. Бүршіктер сабын ерітіндісінде және ағынды су астында 30 мин жуылып, сутегі асқын тотығының 3% ерітіндісінде 5 мин, 70% спиртте 2 мин залалсыздандырылды. 5 мин "Белизна" ағартқыш ерітіндісімен (1:2) өңделді, 10 мг/л цефтриаксон антибиотигі қосылған тазартылған сумен әрқайсысы 5 минуттан 3 рет жуылды.

Алма фенолды қосылыстарды көптеп бөледі. Экспланттар құрамында 30 г/л сахароза, 1 мг/л БАП, 0,01 мг/л ИМҚ, 1 мг/л ГҚ бар Мурасиге және Скуг (МС) сұйық қоректік ортасына отырғызылды. Фильтр қағазынан жасалған көпірлер экспланттарды сұйық қоректік ортада ұстап тұру мақсатында пробиркалардың ішіне енгізілді. Сұйық ортаның рН мәні 5,6-5,7 құрады. Некроздың алдын алу мақсатында экспланттар алғашқы 1-2 апта бойы күн сайын жаңа сұйық қоректік ортаға отырғызылып отырды. 2-3 апта өткен соң экспланттар құрамы сақталған агарлы қатты МС ортасына отырғызылды.

Тәжірибеде әр нұсқада 10 бүршіктен 3 қайталама жасалды. *In vitro* культурасында апикальды бүршіктің 5-де некроз, қолтық бүршіктің 8-де инфекция анықталды. 5 айдан соң тамырландыру мақсатында 119 апикальды, 81 қолтық бүршіктен өсіп шыққан өсімдіктер 0,1 мг/л НУҚ қосылған ½ МС ортасына көшірілді. Биіктігі 7-10 см, 5-8 дана тамыры бар регенеранттар топыраққа отырғызылды. Осылайша *in vitro* регенеранттары *ex vitro* жағдайында бейімделіп, жылыжайға отырғызылды.

Нәтижесінде қолтық бүршікпен (3,68±1,12) салыстырғанда апикальды бүршікпен (4,76±0,09) *in vitro* жағдайында Жетісу 5 клонды телітушісін клондық микрокөбейту тиімді екендігін көрсетті. Сонымен қатар, апикальды бүршіктен көбейтілген регенеранттар қарқынды тамыр жүйесімен ерекшеленді.

## GOLDEN DELICIOUS АЛМА СОРТЫН *IN VITRO* ЖАҒДАЙЫНДА МИКРОТЕЛУ

А. Рахатқызы, Л.С. Ерболова, Қ.П. Аубакирова, Ж.Н. Бакытжанова,  
Н.Н. Галиакпаров

М.А. Айтхожин атындағы Молекулалық биология және биохимия институты,  
Қазақстан, 050012, Алматы, Досмұхамедов көш. 86  
e-mail: akbotarahatkyzy1@gmail.com

### Түйін сөздер: микротелу, телінуші, телітуші, *in vitro*, алма

Алма ағаштары - алғашқы мәдени өсірілген ағаштар болып саналады. Қазақстан аумағында барлық отандық сорттардың атасы - жабайы Сиверс алма ағашын кездестіруге болады. Сиверс (лат. *Malus sievërsii*) – Орталық Азия мен Қазақстанның тау етегіндегі алма ағаштарының жабайы жемісті түрі. Алма ағашының биіктігі 6-7 метр, тәжі біркелкі емес сопақ пішінді, диаметрі 4 м-ге дейін тарай алады. Жабайы алма ағашы аязға, ыстыққа және құрғақшылыққа, шаң және газбен ластануға, топырақтың тұздануына төзімді. Сонымен қатар саңырауқұлақтардың кейбір түрлерімен симбиозға түседі.

Мәдени алма ағаштары жабайы алма ағаштарынан жемістердің дәмі, мөлшері және сыртқы түрі бойынша ерекшеленеді. Ал гүлдері мен жапырақтарында айтарлықтай өзгеріс болмайды.

Голден Делишес (лат. *Golden Delicious*) – алманың қысқы сорты. Алма сортының биіктігі орташа өлшемді, ересек ағаш 3 метрге дейін жетеді. Бұтақтары тығыз, конус тәрізді тәжді құрайды. Жемісі тығыз, өте шырынды, тәтті, десертті дәмі мен жағымды хош иісі бар. Сорттың артықшылықтары: жоғары өнімділігі, ерте жеміс беруі, аязға және құрғақшылыққа төзімділігі. Алматы, Жамбыл, Оңтүстік Қазақстан облыстарында аудандастырылған.

Соңғы бірнеше онжылдықта *in vitro* жағдайында микротелу өсімдікті қалпына келтіру және *in vitro*-да өсірілген регенерант түрлерінің бейімделуін жақсарту әдісі ретінде пайда болды. Микротелу дегеніміз бір өсімдіктің бүршікті бөлігін (телінуші) екінші өсімдіктің денесіне (телітуші) *in vitro* жағдайында ұластыру.

Зерттеу жұмысының мақсаты Голден Делишес алма сортын бактериялық күйкке төзімді генотипі бар Сиверске микротелу.

Зерттеу объектісі телінуші ретінде *in vitro* жағдайында өсірілген Голден Делишес алма сортының төбе бүршіктері алынды. Телітуші ретінде *in vitro* жағдайында дәннен өсірілген Сиверс өскіндері қолданылды.

Телінуші Голден Делишес алма сортының апикальды кесінділері (төбеден 3 см) жапырақтарынан тазартылып және түбінен V-тәрізді кесінді (1 см) жасау арқылы дайындалды. Бактериялық күйкке төзімді генотипі бар телітуші Сиверс өскіндері де жапырақтарынан тазартылып, ұшынан V-тәрізді кесінді (1 см) жасалды. Телу аймағы стерильді алюминий фольгамен (1×2 см) орау арқылы қорғалды. Микротелінген өсімдіктер негізгі макро- және микроэлементтер мен витаминдер (PhytoTech Labs, АҚШ) - 4,4 г/л, сахароза - 30 г/л, 0,1 мг/л ИМҚ, агар - 6 г/л, НСҚ және БАП гормондарының әртүрлі концентрациясы қосылған Мурасиге және Скуг (МС) ортасына енгізілді. Нәтижесінде 4 аптада 60 телінген өсімдіктердің 48-сі ұласты.

4 аптадан кейін телінген өсімдіктер ½ МС витаминдері бар - 2,2 г/л, 15 г/л сахароза, агар - 6 г/л, 1 мг/л НСҚ және 1 мг/л ИСҚ бар тамырлы ортаға отырғызылды. Микротелінділердің қарқынды өсуі үшін НСҚ және БАП гормондарының қолайлы концентрациясы таңдалып алынды. *In vitro* жағдайында микротелінген өсімдіктер *ex vitro* жағдайына бейімделуде.

## ПРИМЕНЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТЕНИЯ СИНЕГОЛОВНИКА ПЛОСКОЛИСТНОГО (*ERYNGIUM PLANUM L.*) В НАРОДНОЙ МЕДИЦИНЕ

А.Б. Арыкбаева<sup>1</sup>, Г.О. Устенова<sup>1</sup>, К.О. Шарипов<sup>2</sup>, У.Т. Бейсебаева<sup>1</sup>,  
И.Е. Каухова<sup>3</sup>

1 - КазНМУ им. С. Д. Асфендиярова, Казахстан, Алматы, Толе би 94

2 - Институт молекулярной биологии и биохимии им М.А. Айтхожина, Казахстан,  
050012, Алматы, Досмухамедова 86

3 - Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический  
университет, Россия, Санкт-Петербург  
e-mail: aliya.arykbaeva@mail.ru

**Ключевые слова:** лекарственные растения, *Eryngium planum L.*, биологически активные вещества

Интерес к лекарственным растениям и препаратам, создаваемым на их основе, увеличивается благодаря их уникальным свойствам.

Территория Казахстана располагает огромным запасом лекарственных растений, которые веками используются в традиционной медицине. В фитохимическом отношении лекарственные растения Казахстана содержат большинство известных классов биологических активных веществ (флавоноиды, алкалоиды, органические фенолосоединения, витамины, дубильные вещества, кумарины и др.), но необходимо отметить относительно слабую изученность химико-терапевтических свойств ряда видов растений.

В нашей стране встречаются некоторые виды синеголовников, такие как: *Eryngium caucasicum Trautv.*, *Eryngium macrocalyx Schrenk*, *Eryngium planum L.* и др. Одним из перспективных лекарственных растений Республики Казахстан является синеголовник плосколистный (*Eryngium planum L.*).

*Eryngium planum L.* - многолетник, встречается в степях северного Казахстана, в горах Джунгарского и Заилийского Алатау. Растение высотой 30-90 см. Все части растения имеют голубой или фиолетовый оттенок. Имеет прямой стержневой корень, стебель в верхней части синеватый, ветвистый, листья кожистые, с колючими зубцами по краю.

По данным литературы, *Eryngium planum L.* содержит эфирные и жирные масла, углеводы, органические и фенолкарбоновые кислоты, тритерпеноиды, полиацетиленовые соединения, кумарины, флавоноиды, сапонины, витамин С. В связи с этим разработка технологии производства лекарственных препаратов из лекарственного растительного сырья является актуальной.

Материал и методы исследования - растения рода синеголовник (*Eryngium*): синеголовник плосколистный (*E. planum*), фитопрепараты на основе сырья *Eryngium*, обзор литературы.

Был проведен патентно-информационный поиск. Результаты литературного обзора показали малоизученность многих лекарственных растений, произрастающих на территории Казахстана, в том числе *Eryngium planum L.*, а также отсутствие отечественных фитопрепаратов на их основе.

Применение фитопрепаратов в медицине перспективно и позволяет решить проблему Государственной программы по импортозамещению лекарственных средств.

В народной и официальной медицине препараты из синеголовника плосколистного применяют в качестве спазмолитического, противовоспалительного, противомикробного и отхаркивающего средства. Нами планируется изучение фитохимического состава синеголовника плосколистного и поиск в растениях новых видов биологически активных веществ.

## РАЗРАБОТКА ПАНЕЛИ ПРОДУЦЕНТОВ РЕКОМБИНАНТНЫХ ФЕРМЕНТАТОВ ДЛЯ СИНТЕЗА мРНК

С.В. Беленькая<sup>1,2</sup>, Д.Н. Щербаков<sup>1,3</sup>

1 - ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, Россия, 630559, р.п.Кольцово

2 - Новосибирский Государственный Университет, Россия, 630090,  
Новосибирск, ул.Пирогова 1

3 - Алтайский государственный университет, Россия, 656049 Барнаул, пр.Ленина

61

e-mail: belenkaya.sveta@gmail.com

**Ключевые слова:** мРНК, поли(А)-полимераза, T7 РНК-полимераза, ДНКазы I, мРНК-кэпирующий фермент

Технология разработки вакцины на основе мРНК оказались в центре внимания во время пандемии COVID-19, поскольку использование этого подхода обеспечило быструю разработку и внедрение эффективных вакцин против этого патогена. Структура вакцинной мРНК аналогична эукариотической мРНК - одноцепочечная молекула с кэпом на 5'-конце, поли(А)-хвостом на 3'-конце и открытой рамкой считывания (ORF), фланкированной нетранслируемыми областями. Возросший спрос на мРНК-вакцины потребовал разработки технологических решений, в частности ферментов необходимых для синтеза РНК. Хотя в настоящее время доступно несколько коммерческих наборов для получения мРНК в лабораторных условиях, решения для промышленных масштабов отсутствует.

