

**Вестник биотехнологии
и физико-химической биологии
имени Ю.А. Овчинникова**

СОДЕРЖАНИЕ

Колонка главного редактора

К читателям. *Р.Г. Васильев* 4

Оригинальные статьи

Определение статуса метилирования регуляторных участков генов человека методом GluI-ПЦР анализа в реальном времени.

*А.Г. Акишев, М.А. Абдурашитов, С.Б. Олейникова,
В.Л. Ситько, П.И. Поздняков, С.Х. Дегтярев*..... 5

Разработка технологии и состава назального спрея на основе селективного штамма женьшеня *Panax ginseng* С.А. Мей.

*Л.И. Слепян, И.Е. Каухова, А.В. Басевич, А.А. Халимова,
М.В. Яковлева, И.И. Шантырь, М.А. Власенко*..... 13

Обзоры

Современные технологии получения биодизельного топлива.

*В.М. Пожидаев, К.В. Горин, Ю.В. Ульянова, К.А. Савин,
Я.Э. Сергеева, А.В. Комова, А.В. Борголов, Р.Г. Васильев*..... 20

Современные биоматематические методы анализа молекулярных внутриклеточных путей.

В.В. Саенко, Ю.В. Саенко, Д. Камашев, Н.М. Борисов, А.А. Буздин..... 40

Страницы истории

История создания первого отечественного промышленного биореактора.

А.А. Лещенко, А.С. Туманов, В.В. Тетерин, И.П. Погорельский, С.В. Багин, А.Г. Лазыкин, С.В. Логвинов, В.В. Бирюков..... 69

Хроника..... 74

Правила для авторов 78

**Yu.A. Ovchinnikov bulletin
of biotechnology and
physical and chemical biology**

CONTENTS

Column of the editor-in-chief

To readers. *R.G. Vasilov* 4

Original articles

Determination of the methylation status of the regulatory regions of human genes by GlAI-PCR analysis in real-time.

*A.G. Akishev, M.A. Abdurashitov, S.B. Oleynikov,
V.L. Sitko, P.I. Pozdnyakov, S.Kh. Degtyarev*..... 5

Development of technology and formulation of a nasal spray based on the selective strain of *Panax ginseng* C.A. Mey.

*L.I. Slepyan, I.E. Kauhova, A.V. Basevich, A.A. Halimova,
M.V. Yakovleva, I.I. Shantyr, M.A. Vlasenko*..... 13

Reviews

Modern technology for biodiesel.

*V.M. Pozhidaev, K.V. Gorin, Yu.V. Ulyanova, K.A. Savin,
Y.E. Sergeeva, A.V. Komova, A.V. Borgolov, R.G. Vasilov*..... 20

The modern biomathematical methods for analysis of molecular intracellular pathways.

V.V. Saenko, Yu.V. Saenko, D. Kamashev, N.M. Borisov, A.A. Buzdin..... 40

Pages of history

History of the development of the first Russian industrial bioreactor.

*A.A. Leschenko, A.S. Tumanov, V.V. Teterin, I.P. Pogorelsky,
S.V. Bagin, A.G. Lazykin, S.V. Logvinov, V.V. Biryukov*..... 69

The chronicle 74

Rules for authors 78

УДК 577.2.08

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТАТУСА МЕТИЛИРОВАНИЯ РЕГУЛЯТОРНЫХ
УЧАСТКОВ ГЕНОВ ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ GLAI-ПЦР АНАЛИЗА
В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ**А.Г. АКИШЕВ, М.А. АБДУРАШИТОВ, С.Б. ОЛЕЙНИКОВА,
В.Л. СИТЬКО, П.И. ПОЗДНЯКОВ, С.Х. ДЕГТЯРЕВ*НПО «СибЭнзим», Новосибирск*

Метод GlaI-ПЦР анализа в реальном времени предложен для определения статуса метилирования регуляторных участков генов человека. Метод включает в себя гидролиз геномной ДНК метилзависимой сайт-специфической ДНК-эндонуклеазой GlaI с проведением последующей ПЦР в реальном времени с праймеров, окаймляющих анализируемый фрагмент ДНК. С помощью предложенного метода GlaI-ПЦР анализа в реальном времени определен статус метилирования регуляторных областей генов HDAC4, URB1 и RARB в ДНК из лейкоцитов здоровых людей. Показано, что в семи исследованных препаратах ДНК регуляторные участки генов HDAC4 и URB1 полностью метилированы, в то время как первый экзон гена RARB метилирован в незначительной степени. GlaI-ПЦР анализ может быть использован для определения статуса метилирования любых уникальных участков генома человека и других млекопитающих.

Ключевые слова: метилирование ДНК, ДНК-эндонуклеазы, ПЦР в реальном времени.