Цель данной работы – разработка панели продуцентов рекомбинантных ферментов необходимых для производства синтетической мРНК.

С целью конструирования вектора, обеспечивающего синтез мутантной РНК-полимеразы T7, которая продуцирует значительно меньше иммуностимулирующей двуцепочечной РНК, были рассчитаны праймеры для внесения направленных мутаций с последующим бесшовным клонированием в вектор рЕТ по методу Гибсона. Для конструирования вектора, обеспечивающего синтез и секрецию поли(А)-полимеразы *E. coli* в растворимой форме была рассчитана пара праймеров для клонирования целевой последовательности в состав вектора рЕТ. Для разработки продуцента рекомбинантной ДНКазы I, целевая нуклеотидная последовательность гена была синтезирована на заказ и получена в составе вектора рЕТ. Так же на заказ была синтезирована последовательность мРНК-кэпирующего фермента, которая была клонирована в составе вектора рРОG, обеспечивающего синтез и секрецию целевых белков в системе экспрессии дрожжей *K. lactis*. Сконструированными экспрессионными векторами рЕТ-PAP1, рЕТ-T7mut, рЕТ и рЕТ-DNAase была проведена трансформация клеток *E. coli* штамма BL21 (DE3), а вектором рРОG-ЕСар трансформировали клетки *K. lactis* штамма SVB-1.

В результате полученные рекомбинантные штаммы *E. coli* обеспечивающие синтез поли(А)-полимеразы *E. coli*, T7 РНК-полимеразы и ДНКазы I. Ферменты синтезируются в растворимой форме. Рекомбинантный штамм *K. lactis* обеспечивал синтез и секрецию мРНК-кэпирующего фермента в культуральную жидкость. Целевые ферменты были очищены с использованием металл-хелатной и ионообменной хроматографии. Оценку эффективности полученных ферментов проводили на примере синтеза мРНК luc2 с последующей детекцией функциональной активности с помощью метода IVIS.

## ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОТОКОЛА КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ГИБРИДОВ РОЗ ДЛЯ МИКРОКЛОНАЛЬНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ

О.О. Кафарова<sup>1</sup>, А.Т. Искендеров<sup>2</sup>

1 - Центральный ботанический сад, Азербайджан, AZ 1073, Баку, ул. М. Мушфика 2

2 - Институт ботаники, Азербайджан, AZ 1004, Баку, Бадамдарское шоссе, 40

e-mail: ofeliya.qafarova@gmail.com

### **Ключевые слова:** розы, биотехнология, размножение, *in vitro*

Розы - одни из самых популярных декоративных растений, являющиеся важнейшими цветочными культурами в мире. Большинство сортов роз традиционно размножают черенками или прививкой на рассаду или клоновые подвои. Впрочем, прививка обходится дорого, а традиционное размножение занимает много времени.

Биотехнологические лаборатории имеются во многих ботанических научных центрах. Их работа, помимо сохранения генофондов растений и размножения *in vitro* редких и исчезающих растений, включает выведение новых видов, сортов, гибридов и форм, представляющих декоративную ценность. Важно отметить, что залог успеха этих исследований заключается в тесном сотрудничестве биотехнологов, ботаников и селекционеров, знакомых с биологическими свойствами интродуцентов, новых гибридов и форм, введенных в культуру *in vitro*.

Биотехнология нашла множество потенциальных и практических применений в областях, связанных с размножением и селекцией роз, таких как быстрое размножение, мутагенез *in vitro*. Используя методику размножения *in vitro*, можно получить огромное количество клонов с одного растения. Эффективность микроразмножения во многом зависит от правильного выбора питательной среды. В состав питательных сред входят необходимые растению макро- и микроэлементы, а также аминокислоты, витамины, регуляторы роста растений. При клональном микроразмножении декоративных растений наиболее часто используются среды Мурасиге и Скуга (МС). Питание культивируемых тканей является гетеротрофным и поэтому требуется обязательное присутствие углеводов, таких как сахароза, глюкоза и фруктоза.

В нашем ботаническом саду впервые проводится работа по микроклональному размножению сортов роз. Целью работы является определение условий культивирования и состава питательной среды, обеспечивающих высокий коэффициент размножения растений.

В качестве объектов исследований взяты 4 новых гибрида - запатентованные сорта роз «*Shergin seheri*», «*Qara gile*», «*Leyla*», «*Sari gelin*», полученные в Центральном ботаническом саду Азербайджана. Исследования проводились по общепринятым методикам микроклонального размножения: стерилизация исходного материала, введение в культуру и укоренение *in vitro* в лаборатории биотехники Научно-исследовательского института плодоводства и чаеводства. Экспланты пазушных почек (размером 0,5-1,0 см), дезинфицировали в растворе 10% перекиси водорода в течение 5 мин. Далее, для введения в культуру *in vitro* использовали питательную среду МС, содержащую сахарозу в концентрации 20 г/л, дополненную регуляторами роста 0,5мг/л БАП и 0,1мг/л НУК. Экспланты растений культивировали в условиях освещения с 16-часовым фотопериодом.

Таким образом, в ходе исследования были подобраны условия для введения в культуру *in vitro* эксплантов 4 сортов роз «*Shergin seheri*», «*Qara gile*», «*Leyla*», «*Sari gelin*». Установлено, что культивирование эксплантов на данном варианте питательной среды обеспечивает среднюю скорость роста и размножения побегов *in vitro* для данных сортов.

# ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ ЛИОФИЛИЗАТА АССОЦИАЦИИ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ

А.Д. Масирбаева

НПЦ микробиологии и вирусологии, Казахстан, 050002, Алматы, Бөгенбай батыра 105  
e-mail: masirbaeva.aigerim@mail.ru

## **Ключевые слова: пробиотик, антагонизм, кишечные инфекции**

Острые кишечные инфекции (ОКИ) – одна из актуальных проблем здравоохранения всех стран, в том числе и Казахстана.

Цель работы – подбор оптимальной питательной среды для культивирования ассоциации лактобактерий и оптимального варианта лиофильного высушивания.

В состав ассоциации для получения лиофилизата входят следующие культуры микроорганизмов - *Lactobacillus fermentum* 30 + *Lactobacillus cellobiosus* 36. Штамм *L. fermentum* 30 получен из популяции сублимационно высушенной культуры *L. fermentum* 29, выделенной из кишечника здорового человека. Штамм *L. cellobiosus* 36 выделен из популяции сублимационно высушенной культуры *L. cellobiosus* 35. Для культивирования ассоциаций бактерий использовали 2 варианта питательных сред: № 1 (среда MRS с  $\text{CoC}_{12}$ ) и № 2 (дрожжевой экстракт - 5,0 г/л + глюкоза - 10,0 г/л +  $\text{CoC}_{12}$  - 0,01 г/л). Культивирование бактерий проводили в течение 24 часов при температуре 37°C.

По результатам характеристики антагонистической активности ассоциации бактерий *Lactobacillus fermentum* 30 + *Lactobacillus cellobiosus* 36 в жидких средах культивирования показано, что ассоциация из штаммов *L. fermentum* 30 и *L. cellobiosus* 36, выращенная на среде №1, обладает более высокой антимикробной активностью по сравнению с той же ассоциацией, но выращенной на среде №2. Так, отмечено повышение антагонизма в отношении всех исследованных тест-культур у ассоциации, выращенной на среде №1, в особенности к *S. albicans* и *P. multocida*.

Для получения лиофилизата тестировали 3 режима сублимационного высушивания. Оптимальный вариант лиофильного высушивания, включающий выравнивание температуры полоч (+20°C) – 5 мин, заморозка (-30°C) – 10 ч, заморозка (-60°C) – 5 ч, вакуум – 0,2мБар, сушка 1 (-26°C) – 6 ч., сушка 2 (+20°C) – 18 ч., сушка 3 (+30°C) – 2 ч с длительностью всего процесса сушки не менее 26 часов, при окончательной температуре продукта +(25-27)°C титр бактерий находился в пределах от  $2,9 \pm 0,2 \times 10^9$  до  $8,8 \pm 0,4 \times 10^9$  КОЕ/г, по сравнению с исходным - от  $3,0 \pm 0,2 \times 10^9$  до  $9,2 \pm 0,4 \times 10^9$  КОЕ/г.

Наилучшая сохранность жизнеспособности бактериальных клеток выявлена при выращивании пробиотических бактерий на среде культивирования №1 и применении режима высушивания №1.

По разработанной технологии будет организовано производство эффективного лекарственного пробиотического средства против кишечных и сопутствующих инфекций в Казахстане, а также для экспорта в другие страны.

## ОПТИМИЗАЦИЯ РЕЦЕПТУРЫ ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ НАПИТКОВ

**Б.К. Мусабаяева, З.С. Сармурзина, Г.Н. Бисенова, Г.К. Абитаева, Ж.М. Бекшин**

Республиканская коллекция микроорганизмов, Казахстан, 010000, Астана, Валиханова  
13/1

e-mail: aveabasum@mail.ru

**Ключевые слова:** рецептура, молочнокислые бактерии, пробиотик, пребиотик, витамины

Молочнокислые бактерии (МКБ) являются функциональными заквасочными культурами в пищевой и молочной промышленности, а также считаются источником энергии для биотехнологий и ферментации. Благодаря широкому применению в пищевых продуктах и медицине, в течение последних нескольких десятилетий во всем мире ведутся интенсивные исследования и разработки по созданию новых видов натуральных напитков, обладающих функционально-технологическими свойствами, повышенной пищевой и биологической ценностью.

Цель данной работы оптимизация рецептуры профилактических напитков на основе молока и молочной сыворотки с использованием витаминов, минералов, пребиотиков и пробиотиков.

Объектами исследования являлись профилактический напиток №1 на основе молока и профилактический напиток №2 на основе молочной сыворотки, обогащенные пробиотическими бактериями рода *Lactobacillus* (*L. casei* 1A B-RCM 0947, *L. paracasei* 2A B-RCM 0948, *L. brevis* 4 LB B-RCM 0610), витаминно-минеральным премиксом и пребиотиком.

С целью оптимизации рецептуры профилактических напитков, проведен подбор оптимальной концентрации подсластителя и консерванта. В качестве консерванта использовали натамицин и цитрат натрия с прямым внесением в напитки, согласно инструкции производителя. В качестве подсластителя добавляли сахар растворимый в различной концентрации от 4 до 10 г на 100 мл. Оценка органолептических свойств определяли по бальной шкале на 1-е и 7-е сутки хранения профилактических напитков.

В ходе проведения исследования установлено, что использование консерванта цитрата натрия оказывало положительное действие на органолептические свойства профилактического напитка №1 в отличие от консерванта натамицина. Использование консервантов цитрата натрия и натамицина не оказывало негативного действия на органолептические свойства профилактического напитка №2.

Согласно полученным данным по оптимизации подсластителя, концентрация в количестве 5,0-6,0 г на 100 мл является наиболее оптимальной концентрацией для профилактического напитка №1, концентрация подсластителя в количестве 5,0 г на 100 мл является наиболее оптимальной концентрацией для профилактического напитка №2.

Работа выполнена в рамках финансирования Министерства сельского хозяйства Республики Казахстан (№ BR 10764998).

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ДОМИНИРУЮЩЕЙ МИКРОБИОТЫ НАСЕКОМЫХ-ВРЕДИТЕЛЕЙ ЗЕЛЕННЫХ НАСАЖДЕНИЙ В ОКРЕСТНОСТЯХ Г. АСТАНА

С.В. Пантелеев<sup>1</sup>, А.В. Константинов<sup>1</sup>, П.С. Кирьянов<sup>1</sup>, А.В. Падутов<sup>1</sup>,  
Л.В. Можаровская<sup>1</sup>, Е.П. Вибе<sup>2</sup>, Я.А. Крекова<sup>2</sup>

1 - Институт леса НАН Беларуси, Беларусь, 246050, Гомель, Пролетарская 71  
2 - Казахский научно-исследовательский институт лесного хозяйства и агролесомелиорации имени А.Н. Букейхана, Казахстан, 021704, Щучинск, Кирова 58  
e-mail: pukidesu@gmail.com

**Ключевые слова:** ДНК, ПЦР, насекомые-вредители, микобиота, бактериобиота

В настоящее время быстрыми и высокоточными методами диагностики различных инфекционных агентов являются методы молекулярно-генетического анализа: ПЦР, секвенирование, T-RFLP и др. Основным преимуществом ДНК-диагностики является прямое определение наличия искомым микроорганизмов в тканях хозяев, минуя стадию получения их *in vitro* культуры.

Цель работы – генетическая идентификация доминирующей микробиоты насекомых-вредителей зеленых насаждений с целью выявления энтомопатогенных агентов.

Объектами исследования являлась грибная и бактериальная микрофлора насекомых-фитофагов на различных стадиях развития: яйцо, личинка, зонимфа. Образцы были собраны в зеленых насаждениях с участием березы повислой, вяза приземистого и сосны обыкновенной в окрестностях г. Астана: территории РГП «Жасыл аймак», Астанинское, Аршалыньское и Кызылжарское лесничества и ТОО «Астана орманы». Генетически исследованы 3 вида насекомых, собранных в 7 суммарных проб, насчитывающих до 10 особей: большой березовый минирующий пилильщик (*Scolioneura betuleti* Klug.), долгоносик степной (*Orchestes steppensis* Korotyaev), звездчатый пилильщик-ткач (*Acantholyda posticalis* Matsumura). ДНК выделяли модифицированным СТАВ-методом. Анализ микобиоты насекомых осуществлялся методами секвенирования и фрагментного анализа ITS1-региона рДНК (праймеры ITS1F – 5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3', ITS2 – 5'-GCTGCGTCTTCATCGATGC-3'), бактериобиоты – фрагмента гена 16S рPHK, (праймеры Met F – 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3', Met R – 5'-CCGTCGAATTCCTTTRAGTTT-3').

В ходе исследования микрофлоры 3 видов фитофагов были выявлены 12 видов грибов и 3 вида бактерий. Из них к энтомопатогенным относились три вида грибов: *Beauveria bassiana* (OR234727) (долевое участие в микобиоме – 100%), *Clonostachys rosea* (OR234729, OR234731) (долевое участие в микобиоме – 22,7-76,7%) и *Trichoceum roseum* (долевое участие в микобиоме – 5-10%). Наряду с ними диагностированы условные энтомопатогены (виды рода *Alternaria* (OR234728)), *Cladopsorium*, *Trichoderma*), сапротрофы, эндофиты и фитопатогены растений (*Fusarium*, *Epicoccum*), а также симбионты насекомых (*Meyeromyza*, *Wickerhamomyces*). Энтомопатогенные и условно-энтомопатогенные виды грибов встречались во всех исследованных образцах насекомых-фитофагов. Бактериобиота характеризовалась наличием фитопатогена *Erwinia amylovora* (OR237232), эндофита *Ralstonia pickettii* (OR237233, OR237234) и бактерией с неизвестной функцией *Priestia* sp. (OR237231).

Проведена генетическая идентификация доминирующей мико- и бактериобиоты насекомых-вредителей зеленых насаждений в окрестностях г. Астана. Перечень выявленных энтомопатогенов может быть использован в качестве потенциальных агентов биологического контроля вредителей местных древесно-кустарниковых растений.

## РАЗРАБОТКА СРЕДСТВ БИОКОНТРОЛЯ С ЦЕЛЬЮ ПРОДЛЕНИЯ СРОКОВ ХРАНЕНИЯ И ПОВЫШЕНИЯ КАЧЕСТВА ПЛОДОВ ЯБЛОНИ

А.М. Сатенова, А.К. Туякова, М.С. Уразова, С.М. Шайхин

Республиканская коллекция микроорганизмов, Казахстан, 010000, Астана, Уалиханова

13/1

e-mail:bota1990@mail.ru

### **Ключевые слова:** фитопатогенные грибы, дрожжи, антагонизм, яблоки

Послеуборочные болезни могут привести к значительным потерям и порче фруктов и овощей, на долю которых приходится одна треть всех пищевых продуктов. В частности, грибковые послеуборочные заболевания плодов яблони занимают первое место по снижению качества и безопасности, а значит и срока их хранения. Целью данной работы являлось сравнение дрожжей *Metschnikowia pulcherrima* и штаммов бактерии *Bacillus subtilis* в способности подавлять рост фитопатогенных грибов.

Ранее из плодов яблок нами были выделены и изучены дрожжи *Metschnikowia pulcherrima* (10штаммов). Все данные штаммы оказались антагонистами по отношению к фитопатогенным микроорганизмам, таким как *Alternaria alternata*, *Acremonium alternatum* и *Penicillium expansum*. Антагонистическую активность дрожжей *Metschnikowia pulcherrima* по отношению к фитопатогенным микроорганизмам определяли методом агаровых блоков. При изучении фунгицидной активности дрожжей методом Cross-Streak также было обнаружено, что все штаммы дрожжей *Metschnikowia pulcherrima* способны подавлять рост и развитие гриба, но с различной интенсивностью.

Изучено 15 штаммов бактерии *Bacillus subtilis*, часть из них были выделены с поверхности фруктов, 8 штаммов были взяты из коллекции музея ТОО «Республиканская коллекция микроорганизмов». Все штаммы проверили на способность подавлять рост фитопатогенных грибов *Alternaria alternata*, *Acremonium alternatum* и *Penicillium expansum*. Исследование степени антагонистической активности штаммов по отношению к фитопатогенным микроорганизмам выполняли методом агаровых блоков.

Результаты исследования показали, что изоляты дрожжей *Metschnikowia pulcherrima* обладают широким спектром фунгицидной активности по отношению к фитопатогенным грибам родов *Alternaria*, *Penicillium*, *Colletotrichum*. По итогам исследования были отобраны два штамма *Metschnikowia pulcherrima* МР D12-21 и *Metschnikowia pulcherrima* МР С10-21. Также, установлено что наибольшую эффективность в подавлении фитопатогенов проявил всего один штамм бактерии *Bacillus subtilis* BS4. Он ингибировал развитие *Penicillium expansum* и *Acremonium alternatum*. Остальные штаммы бацилл показали низкую антагонистическую активность по отношению к грибам.

Дальнейшие наши работы в разработке средств биоконтроля будут связаны лишь со штаммами *Metschnikowia pulcherrima*. Штамм *Bacillus subtilis* BS4 можно порекомендовать в сочетании с дрожжами антагонистами для разработки комплексного биопрепарата для обработки яблок.

## ПОЛУЧЕНИЕ АСЕПТИЧЕСКОЙ КУЛЬТУРЫ И ВЫРАЩИВАНИЕ *IN VITRO* МАЛОИЗУЧЕННЫХ ЭНДЕМИЧНЫХ ВИДОВ ТЮЛЬПАНОВ КАЗАХСТАНА *T. TURGAICA* И *T. AULIEKOLICA*

Д.С. Тагиманова, О.Б. Райзер, О.Н. Хапилина

Национальный центр биотехнологии, Казахстан, 010000, Астана,  
Кургальжинское шоссе, здание 13/5  
e-mail: tagds@mail.ru

**Ключевые слова:** культура *in vitro*, стерилизация, микроразмножение, эндемичный вид, тюльпаны

Казахстан расположен в центре Евразии, занимает 9 место в мире по площади, и располагает почти всеми типами ландшафтов, существующих на земном шаре. В республике 14% флоры (около 700 видов) принадлежит к эндемичным видам. Значительное количество эндемиков (около 20%) представлено в роде Тюльпан (*Tulip*). Казахстан является одним из ключевых центров распространения тюльпанов в мире, на территории которого произрастает более 30 видов тюльпанов. Ареалы 9 видов находятся в Северном и Центральном Казахстане, из них 3 вида являются эндемиками: *Tulipa auliekolica*, *Tulipa turgaica*. Сохранение этих видов является серьезной проблемой во всем мире, и использование только методов *in situ* не гарантирует их полного сохранения. Для решения этой проблемы предлагается использование методов биотехнологии, связанных с сохранением и размножением в культуре *in vitro*, позволяющих воспроизводить ценные генотипы в природных популяциях.

Для введения в культуру *in vitro* в качестве исходного материала использовали зрелые семена, луковицы и семяпочки. Были оптимизированы этапы стерилизации эксплантов. В качестве стерилизующих агентов использовали раствор гипохлорита натрия, этиловый спирт, раствор перманганата калия, а также раствор 0,1% мертиолята, с различным временем экспозиции. Стерилизацию материала проводили двумя способами. Для семяпочек применяли следующий режим стерилизации: раствор детергента – 5 мин.; промывка проточной водой – 10 мин.; 7%-ный раствор гипохлорита натрия – 10 мин., 96%-ный этанол – 30 сек., с последующей промывкой в трех порциях стерилизованной дистиллированной воды по 5 мин. в каждой. Для семян и луковиц применяли режим стерилизации, отличающийся по времени нахождения в детергенте и стерилизующем агенте: раствор детергента – 20 мин.; промывка проточной водой – 20 мин.; 10 %-ный раствор гипохлорита натрия – 10 мин., 0,1% мертиолята – 20 минут с последующей промывкой в трех порциях стерилизованной дистиллированной воды по 20 мин. в каждой. Простерилизованный материал высаживали на твердую питательную среду для получения стерильных проростков.

В качестве иницирующей использовали питательную среду, содержащую  $\frac{1}{2}$  солей Мурасиге и Скуга ( $\frac{1}{2}$  MS) с добавлением 10мг/л GA3. Исследования показали, что для стратификации луковиц и семян наиболее оптимальным является воздействие низких положительных температур в течение 30 сут. Это способствует активации ростовых процессов в семенах и луковицах. В дальнейшем, в присутствии регуляторов роста: БАП (5-10 мг/л), НУК (1 мг/л) и 2,4 Д (5-10 мг/л) были получены стельные первичные культуры обоих видов тюльпанов *in vitro*.