С. 5-12

**DETERMINATION OF THE METHYLATION STATUS OF THE REGULATORY
REGIONS OF HUMAN GENES BY GLAI-PCR ANALYSIS IN REAL-TIME**A.G. AKISHEV, M.A. ABDURASHITOV, S.B. OLEYNIKOV,
V.L. SITKO, P.I. POZDNYAKOV, S.Kh. DEGTYAREV*SibEnzyme Ltd., Novosibirsk*

Method of real-time GlaI-PCR assay is developed to determine DNA methylation status of the regulation regions of human genes. The method includes DNA hydrolysis by methyl-directed site-specific DNA endonuclease GlaI with subsequent real-time PCR from the primers flanking the DNA fragment of interest. Determination of DNA methylation status of regulation region of HDAC4, URB1 and RARB genes in DNA preparations from human leukocytes has been carried out with real-time GlaI-PCR assay. It is shown that in seven DNA preparations from leukocytes the regulation region of HDAC4 and URB1 genes are methylated whereas a first exon of RARB gene is slightly methylated. Real-time GlaI-PCR assay may be used for determination of DNA methylation status of any unique regions of human and mammalian genomes.

Keywords: DNA methylation, DNA endonucleases, real-time PCR.

УДК 581.143.6+633.12:577.122

**РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ И СОСТАВА НАЗАЛЬНОГО СПРЕЯ
НА ОСНОВЕ СЕЛЕКТИВНОГО ШТАММА ЖЕНЬШЕНЯ
PANAX GINSENG C.A. MEY**

Л.И. СЛЕПЯН¹, И.Е. КАУХОВА¹, А.В. БАСЕВИЧ¹, А.А. ХАЛИМОВА¹,
М.В. ЯКОВЛЕВА², И.И. ШАНТЫРЬ², М.А. ВЛАСЕНКО²

¹ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия»,

²ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины
им. А.М. Никифорова МЧС России», Санкт Петербург

В работе исследована возможность и разработаны технология и состав назального спрея из биомассы селективного штамма женьшеня обыкновенного *Panax ginseng* C.A. Mey., выращенного на питательной среде, содержащей минеральную воду из источника № 12 Красноустьинского района Республики Башкортостан. Установлены оптимальные параметры экстрагирования биомассы с применением ультразвуковых волн. Методом масс-спектрографии с индуктивно связанной аргонной плазмой (ИСП-МС) определен элементный состав фугата – водного извлечения из биомассы селективного штамма. Оценены показатели качества полученного спрея.

Ключевые слова: биотехнология, элементный состав морской и минеральной воды, селективный штамм женьшеня, технология и состав назального спрея.

С. 13-19

**DEVELOPMENT OF TECHNOLOGY AND FORMULATION OF A NASAL
SPRAY BASED ON THE SELECTIVE STRAIN OF PANAX GINSENG C.A. MEY.**

L.I. SLEPYAN¹, I.E. KAUKHOVA¹, A.V. BASEVICH¹, A.A. HALIMOVA¹,
M.V. YAKOVLEVA², I.I. SHANTYR², M.A. VLASENKO²

¹St. Petersburg State Chemical-Pharmaceutical Academy,

²A.M. Nikiforov All-Russian Center of Emergency and Radiation Medicine,
EMERCOM of Russia, St. Petersburg

We have studied the possibility and developed the technology and structure of the nasal spray from biomass selective strain of *Panax ginseng* C.A. Mey., grown on a nutrient medium containing mineral water from the source number 12 Krasnousolsk district of Bashkortostan. The optimum parameters biomass extraction using ultrasonic waves were determined. The method of mass spectrometry with inductively coupled argon plasma (ICP-MS) defined the elemental composition of supernatant – water extraction from biomass selective strain. Performance quality of the spray was estimated.

Keywords: biotechnology, elemental composition of marine and mineral water, selective strain of ginseng, technology and composition of a nasal spray.

УДК 662+631

**СОВРЕМЕННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ
БИОДИЗЕЛЬНОГО ТОПЛИВА**В.М. ПОЖИДАЕВ¹, К.В. ГОРИН¹, Ю.В. УЛЬЯНОВА³, К.А. САВИН²,
Я.Э. СЕРГЕЕВА¹, А.В. КОМОВА¹, А.В. БОРГОЛОВ¹, Р.Г. ВАСИЛОВ¹¹*Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»,*²*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,*³*Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, Москва*

В работе рассматривается один из перспективных возобновляемых источников энергии – биодизельное топливо. Приводятся его подробное описание и преимущества в сравнении с ископаемым топливом. Представлены основные способы получения биодизельного топлива. Особое внимание уделено ферментативному катализу, применяемому в реакции переэтерификации, с детальным описанием ферментов – липаз. Перечислены ключевые факторы, влияющие на процесс получения биодизельного топлива. Рассмотрены способы иммобилизации фермента липазы, включая иммобилизацию на поверхности клеточной стенки. Охарактеризованы главные типы биореакторов, используемые для проведения процесса переэтерификации, перечислены их достоинства и недостатки.

Ключевые слова: биотопливо, биодизельное топливо, иммобилизация ферментов, липаза, ферментативный катализ, переэтерификация, биореактор.