Был разработан эффективный протокол, включающий этапы стерилизации и стратификации, позволяющий получать до 70% стерильных жизнеспособных эксплантов *T. turgaica*, и до 90% *T. auliekolica*.

## ВВЕДЕНИЕ ИРГИ (*AMELANCHIER CANADENSIS*) СОРТА MARTIN В КУЛЬТУРУ *IN VITRO*

Б.К. Тезекбаева, А. Хасейн, Н.П. Малахова

Институт молекулярной биологии и биохимии им М.А. Айтхожина  
Казахстан, 050012, Алматы, Досмухамедова 86  
e-mail: bota151283@mail.ru

### **Ключевые слова:** ирга, микрклональное размножение, *in vitro*

Ирга (*Amelanchier canadensis*) – род растений подсемейства яблоневые (*Maloideae*) семейства розоцветные (*Rosaceae*). Высокая морозостойкость, зимостойкость, малая требовательность к почве и к условиям климата, ежегодная обильная урожайность, замечательные вкусовые, лечебные достоинства плодов, устойчивость к болезням и вредителям – все это делает иргу одной из самых ценных ягодных культур. Существующие приемы вегетативного размножения ирги не обеспечивают достаточного коэффициента ее размножения. Оптимальным решением этой проблемы может быть клональное микроразмножение растений в культуре *in vitro* с использованием культуры изолированных апексов.

Цель работы заключалась в подборе и оптимизации методов введения растений ирги сорта Martin в культуру *in vitro*.

Объектами исследования являлись растения ирги канадской сорта Martin. На этапе получения асептической культуры в качестве первичного экспланта были использованы пазушные почки. Выбор стерилизации проводили на основе 2 вариантов обработки, отличающихся по времени экспозиции в каждом растворе стерилизующего агента - 70% этанола - 1 и 2 минуты; и 30% раствора гипохлорида натрия с добавлением 5-6 капель Твин-20 – 10 и 20 минут соответственно. Стерилизацию заканчивали 3-х кратным промыванием бидистиллированной водой.

На этапе введения в культуру *in vitro* использовалась универсальная питательная среда Мурасиге – Скуга с добавлением различных концентраций фитогормонов:

1. МС – 4,33 г/л, витамины 5 мг/л (В1, В2, В6, РР), сахароза 30 г/л, НУК – 0,1 мг/л, БАП – 0,1 мг/л, агар – 7 г/л, рН=5,7.

2. МС – 4,33 г/л, витамины 5 мг/л (В1, В2, В6, РР), сахароза 60 г/л, НУК – 0,5 мг/л, БАП – 0,5 мг/л, агар – 7 г/л, рН=5,7.

В результате проведенных экспериментов было установлено, что в 1 варианте стерилизации, где время выдержки почек эксплантов в 70% этаноле - 1 мин, а в 30% растворе гипохлорида натрия – 10 мин, выход стерильных эксплантов составил от 15 до 20 процентов. Во 2 варианте, где экспозиция в 70% этаноле длилась 2 мин, а в 30% растворе гипохлорида натрия - 20 минут, выход стерильных эксплантов был выше и составил - 80 процентов. Из 40 шт. почек - 32 шт. оказались неинфицированными и жизнеспособными. На основе полученных данных второй способ стерилизации был использован далее для стерилизации растительных эксплантов ирги.

При введении пазушных почек ирги в культуру *in vitro* наиболее оптимальным оказался состав 2-го варианта среды, на котором отмечался быстрый рост и развитие пазушных почек в первые 14 дней после высадки на среду. На 1 варианте питательной среды экспланты развивались медленно и большинство из них не развивались в нормальные побеги.

Таким образом, в ходе исследования был подобран оптимальный, высокоэффективный метод стерилизации растительных эксплантов ирги сорта Martin, и определен оптимальный вариант питательной среды на этапе введения в культуру *in vitro*.

## ВВЕДЕНИЕ ЕЖЕВИКИ (*RUBUS CAESIUS*) В КУЛЬТУРУ *IN VITRO*

Б.К. Тезекбаева, К. Дмитриева, А. Хасейн, Н.П. Малахова

Институт молекулярной биологии и биохимии им М.А. Айтхожина,  
Казахстан, 050012, Алматы, Досмухамедова 86  
e-mail: bota151283@mail.ru

**Ключевые слова:** ежевика, микроклональное размножение, *in vitro*

Ежевика (*Rubus caesius*) представляет собой полукустарниковые растения, относящиеся к семейству Розоцветные (*Rosaceae*). Плоды ежевики – ценный продукт питания, как в свежем, так и в переработанном виде. В настоящее время на первый план выходит проблема ускоренного размножения ценных форм и сортов ежевики. Наиболее эффективным способом получения оздоровленного чистосортного посадочного материала ягодных культур является клональное микроразмножение.

Цель работы заключается в подборе и оптимизации методов введения растений ежевики в культуру *in vitro*.

Материалом для исследований служили растения ежевики сорта «Натчез». На этапе получения асептической культуры в качестве первичного экспланта были использованы пазушные почки. Выбор стерилизации проводили на основе 2 вариантов обработки, отличающихся по времени экспозиции в каждом растворе стерилизующего агента - 70% этанола и 30% раствора гипохлорида натрия с добавлением 5-6 капель Твин-20. Стерилизацию заканчивали 3-х кратным промыванием бидистиллированной водой.

На этапе введения в культуру *in vitro* использовалась универсальная питательная среда Мурасиге – Скуга с добавлением различных концентраций фитогормонов:

1 вариант: МС – 4,33 г/л; витамины – 1 мл/л; сахароза – 30 г/л; агар – 6,5 г/л; 6-БАП – 0,5 мг/л; рН= 5,6 – 5,7.

2 вариант: МС – 4,33 г/л; витамины – 1 мл/л; сахароза – 30 г/л; агар – 6,5 г/л; 6-БАП – 0,7 мг/л; рН= 5,6 – 5,7.

3 вариант: МС – 4,33 г/л; витамины – 1 мл/л; сахароза – 30 г/л; агар – 6,5 г/л; 6-БАП – 1 мг/л; рН= 5,6 – 5,7.

Культивирование проводили при 24<sup>0</sup>±1С, с фотопериодом 16/8 часов свет/темнота.

В результате проведенных экспериментов было установлено, что в 1 варианте, где время выдержки эксплантов в 70% этаноле - 1мин, а в 30% растворе гипохлорида натрия – 10 мин, выход стерильных эксплантов составил 15 – 20% процентов. Во 2 варианте, где экспозиция в 70% этаноле длилась 2 мин, а в 30% растворе гипохлорида натрия - 20 минут, выход стерильных эксплантов был выше и составил - 85% растительного материала: из 30 шт. почек 27 шт. оказались неинфицированными и жизнеспособными.

По результатам исследований второй способ стерилизации был использован далее для стерилизации растительных эксплантов ежевики.

На этапе введения в культуру *in vitro* было установлено, что при культивировании пазушных почек ежевики на питательной среде с добавлением БАП в концентрациях 0,5 мг/л приводило к регенерации 1-2 побегов, тогда как увеличение концентрации БАП на 0,7 мг/л приводило к регенерации 4-5 побегов, и более эффективно их росту. При увеличении концентрации БАП в среде до 1,0 мг/л отмечалось укорачивание побегов и недоразвитости листьев.

Таким образом, в ходе исследования был подобран оптимальный метод стерилизации растительных эксплантов ежевики сорта «Натчез», и определены оптимальные варианты питательных сред на этапе введения эксплантов в культуру *in vitro*.

**МОРФОЛОГО-КУЛЬТУРАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ  
*COPRINELLUS DOMESTICUS* (BOLTON) VILGALYS,  
HOPPLE & JACQ. JOHNSON**

**И.А. Хархасова, А.В. Константинов, С.В. Пантелеев**

Институт леса НАН Беларуси, Республика Беларусь, 246050, Гомель,  
Пролетарская 71  
e-mail: harhasova18@mail.ru

**Ключевые слова: чистые культуры, микоризообразующие грибы**

Представители рода *Coprinellus*, как микоризообразователи, описаны лишь в последние годы, преимущественно на орхидных растениях, а в настоящее время эти виды также диагностированы в лесных питомниках и культурах. Сведения о морфофизиологических особенностях изолятов *Coprinellus* spp. в мировой практике ограничены.

Исходным материалом служили 2-4хлетние саженцы сосны. В начале культивирование концевых отрезков корней проводилось на зерновом субстрате, а в дальнейшем мицелий стерильно переносили на плотные питательные среды: сусло-агар полный (СА), сусло-агар 10% и 4% (СА10%, СА4%), Сабуро, Чапека, картофельно-глюкозный агар (КГА) Murashige-Skoog (MS), редуцированная MS (MS½), MS½ с повышенным содержанием микросолей, железа и витаминов (MS½↑).

После 6 дней культивирования концевых отрезков корней на зерновом субстрате был отмечен рост бархатистого плотного белого мицелия, который после приобретал бежево-желтую окраску.

Выявлено, что длительность лаг-фазы для сред СА10%, Сабуро, Чапека составила 5 дней, для СА и СА4% - 6, а для КГА - 3. На средах MS во всех модификациях рост мицелия не отмечался. Полное обрастание за 31 сутки (92 мм) было отмечено для питательных сред СА4% и 10%, Чапека. На СА и КГА полное обрастание субстрата отмечалось на 38-е и 34-е сутки соответственно. На питательной среде Сабуро мицелий достигал показателей роста 83,0±8,6 мм на 28 сутки, после чего полностью ферментировал субстрат и лизировался.

Для дальнейшей наработки и описания морфологических особенностей *C. domesticus* была отобрана питательная среда КГА.

Мицелий белый, пушистый. Форма колонии круглая. Профиль бугристый с куполообразной центральной частью и пятном угасания роста мицелия на месте сильной ферментации субстрата, которая проявляется на реверсе в виде фиолетовой окраски.

Полученный изолят *C. domesticus* был генетически верифицирован и депонирован в базу NCBI под номером OQ694595.

Агаровые блоки с чистой культурой стерильно переносили на пропаренное и автоклавированное зерно овса, и после инокулировали им субстрат на основе торфа. В лабораторных условиях осуществляли посев семян сосны обыкновенной для изучения влияния изолята на жизнеспособность однолетних сеянцев. Показано, что после 1 месяца выращивания всхожесть и сохранность сеянцев составила 96 % и 84%, соответственно

На основании изученных особенностей будет проведена оптимизация методики наработки мицелия *C. domesticus* для микоризации посадочного материала хвойных древесных пород

## ВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* ШАЛФЕЯ ДУБРАВНОГО СОРТА ROSE QUEEN

А. Хасейн, Б.К. Тезекбаева, Н.П. Малахова

Институт молекулярной биологии и биохимии им М.А. Айтхожина,  
Казахстан, 050012, Алматы, Досмухамедова 86  
e-mail: leogold24@mail.ru

**Ключевые слова:** шалфей, декоративные растения, культивирование *in vitro*

Шалфей или сальвия (*Salvia nemorosa*) - травянистое растение с красивыми цветами и приятным ароматом, применяемый в парфюмерии, кулинарии, виноделии, медицине, косметологии и ландшафтном дизайне. Насчитывается около 700 разновидностей шалфея, одним из которых является широко распространенный многолетник с высокой зимостойкостью - шалфей дубравный. Для сохранения биоразнообразия растений и удовлетворения спроса на цветочно-декоративные растения активно применяются биотехнологические методы производства.

Цель исследований - подбор протокола стерилизации и введения в культуру *in vitro* шалфея дубравного сорта *Rose Queen*.

Объектом исследования является шалфей дубравный сорта *Rose Queen*. Для введения в культуру *in vitro* использовали общепринятые методы культивирования тканей растений на искусственных средах. В качестве первичного экспланта использовали пазушные почки. Для стерилизации эксплантов использовали два способа: 1) с использованием 70% этанола и 10% раствора NaOCl; 2) с помощью триклозана в составе мыла и активным хлором в составе моющего средства. С целью введения в культуру *in vitro* побегов шалфея стерильные отрезки стеблей с боковыми почками высаживались на три варианта сред: 1) ½ МС с 1,0 мг/л НУК; 2) ½ МС с 0,5 мг/л НУК, 3) МС без гормона. Все эксперименты проводились в трехкратной повторности каждого варианта.

При использовании первого способа стерилизации отмечено 100% инфицирование эксплантов, тогда как при применении второго способа обработки, процент заражения эксплантов составил около 35%. Таким образом, из двух использованных способов стерилизации только во втором способе достигнута более высокая степень (65%) получения жизнеспособных стерильных эксплантов. Для введения в культуру *in vitro* стерильные пазушные почки высаживали на среду МС с разными концентрациями фитогормонов. Рост и развитие пазушных почек на всех вариантах сред протекали неодинаково. В первом варианте питательной среды (½ МС с 1,0 мг/л НУК) жизнеспособность эксплантов оказалась наиболее высокой и составила 53,6%. При этом на данной среде наблюдалось активное развитие микроклонов с появлением новых стеблей и листьев. Во втором (½ МС с 0,5 мг/л НУК) и третьем варианте сред (МС с 1,0 мг/л БАП) жизнеспособность эксплантов оказалось почти одинаковой, и составила, соответственно, 14,2% : 11,6%, что гораздо ниже результатов, полученных в первом варианте.

В ходе проведенного нами исследования подобран протокол стерилизации растительных эксплантов шалфея, выбран и оптимизирован гормональный состав питательных сред для введения их в культуру *in vitro*. Наилучшие результаты получены при втором способе стерилизации и использовании среды ½ МС с 1,0 мг/л для введения в культуру *in vitro* пазушных почек шалфея сорта *Rose Queen*.

## МИКРОКЛОНАЛЬНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ ШАЛФЕЯ ДУБРАВНОГО *SALVIA NEMOROSA L. COPTA ROSE QUEEN*

А. Хасейн, Б.К. Тезекбаева, Н.П. Малахова

Институт молекулярной биологии и биохимии им. М.А. Айтхожина,  
Казахстан, 050012, Алматы, Досмухамедова 86  
e-mail: leogold24@mail.ru

**Ключевые слова:** шалфей, цветочно-декоративные растения, *in vitro*, микрклональное размножение

Активно используемые в последние десятилетия биотехнологические методы размножения растений обеспечивают ускоренное получение новых ценных сортов, форм и линий сельскохозяйственных, лекарственных и цветочно-декоративных культур. В большинстве стран метод микрклонального размножения приобрел коммерческий характер и поставлен на промышленную основу. Большое количество видов рода Шалфей (*Salvia*) в настоящий момент широко применяется в фитодизайне и городском озеленении, многие виды являются продуцентами различных биологических активных соединений, используемых в фармацевтике и косметической промышленности. Особым интересом среди лекарственных и цветочно-декоративных культур в настоящее время пользуется шалфей дубравный.

Целью исследований является микрклональное размножение шалфея дубравного сорта *Rose Queen* в культуре *in vitro*.

Микрклональное размножение является одним из способов вегетативного размножения растений в условиях *in vitro*. Для микрклонального размножения в качестве объектов использовали полученные в культуре *in vitro* растения-регенеранты шалфея. Для микрклонального размножения было протестировано три варианта питательных сред: 1) МС с 0,5 мг/л БАП; 2) ½ МС с 1,0 мг/л НУК, 3) МС с 1,0 мг/л БАП и 0,1 мг/л ГК. По достижении новыми побегами длины 4 - 5 см, с 3 - 4 почками каждый, их делили на микрочеренки с одним-двумя почками и культивировали на свежей питательной среде.

Для оптимизации протокола микрклонального размножения растений шалфея в условиях *in vitro* было использовано три варианта питательных сред, на которых проводили культивирование микрочеренков. После двух недель культивирования на первом (МС с 0,5 мг/л БАП) и на втором (½ МС с 1,0 мг/л НУК) варианте сред, длина развивающихся побегов была значительно меньше, по сравнению с растениями, выращиваемыми на третьем варианте среды. Кроме того, на первой и второй среде у микрклонов отсутствовал рост корневой системы, тогда как на растениях, культивируемых на третьем варианте среды, на 10 день отмечался рост первичных корней. Наиболее подходящей для микроразмножения шалфея средой оказался третий вариант, содержащий МС с 1,0 мг/л БАП и 0,1 мг/л ГК. На данной среде и прирост, и развитие побегов и корней начиналось гораздо раньше и было значительно интенсивнее. В результате из 26 побегов шалфея было получено 55 микрклона, вследствие чего оказалось актуально увеличение их количества с помощью микрочеренкования.

В результате проведенного нами исследования был подобран оптимальный состав питательной среды для микрклонального размножения шалфея дубравного сорта *Rose Queen*. Наилучшие результаты получены при использовании среды МС с 1,0 мг/л БАП и 0,1 мг/л ГК.

## ВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* ПЕРСПЕКТИВНЫХ СОРТОВ ВИНОГРАДА

А. Хасейн, Б.К. Тезекбаева, Н.П. Малахова, Г.А. Сулейманова

Институт молекулярной биологии и биохимии им М.А. Айтхожина КН МНВО РК,  
Казахстан, 050012, Алматы, Досмухамедова 86  
e-mail: leogold24@mail.ru

**Ключевые слова:** виноград, стерилизующий агент, введение в культуру *in vitro*

Виноград является одной из важных ягодных культур во всем мире. Индустрия столового и винного винограда является экономически важной составляющей для многих стран. В последнее время местные фермерские хозяйства проявляют значительный интерес к выращиванию перспективных сортов винограда. Основной способ размножения винограда – черенкование одревесневшими и зелеными черенками. Однако данный способ является малоэффективным и не может удовлетворить растущий спрос на здоровый посадочный материал. Для производства качественного посадочного материала этой культуры в развитых странах широко применяется биотехнологический метод микроклонального размножения.

Цель исследований – подбор оптимального протокола для введения в культуру *in vitro* винограда сортов Аркадия и Алиса.

В качестве исходного материала были взяты интенсивно растущие однолетние зеленые побеги винограда сортов Аркадия и Алиса. Для введения в культуру *in vitro* использовали общепринятые методы культивирования тканей растений. В качестве первичного экспланта использовали стеблевой сегмент с 2 пазушными почками. Для стерилизации эксплантов использовали два способа: 1) в слабом растворе марганцево-кислого калия – 10 мин., в проточной воде – 10 мин.; вымачивание в мыльном растворе – 30 мин., под проточной водой – 30 мин., 2) с использованием 70% этанола – 10 секунд., 20% раствора NaOCl 20 мин. Дальнейшие операции по стерилизации осуществляли в ламинарном боксе. После этапа стерилизации экспланты переносили на питательную среду для культивирования: 1) вариант - ½ среды Мурасиге и Скуга (МС) с добавлением хелата железа; 2) вариант - МС с 0,5 мг/л БАП и 0,2 мг/л ГК; 3) вариант - среда МС без гормонов.

Процент инфицирования эксплантов винограда после применения первого способа стерилизации составил 18% - для сорта Аркадия и 20% - для сорта Алиса (высажено по 45 эксплантов каждого сорта). При использовании второго способа стерилизации отмечено 100% инфицирование эксплантов у обоих сортов. Для дальнейшей стерилизации эксплантов выбран первый способ стерилизации. После стерилизации культивирование эксплантов проводилось на 3 вариантах питательных сред. Развитие пазушных почек испытываемых сортов на этапе ввода в культуру *in vitro* протекало неодинаково. Проведенные наблюдения показали, что на первом этапе культивирования (первые 14 дней) часть эксплантов (25% Аркадия, 40% Алиса) были некротизированы. После трех недель культивирования на первом варианте среды у обоих сортов винограда отмечался активный рост и развитие побегов, в то время как в остальных вариантах сред длина и количество развивающихся побегов были значительно ниже.

В процессе работы был подобран способ стерилизации и оптимизирован протокол введения в культуру *in vitro* пазушных почек для винограда сортов Аркадия и Алиса.

## ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ШТАММОВ РОДА *LACTOBACILLUS*, ИССЛЕДОВАНИЕ ИХ СВОЙСТВ И ПРОБИОТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА

Ю.А. Шамсиева, А.К. Кирибаева, Ж.Д. Акишев

Национальный центр биотехнологии, Казахстан, 010000, Астана,  
Кургальжинское шоссе 13/5  
e-mail: shpinyova@biocenter.kz

**Ключевые слова:** *Lactobacillus*, пробиотики, биоюгурт, молочнокислые, закваски

*Lactobacillus* – наиболее известный род молочнокислых бактерий, который в настоящее время насчитывает более 100 различных видов. В пищевых технологиях молочнокислые бактерии широко используются для сбраживания и переработки молока в кисломолочные продукты, творог, сыр. Поиск новых штаммов *Lactobacillus* для создания современных продуктов функционального питания и пробиотических препаратов до сих пор остается актуальной темой, поскольку данные микроорганизмы обладают широчайшим спектром полезных свойств. Однако использование новых штаммов лактобацилл в различных отраслях биотехнологии, в частности при производстве пробиотиков, возможно только после детального изучения их биологических свойств и корректной идентификации.

Объектом исследования являются молочнокислые бактерии, выделенные из домашних пищевых продуктов (молоко, саумал, кумыс, сыр, квашеная капуста).

В данном исследовании применялись методы микробиологии, молекулярной биологии и биохимии. Идентификацию штаммов проводили на основании морфологических, биохимических, молекулярно-генетических данных с использованием современной системы MALDI TOF масс-спектрометрии.

В ходе работы были выделены и идентифицированы 17 штаммов рода *Lactobacillus*, из них: *L. plantarum*, *L. delbrueckii*, *L. brevis*, *L. rhamnosus*, *L. paracasei*, *L. harbiensis*, *L. fermentum*, *L. curvatus*, *Enterococcus faecium*, *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc lactis*. Для изучения фенотипических свойств лактобактерий были проведены биохимические исследования: тест на каталазную активность, изучена способность каждого штамма к ферментации лактозы, способность к производству молочной кислоты и определён уровень чувствительности к антибиотикам. Исследования пробиотического потенциала позволили установить уровень выживаемости каждого штамма в моделированных условиях желудочно-кишечного тракта, уровень адгезии на клетках кишечника и его способность к конкуренции с патогенными микроорганизмами. На основании полученных данных установлено, что из всех изолятов три штамма *L. plantarum* VGM1, *L. plantarum* VS2 и *L. rhamnosus* VK1, выделенные из козьего молока, квашеной капусты и кумыса, соответственно, обладают наибольшими пробиотическими свойствами. Помимо этого *L. rhamnosus* VK1 и *L. delbrueckii* NU1 показали отличную сквашивающую способность, что позволило наработать данные штаммы в большом объеме, лиофильно высушить и использовать их в качестве закваски при приготовлении йогуртов из коровьего, козьего и овечьего молока. А благодаря добавлению пробиотических штаммов VGM1 и VS2 мы получили актуальный функциональный продукт – биоюгурт.

Логическим продолжением настоящей работы может быть дальнейшее исследование бактерий рода *Lactobacillus* с целью изучения механизмов действия пробиотических бактерий на микрофлору кишечника, иммунную систему и общее состояние здоровья человека.

6  
SECTION / БӨЛІМ / СЕКЦИЯ

GENE AND CELL ENGINEERING / ГЕНДІК ЖӘНЕ ЖАСУШАЛЫҚ ИНЖЕНЕРИЯ/  
ГЕННАЯ И КЛЕТОЧНАЯ ИНЖЕНЕРИЯ

## DESIGN OF sgRNAs FOR CRISPR/CAS9-MEDIATED EDITING OF LIGNIN BIOSYNTHESIS GENES IN *POPULUS ALBA* AND *POPULUS TRICHOCARPA*

V.A. Komarova, I.E. Kufko

*Forest Institute of the National Academy of Sciences of Belarus,  
Republic of Belarus, 246050, Gomel, 71 Proletarskaya str.  
e-mail: icufko@gmail.com*

**Keywords:** CRISPR/Cas9 editing, sgRNA design, agrobacterium-mediated transformation, *Populus trichocarpa*, *Populus alba*

The genus *Populus* is actively used throughout the world for environmental, agroforestry and industrial purposes. Today, poplar is also recognized as a desirable crop for biofuel production and a model organism for physiological and ecological studies of woody plants. Genomic studies are currently underway on *Populus* spp. The genomes of 14 species and hybrids of this genus have been sequenced. In recent years, various advanced biotechnological techniques, including those based on CRISPR/Cas9, have been applied to *Populus* to genetically and genomically improve characteristics such as increased growth rate and tailored lignin composition. Basically, research on genetic editing of *Populus* is carried out in China (Zhejiang University, Chinese Academy of Sciences) and Germany (Georg August University of Göttingen). Such studies have not previously been conducted in the Republic of Belarus.

General work plan for project was:

- conducting a bioinformatic analysis of the genomes of 14 representatives of the genus *Populus* in the NCBI Internet resources;
- study of the genetic structure of target genes;
- study of functional loci of target genes. Determination of the degree of their polymorphism.
- identification of specific loci that are most suitable for introducing double-strand breaks.
- modeling of guideRNAs corresponding to specific sites of target genes using Internet resources CRISPOR and AspenDB;
- verification of sequences of elements encoding guideRNAs using the AspenDB database.

During the analysis of poplar genomes, genes CCoAOMT1 and CSE1 were found to play an important role in lignin biosynthesis. Then sgRNA sequences were designed to match the first exons's fragments that are included in the CDSs of these genes. The assumed efficiency of the first sgRNA (GCAGGAAGGCACCAGGAAGT for CCoAOMT1 gene) is 49%, of the second (GCCGTGGGTCATATATACCG for CSE1 gene) is 74%. Their non-target impact is insignificant.

The designed constructs will be used to introduce double-strand breaks into functional loci in order to knock out lignin biosynthesis genes. The developed elements of the CRISPR/Cas9 system will serve as the basis for obtaining forms of fast-growing tree species.

## Contents /Содержание/ Мазмұны

### 1 SECTION / БӨЛІМ / СЕКЦИЯ

Alikul A., Manapkyzy D., Ishchenko A., Saparbaev M.K., Taipakova S.M. Investigation of DNA strand equivalence in human mitochondria	10
Balgabekova A.B. Evaluating the changes and levels in TLR7, TLR4 and TMPRSS13 gene expression among individuals immunized with Sputnik-V	11
Belkozhayev A.M., Sharipov K.O., Wilson C.M. Investigating differentially expressed microRNA profiles in Huntington's disease and their potential as biomarkers for neurodegenerative disorders	12
Oleynikova E.Y., Zhigalova N.A. Potential role of RNA and DNA adenine methylation in R-Loops regulation in <i>Escherichia coli</i>	13
Ostapchuk Y.O., Mashzhan A.S., Kan S.A., Lushova A.V., Zhigailov A.V., Perflyeva Y.V., Abdolla N., Kuatbekova S.A., Naizabayeva D.A., Mamadaliyev S.M. Study of the epizootic situation on camelpox in the western and southern regions of the Republic of Kazakhstan	14
Ruzov A.S. N6- methyladenosine as a determinant of R-loop metabolism and genome stability in human pluripotent stem cells	15
Zolotova A.O., Katugin O.N. The use of partial sequencing of three mitochondrial genes (CO1, 16S rRNA and 12S rRNA) and two nuclear genes (18S and 28S) for species identification and resolving genetic relatedness among squid in the family Gonatidae	16
Әбдікерім С.Е., Скворцова Л.А., Джансугурова Л.Б., Жунусова Г.С. Қазақ популяциясында қуықасты қатерлі ісігі патогенезіндегі генетикалық варианттардың рөлі	17
Байжуманова С.С., Исмагулова Г.И., Искакова Г.А. Дәнді дақыл сорттарының β-глюкан синтезіне жауапты гендердің скринингі	18
Александрова А.М., Наргилова Р.М., Карпова О.В., Исаков Б.К., Пугин М.М. Использование кодирующих последовательностей белка оболочки и 25K белка S -вируса картофеля для запуска механизма РНК-интерференции в клетках картофеля	19
Аширбеков Е.Е., Жабагин М.К., Шарипов К.О. Разнообразие линий Y-хромосомы в племени Жетіру	20
Бауэр И.А., Жарков Т.Д., Купрюшкин М.С., Павлова А.С., Дмитриенко Е.В. Ассоциаты сывороточного альбумина человека с липофильными триазиламидофосфатными производными олигонуклеотидов	21
Бисенбай А.О., Остапчук Е.О., Жигайлов А.В., Дмитровский А.М., Скиба Ю.А. Распространенность боррелиозов на юго-востоке Республики Казахстан	22
Джугашвили Е.И., Юнусова Н.В., Коломиец Л.А., Тамкович С.Н. Уровень микроРНК в составе экзосом крови и асцитической жидкости как перспективные диагностические маркеры рака яичников	23
Дубовиченко М.Д., Батса М., Бобков Г.А., Власов Г.С., Эльдиб А.А., Колпащиков Д.М. Мультивалентные ДНКзимы для эффективного расщепления РНК	24
Жабагин М.К. База данных генетической изменчивости Y-хромосомы казахов	25
Кулигин А.В., Остапчук Е.О., Кан С.А., Лушова А.В., Абдолла Н., Куатбекова С.А., Жигайлов А.В. Молекулярный и серологический мониторинг возбудителя вирусной диареи крупного рогатого скота в Казахстане	26
Кулигин А.В., Остапчук Е.О., Кан С.А., Лушова А.В., Куатбекова С.А., Скиба Ю.А. Молекулярное исследование боррелий группы возвратных лихорадок в южном регионе Казахстана	27

Мадухасова А.К., Хасенов Б.Б. Клонирование гена протеазы из <i>Bacillus paralicheniformis</i>	28
Можаровская Л.В., Ивановская С.И., Пантелеев С.В., Падутов В.Е. Полиморфизм ДНК-локусов сосны обыкновенной, ассоциированных с длиной целлюлозного волокна	29
Можаровская Л.В., Пантелеев С.В., Ивановская С.И., Падутов В.Е. Идентификация и структурно-функциональная аннотация NBS-LRR генов <i>Pinus sylvestris</i> L.	30
Мукушкина Д.Д. Особенности ассоциаций miRNA с mRNA кандидатных генов инфаркта миокарда	31
Надирова Л.Т., Бейсенов Д.К., Станбекова Г.Э., Жигайлов А.В., Исаков Б.К. Клонирование и модификация кДНК-генов рибосомного белка S6 из <i>Arabidopsis thaliana</i>	32
Найзабаева Д.А., Мальцева Э.Р., Чингисова Л.Т., Куатбекова С.А., Досмагамбет Ж.М., Бисмильда В.Л., Ералиева Л.Т., Скиба Ю.А. Молекулярно-генетический анализ штаммов <i>M. tuberculosis</i> , распространенных на территории Казахстана	33
Наргилова Р.М., Александрова А.М., Крылдаков Р.В., Карпова О.В., Исаков Б.К. Наследование признаков устойчивости к засухе, обусловленное экспрессией гена <i>ATDREB2A-CA</i> в <i>Nicotiana tabacum</i>	34
Оскорбин И.П., Филипенко М.Л. Новая обратная транскриптаза из термофильной бактерии <i>Apoxybacillus flavithermus</i> и её применение в ОТ-LAMP	35
Попова В.С., Хасенов Б.Б. Клонирование гена $\alpha$ -амилазы из <i>Bacillus paralicheniformis</i>	36
Райзер О.Б., Тагиманова Д.С., Хапилина О.Н. Генетическое разнообразие казахстанских популяций <i>Taraxacum officinale</i> Wigg	37
Скворцова Л.А., Перфильева А.В., Беспалова К.Б., Кузовлева Е.Б., Хамдиева О.Х., Кабышева Н.П. Опыт применения полноэкзомного секвенирования для определения мутаций, ассоциированных с развитием симптоматической эпилепсии и аутизма	38
Труфанов В.О., Исаева А.А., Щербakov Д.Н. Разработка псевдовиральных частиц буньявирусов для исследования ингибиторов их проникновения	39

## 2 SECTION / БӨЛІМ / СЕКЦИЯ

Aliyeva N.Kh., Aliyeva D.R., Suleymanov S.Y. The role of antioxidant defense systems in maize chloroplasts under salt stress	41
Manarkyzy D., Taipakova S.M., Saparbaev M.K. Futile repair catalysed by human mismatch-specific thymine-DNA glycosylase	42
Temirbekova A.Zh., Adylbek Zh. The effect of multispectral LED on tomato preservation	43
Zhumabekova A., Noma S.A., Özera E.T., Osman B. Immobilization of horseradish peroxidase enzyme onto polymeric microbeads and its usage in dye decolorization	44
Абайлдаев Э.О., Утегенова Г.А., Кузовлев В.А., Хакимжанов А.А. Биохимические свойства трипсин подобной протеазы гриба <i>Fusarium graminearum</i>	45
Абайлдаев Э.О., Утегенова Г.А., Кузовлев В.А., Хакимжанов А.А. Оптимизация условий культивирования гриба <i>Fusarium graminearum</i> с повышенной продукцией протеазы	46

Алиева А.Ш., Сердарова А.С. Биологическая активность листьев лавра благородного, растущего в городе Гянджа	47
Алиева Э.Э., Габиллов М.Э. Изучение биохимических свойств барбариса	48
Аллахвердиев Н.И., Алакбарова Ш.Э., Бабаев Г.Г. Влияние NaCl на активность H <sup>+</sup> -насосов в корнях, фотосинтез и количество биополимеров в листьях хлопчатника в онтогенезе	49
Алакбарова Ш.Е., Абиев Г.А., Бабаев Г.Г. Влияние солей на активность карбоангидразы и каталазы в листьях хлопчатника в онтогенезе	50
Бабарико Д.В., Бакакина Ю.С., Кашаева А.А., Цыбрук Т.В., Свирид А.В., Тумилович А.М., Гилеп А.А., Сяхович В.Э. Получение метаболитов оралтуринабола с использованием рекомбинантной стероидгидроксилазы CYP3A4 человека для целей допинг-контроля	51
Газиев А.Т., Джафаров А.М., Рахимли Э.Ф. Изучение биоактивных соединений полыни горькой	52
Гасанова А.Б., Алиева К.Т., Мамедова Р.А. Изучение эфирного масла ромашки обыкновенной ( <i>Chamomilla suaveolens</i> L.)	53
Гусиев Э.К. Жирно-кислотный состав масла семян <i>Vitis vinifera subsp. sylvestris</i> Gmel.	54
Маслакова К.Ю., Янгирова Л.Я. Активность каталазы у имаго <i>Musca domestica</i> L. природной популяции	55
Мельникова Е.А., Лукьянова К.А., Амаэгбери Н.В., Семенкова Г.Н. Гидроксипроизводные коричной кислоты ингибируют оксидазную активность миелопероксидазы	56
Олейник Г.А., Мажорина М.А., Черносонов А.А., Мельник Т.Н., Мельник Б.С., Коваль В.В., Баранова С.В. Сравнение структур лед-связывающих белков при взаимодействии со льдом	57

### 3 SECTION / БӨЛІМ / СЕКЦИЯ

Ostapchuk Y.O., Kan S.A., Lushova A.V., Abdolla N., Kali A., Tleulieva R., Perfilyeva Y.V. Trained immunity of human peripheral monocytes and neutrophils is induced by COVID-19 adenoviral vector vaccine and mild/moderate infection	59
Serikbay A.A., Zhundibaeva A.D., Abekova A.O., Murzageldinova S.G. Study of immunological properties of the drug substance of complex iodine compound on peripheral blood mononuclears	60
Zhundibayeva A.D., Abekova A.O., Serikbay A.A. Dendritic cell differentiation and iodine coordination compound toxicity	61
Әбсағит Л.Н., Кадырова И.А. COVID-19 Қарсы AdV5/AdV26 Gam-COVID-Vac вакцинасының эндотелий функциясының, коагуляцияның және тромбоциттерді белсендірудің биомаркерлеріне әсері	62
Абдусаттарова Ю.Р., Перфильева Ю.В., Кали А., Тлеулиева Р.Т., Әбен Д.С., Лушова А.В., Абдолла Н. Исследование возможной ассоциации между уровнем MDSC и антиген-специфической продукцией IFN-γ CD4 <sup>+</sup> Т-клетками	63
Әбен Д.С., Перфильева Ю.В., Абдолла Н., Кали А., Тлеулиева Р.Т., Лушова А.В., Абдусаттарова Ю.Р. Оценка антиген-специфического ответа В- и Т-клеток у разновозрастных мышей при иммунизации против COVID-19	64
Лушова А.В., Кан С.А., Абдолла Н., Тлеулиева Р.Т., Остапчук Е.О. Изучение влияния антигенов коронавируса SARS-CoV-2 на провоспалительную активность моноцитов человека	65
Пази М.Б., Екимова И.В. Шаперон GRP78 ослабляет нейровоспаление в модели болезни Паркинсона	66

- Седых А.В., Останкова Ю.В. Дизайн праймеров и условий ПЦР для раннего выявления редких миссенс-мутаций наследственного ангиоотека третьего типа 67
- Соколова В.В., Нуралиева Н.Ф., Исаева М.П., Савватеева Е.Н. Разработка методики мультиплексного анализа на основе специализированного гидрогелевого биочипа с одновременным определением индекса avidности аутоантител к антигенам ткани щитовидной железы 68

#### 4 SECTION / БӨЛІМ / СЕКЦИЯ

- Almasbekova A.A., Sarsenbaeva U.B., Saparbaev M., Sharipov K.O. Biochemical characterization of mutant forms of Apollo gene (SNM1B-Apollo-DCLRE1B) linked to hereditary kidney cancer 70
- Holder J.E., Wilson C.M. Investigating the impact of miRNAs on sortilin deregulation in non-small cell lung carcinoma 71
- Nikitina V.A., Schwarz A.P., Traktirov D.S., Apyratin S.A., Karpenko M.N., Krytskaya D.U., Klimenko V.M., Shcherbakova K.P., Trofimov A.N. Immediate impacts of medium-chain triglyceride supplementation on neuroplasticity gene expression, brain monoamine levels, and blood cytokine levels in male wistar rats 72
- Sekenova A.Ye., Sarsenova M.A., Issabekova A.S. Studying the potential of the cytokine-preconditioned mesenchymal stem cells for psoriasis 73
- Trofimov A.N., Mamytbekova G.K., Akbay B., Karapina O., Suleimen Y.M., Tokay T. Antimicrobial and cytotoxic properties of the root extracts of *Artemisia vulgaris* and *Artemisia glauca* from Kazakhstan 74
- Нармуратова Г.Х., Джуд Т. Дини., Абдолла Н. Ыйқы безінің бета клеткаларындағы инсулиннің тербелмелі секрециясын анықтау 75
- Абайлдаев А.О., Саткен К.С., Аширбеков Е.Е. Циркулирующие miR-145 и miR-21 при раке молочной железы в казахской популяции 76
- Азаматов Б.Н., Азаматова Ж.К., Борисов А.А., Калиев Д., Маратұлы Б., Плотников С.В. Микроструктура и антибактериальные свойства многослойных композитных покрытий Cu-Nb-Ta, нанесенных на иомедицинский сплав Ti-6Al-4V методом магнетронного распыления 77
- Азаматов Б.Н., Азаматова Ж.К., Борисов А.А., Догадкин Д.С., Калиев Д.И., Маратұлы Б., Плотников С.В., Сағидұғұмар А.Н. Микродуговые биоактивные кальций-фосфатные покрытия со сложной пористой архитектурой нанесенные на образцы из биомедицинского сплава Ti-6Al-4V 78
- Айрапетов М.И. Нейроиммунология алкоголизма 79
- Алжанұлы Б., Шарипов К. Выявление инсулина методом Хехст-окрашивания в клетках с CRISPR-активированным геном гормона 80
- Белослудцева Н.В., Старинец В.С., Ильзоркина А.И. Оценка уровня экспрессии генов митохондриальной динамики в коре головного мозга трансгенных мышей SOD1-G93A на развернутой стадии развития бокового амиотрофического склероза 81
- Вишнякова П.А., Ганцова Е.А., Киселева В.В., Арутюнян И.В., Хан И.И., Покровский В.С., Дашинимаев Э.Б., Ельчанинов А.В., Фатхудинов Т.Х. Получение макрофагов со стабильным противоопухолевым фенотипом для лечения рака молочной железы 82
- Досмағамбет Ж.М., Мальцева Э.Р., Бердыгулова Ж.А., Найзабаева Д.А., Жигайлов А.В., Скиба Ю.А. Изучение распространения вариаций SARS-CoV-2 в Казахстане во время пандемии COVID-19 83

Исаева Д.Н., Шойбек К.С. Определение генотоксического действия комбинированного препарата на буккальные клетки кролика методом микроядерного теста	84
Куатбек М.М., Остапчук Е.О., Дмитровский А.М., Машжан А.С., Битанова Э.Ж., Перфильева Ю.В. Серологический мониторинг Ку-лихорадки на территории южного региона Казахстана	85
Магазова А.Р., Балмуханова А.В., Шарипов К.О. Полиморфизм <i>Bgl</i> III гена <i>ITGA2</i> при диабетической ретинопатии в казахстанской популяции	86
Мокроусова В.О., Недурובה И.А., Хворостина М.А., Меглей А.Ю., Басина В.П., Попов В.К., Бухарова Т.Б., Гольдштейн Д. В., Кулаков А.А. Исследование свойств матриксов на основе полилактогликолида с аденовирусными векторами	87
Сарсенбаева У.Б., Алмасбекова А.Ә., Сапарбаев М.К., Шарипов К.О. Изучение aberrантной репарации, инициируемой мисмэтч-специфическими аденин-ДНК гликозилазами	88
Саткен Қ.С., Магазова А.Р., Абайлдаев А.О., Аширбеков Е.Е., Шарипов К.О. МикроРНК как биомаркер диабетической ретинопатии	89
Седельникова А.Ю., Дмитриенко Е.В. Гибридные молекулярно-импринтированные полимеры на основе магнитных наночастиц для биомедицинских применений	90
Соколова Е.В., Кроль Т.А., Минязева Ю.М., Балеев Д.Н. Водные вытяжки из растений рода <i>Filipendula</i> как компонент для создания продуктов функционального питания	91
Хамитова Н.Х., Қадірше Д.Қ., Саткен Қ.С., Абайлдаев А.О., Аширбеков Е.Е., Утегенова Г.А. Поиск кандидатных микроРНК на роль биомаркера дифференциальной диагностики рака легкого и туберкулеза	92
Холова А.М. Исследование эффективности интервальных гипоксических тренировок с использованием гипоксикатора «Эверест-1»	93
Шатунова Е.А., Королев М.А., Воробьева М.А. Получение ДНК-аптамеров и создание колориметрических систем на их основе для детекции белка DKK-1 при анкилозирующем спондилите	94
Шило П.С., Степанова М.Л., Захаренко А.А. Назначение молекулярно-направленной терапии на основании данных геномного профилирования пациентам с распространенными формами солидных опухолей в условиях реальной клинической практики в Российской Федерации	95

## 5 SECTION / БӨЛІМ / СЕКЦИЯ

Abilkhadirov A., Satenova A., Urazova M., Tuyakova A., Shaikhin S., Khalymbetova A. Search for influence factors in <i>Lactobacilli</i> with probiotic properties isolated from traditional kazakh foods	97
Doszhanova B.N., Satou E., Suzuki T., Turuspekov Y. Phytic acid analysis of soybean seeds grown in the south-east of Kazakhstan	98
Nagiyeva S.E., Ismayilova S.I. Effect of initial acidity (pH) of the environment on the biomass formation capacity of fungi of the genus <i>Ganoderma karst</i>	99
Yessenbekova N.A. Effect of thiourea and gibberellic acid on germination and growth of <i>Rhodiola sp.</i> seedlings	100
Астраханов М.Р., Мұсахметов А.С. Эстеразальқ активтілігі бар микроорганизмдерді тұрмыстық қалдықтар утилизациясында пайдалану мақсатында бөліп алу, идентификациялау және зерттеу	101
Рахатқызы А., Ерболова Л.С., Аубакирова Қ.П., Бакытжанова Ж.Н., Галиакпаров Н.Н. Жетісу 5 клонды телітушісін клондық микрокөбейту	102

Рахатқызы А., Ерболова Л.С., Аубакирова Қ.П., Бакытжанова Ж.Н., Галиякпаров Н.Н. <i>Golden Delicious</i> алма сортын <i>in vitro</i> жағдайында микротелу	103
Арыкбаева А.Б., Устенова Г.О., Шарипов К.О., Бейсебаева У.Т., Каухова И.Е. Применение лекарственного растения синеголовника плосколистного ( <i>Eryngium planum</i> L.) в народной медицине	104
Беленькая С.В., Щербиков Д.Н. Разработка панели продуцентов рекомбинантных ферментатов для синтеза мРНК	105
Кафарова О.О., Искендеров А.Т. Оптимизация протокола культивирования гибридов роз для микроклонального размножения	106
Масирбаева А.Д. Технология получения лиофилизата ассоциации молочнокислых бактерий	107
Мусабаева Б.К., Сармурзина З.С., Бисенова Г.Н., Абитаева Г.К., Бекшин Ж.М. Оптимизация рецептуры профилактических напитков	108
Пантелеев С.В., Константинов А.В., Кирьянов П.С., Падутов А.В., Можаровская Л.В., Вибе Е.П., Крекова Я.А. Молекулярно-генетическая диагностика доминирующей микробиоты насекомых-вредителей зеленых насаждений в окрестностях г. Астана	109
Сатенова А.М., Туякова А.К., Уразова М.С., Шайхин С.М. Разработка средств биоконтроля с целью продления сроков хранения и повышения качества плодов яблони	110
Тагиманова Д.С., Райзер О.Б., Хапилина О.Н. Получение асептической культуры и выращивание <i>in vitro</i> малоизученных эндемичных видов тюльпанов Казахстана <i>T. turgaica</i> и <i>T. auliekolica</i>	111
Тезекбаева Б.К., Хасейн А., Малахова Н.П. Введение ирги ( <i>Amelanchier canadensis</i> ) сорта Martin в культуру <i>in vitro</i>	112
Тезекбаева Б.К., Дмитриева К., Хасейн А., Малахова Н.П. Введение ежевики ( <i>Rubus caesius</i> ) в культуру <i>in vitro</i>	113
Хархасова И.А., Константинов А.В., Пантелеев С.В. Морфолого-культуральные особенности <i>Coprinellus domesticus</i> (Bolton) Vilgalys, Horple & Jacq. Johnson	114
Хасейн А., Тезекбаева Б.К., Малахова Н.П. Введение в культуру <i>in vitro</i> шалфея дубравного сорта <i>Rose Queen</i>	115
Хасейн А., Тезекбаева Б.К., Малахова Н.П. Микроклональное размножение шалфея дубравного <i>Salvia nemorosa</i> L. сорта <i>Rose Queen</i>	116
Хасейн А., Тезекбаева Б.К., Малахова Н.П., Сулейманова Г.А. Введение в культуру <i>in vitro</i> перспективных сортов винограда	117
Шамсиева Ю.А., Кирибаева А.К., Акишев Ж.Д. Выделение и идентификация штаммов рода <i>Lactobacillus</i> , исследование их свойств и пробиотического потенциала	118

## 6 SECTION / БӨЛІМ / СЕКЦИЯ

Komarova V.A., Kufko I.E. Design of sgRNAs for CRISPR/Cas9-mediated editing of lignin biosynthesis genes in <i>populus alba</i> and <i>Populus trichocarpa</i>	120
--	-----



ТОО «Астана Биомед Групп». Основными ценностями компании является полная прозрачность ценообразования и быстрая доставка. Наши сотрудники имеют опыт научно-исследовательской деятельности и знают, с какими проблемами сталкиваются ученые.

Мы принципиально используем лишь авиадоставку через почтовые сервисы FedEx и DHL, тем самым гарантируя Вам быстроту доставки, а также сохранность Ваших реагентов. У нас имеется свой склад для хранения реагентов при -20 0С и -80 0С. Имеется система для хранения в жидком азоте.

ТОО «Астана Биомед Групп» является официальным авторизованным дистрибьютором следующих компаний:

Abcam - антитела, ИФА наборы, КО Cell lines - эксклюзивные в Казахстане.

Qiagen - лидеры по выделению ДНК, плазмид, реагентов для ПЦР (<https://www.qiagen.com/us/>).

Cusabio - антитела, ИФА киты, протеины (<https://www.cusabio.com/>).

Наше партнеры:

ATCC - клеточные линии;

E&O laboratoies - сухие питательные среды, кровь животных, сыворотка (фармацевтическая чистота);

GenScript - синтез генов, олиго, клонирование в плазмиды;

Sionbiological - антитела, клеточные лизаты, протеины, cDNA, ПЦР праймера;

Cytoskeleton - антитела, белки.

Kuanysh Askarov,

Cell.:+7 705 421 2277

Astana Biomed Group, LLP

[www.abiomed.kz](http://www.abiomed.kz)



Компания ТОО «НПФ Медилэнд», организованная в 1993 году, является официальным дистрибьютором на территории Казахстана таких ведущих мировых производителей, как «BioMerieux» (Франция), «Becton Dickinson» (Бельгия), «BD Biosciences» (США), «Sysmex Corporation» (Япония), «BioSystems S.A» (Испания), Systec GmbH (Германия), Memmert GmbH (Германия), Eppendorf SE (Германия), SIA BioSan (Латвия), Sigma Laborzentrifugen GmbH (Германия), Qingdao Haier Biomedical Co., Ltd. (Китай), Sartorius AG и специализируется в области поставок медицинской техники, оборудования и расходных материалов для медицинских и научных лабораторий. Компания обеспечивает сервисное и постгарантийное обслуживание поставленного оборудования, проводит обучение специалистов организаций-заказчиков методикам работы на приборах и консультационную поддержку по поставляемому оборудованию в различных областях применения. Все специалисты компании регулярно проходят обучение и повышают свою квалификацию на заводах компаний-производителей и имеют соответствующие сертификаты.

ТОО «НПФ Медилэнд» ставит перед собой цели по внедрению инновационных технологий в области медицины и исследовательского оборудования, предоставляя в распоряжение клиентов последние технические разработки наряду с приборами, уже зарекомендовавшими себя и проверенными обширной практикой пользователей. Компания осуществляет консультирование клиента от этапа выбора оборудования с максимальным учетом его целей, задач и запросов, до послепродажной информационной поддержки в виде:

- организации и проведения учебных семинаров и научно-практических конференций;
- поддержке участия пользователей в международных программах фирм-производителей предлагаемого оборудования;
- оказания консультативно-методической и практической помощи пользователям оборудования;
- регулярного информирования о новинках в методиках, технологиях и оборудовании для клинической диагностики.



ТОО "ZALMA Ltd." (ЦАЛМА Лтд.) - является дистрибьютором медицинского, генетического общелабораторного и диагностического оборудования и расходных материалов на территории Казахстана и Кыргызстана более 15 лет. Компания занимается внедрением передовых лабораторных технологий в практику различных медицинских компаний, лабораторий, научно-исследовательских институтов и т.п.; осуществляет подготовку и реализацию комплексных решений для локальных лабораторий и клиник; оказывает сервисно-методическую поддержку. "ZALMA Ltd." - одна из самых надежных и динамично развивающихся компаний на казахстанском рынке, а также официальный дистрибьютор таких мировых производителей как Thermo Fisher Scientific, Invitrogen, Gibco, One Lambda, Applied Biosystems, Tecan, Devyser, MRC Holland и др.



## ОСНАЩЕНИЕ ЛАБОРАТОРИЙ РАЗЛИЧНОГО НАПРАВЛЕНИЯ БЫСТРАЯ ПОСТАВКА СО СКЛАДОВ В АЛМАТЫ:

- ЛАБОРАТОРНОГО ОБОРУДОВАНИЯ
- ХИМИЧЕСКИХ РЕАКТИВОВ ДЛЯ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ
- ЛАБОРАТОРНОЙ ПОСУДЫ
- ДИАГНОСТИЧЕСКИХ НАБОРОВ
- ТЕСТ-СИСТЕМ

Фирма VELD с 1994 года занимается оснащением различных лабораторий лабораторным оборудованием и расходными материалами в различные лаборатории на территории Республики Казахстан, Киргизии и Узбекистан. Спецификой работы нашей фирмы является большие товарные запасы (лабораторного оборудования, химических реагентов, лабораторной посуды, тест-систем и других товаров, необходимых для полноценной работы лаборатории), находящиеся на складе в г. Алматы. Это позволяет нам в короткие сроки обеспечить любую лабораторию всем необходимым для работы. Мы поставляем также лабораторное оборудование и расходные материалы под заказ. Являясь дистрибьютором крупнейших мировых производителей, мы имеем возможность поставки до 250000 наименований лабораторного оборудования и расходных материалов.

Одним из главных направлений фирмы является продвижение наукоемких технологий в Республике Казахстан. Специалисты фирмы осуществляют постоянный скрининг новых технологий, регулярно посещая международные выставки. После реализации новых методов и методик в приборе и программном продукте наши специалисты проходят подготовку в фирмах, наладивших производство, и начинают продвижение новых технологий на территории Казахстана.

Мы имеем достаточный штат сервисных инженеров, прошедших обучение на заводах-производителях по установке и обслуживанию.

При поставке оборудования, мы обеспечиваем установку оборудования, обучение специалистов работе на оборудовании. Сервисные инженеры осуществляют гарантийный и послегарантийный ремонт и сервисное обслуживание.

Наша компания сертифицирована на соответствие СТ РК ИСО 9001-2001 «Системы менеджмента качества».

Обращайтесь к менеджерам по продажам нашей фирмы и они с удовольствием помогут решить Ваши проблемы в лаборатории.

050004, Республика Казахстан,

г. Алматы, ул. Сейфуллина, 410

тел 8 (727) 2952270, 952269

факс 8 (727) 2794926

E-mail: [info@veld.kz](mailto:info@veld.kz)

[www.veld.kz](http://www.veld.kz)







**Институт молекулярной биологии  
и биохимии имени М.А. Айтхожина**

**Наши контакты:**

**Адрес: Казахстан, 050012, Алматы, ул. Досмухамедова, 86**

**Телефон: +7 (727) 292-18-52**

**e-mail: [imbb-acad.kz@mail.ru](mailto:imbb-acad.kz@mail.ru),**

**[info@imbb.org.kz](mailto:info@imbb.org.kz)**

**web-сайт: <https://imbb.org.kz>**

**Мы в социальных сетях**

 **@imbb.kz**

 **@imbb.org.kz**

 **@ imbb-kz**