С. 20-39

MODERN TECHNOLOGY FOR BIODIESELV.M. POZHIDAEV¹, K.V. GORIN¹, Yu.V. ULYANOVA³, K.A. SAVIN²,
Y.E. SERGEEVA¹, A.V. KOMOVA¹, A.V. BORGLOV¹, R.G. VASILOV¹¹*National Research Centre «Kurchatov Institute»,*²*M.V. Lomonosov Moscow State University,*³*D.I. Mendeleev Russian Chemical-Technological University, Moscow*

The paper deals with one of the most promising renewable energy sources – biodiesel. We give a detailed description and advantages compared with fossil fuels. The main methods for producing biodiesel were presented. Particular attention has been paid to enzymatic catalysis employed in the transesterification reaction, with a detailed description enzymes – lipases. Lists the key factors influencing the process of obtaining biodiesel. The methods for immobilizing the lipase enzyme, including immobilization on the cell wall surface were described also. We characterize the main types of bioreactors used for the transesterification, lists their advantages and disadvantages.

Keywords: biofuels, biodiesel, immobilization of enzymes, lipase, enzymatic catalysis, transesterification, the bioreactor.

**СОВРЕМЕННЫЕ БИОМАТЕМАТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА
МОЛЕКУЛЯРНЫХ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ ПУТЕЙ**В.В. САЕНКО¹, Ю.В. САЕНКО¹, Д. КАМАСHEV², Н.М. БОРИСОВ², А.А. БУЗДИН²¹*Научно-исследовательский технологический институт им. С.П. Капицы, Ульяновский государственный университет,*²*Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва*

Совершенствование арсенала методов молекулярной биологии открыло новую веху в развитии науки, когда изучению подвержены целые геномы, транскриптомы и протеомы исследуемых объектов. Это ставит перед исследователями проблему анализа так называемых «больших данных». Для изучения больших объемов информации используются разнообразные биоинформатические подходы, нацеленные на сборку нуклеотидных последовательностей, поиск мутаций и различных аллельных вариантов, количественную оценку экспрессии генов и копийности геномных локусов. Вместе с тем задачи нового времени требуют не только высокопроизводительной аннотации единичных генетических элементов, но и создания интегрированных моделей, в максимальной мере учитывающих все многообразие доступной информации. Поэтому идеальным форматом выдачи переработанной информации могла бы стать не таблица, содержащая десятки тысяч или даже миллионы различных полей, а интерактивная модель, позволяющая в рабочем режиме детализировать по запросу пользователя интересующие его аспекты. Данная парадигма предусматривает наличие инструментов перехода от исходных (например, данных по генной экспрессии) к более высоким уровням анализа данных (например, к информации по функциональным изменениям внутриклеточных процессов). В итоге модель должна отражать то, как изменения исходных данных сказываются на процессах высокого порядка, таких как клеточный рост, деление, дифференцировка, миграция, старение и стресс. В настоящем обзоре рассмотрены современные методы, позволяющие сделать первый шаг к созданию вышеуказанной универсальной модели, основанные на агрегации данных по генной экспрессии. Эти подходы дают возможность продвинуться от информации о работе отдельных генов к пониманию функционирования их слаженных функциональных ансамблей, таких как внутриклеточные сигнальные и метаболические пути, пути перестройки цитоскелета и репарации ДНК.

Ключевые слова: транскриптомика, протеомика, экспрессия генов, внутриклеточные молекулярные пути, метаболические пути, сигнальные пути, биоинформатический анализ, биоматематические алгоритмы.

С. 40-68

**THE MODERN BIOMATHEMATICAL METHODS FOR ANALYSIS
OF MOLECULAR INTRACELLULAR PATHWAYS**V.V. SAENKO¹, Yu.V. SAENKO¹, D. KAMASHEV², N.M. BORISOV², A.A. BUZDIN²¹*S.P. Kapitsa Technological Research Institute, Ulyanovsk State University, Ulyanovsk;*²*National Research Centre «Kurchatov Institute», Moscow*

Improvement of molecular biology methods has opened a new age of bioscience that allows studying whole genomes, transcriptomes and proteomes of the living organisms. New age of bioscience put a new problem before researchers. This problem is related to analyzing the so-called «big data». For processing the large quantities of information, there are used a wide variety of bioinformatics approaches, such as assembly of nucleotide sequences, search of mutations and different allelic variants, quantification of gene expression

and estimation of copy number of genomic loci. However, the challenges of the new age of bioscience require not only high-performance annotation of single genetic elements, but also creation of integrated models, which can combine all available information. Therefore, the ideal format for the output of the large quantities of information is not a table that contains tens of thousands or even millions of different fields and parameters, but the interactive model that allows operating different values and parameters upon a request for aspects of interest. This paradigm should provide a transition from the rawdata level (e.g., data on gene expression) to the higher levels of analysis (for example, information on the functional changes of intracellular processes). As a result, the model should reflect how the changes in initial level of cell response to environmental condition (change in gene expression, mutation process etc.) affect the higher-level processes such as cell growth, division, differentiation, migration, aging and stress. This review deals with the modern methods for the creation of the above-mentioned universal model, based on the aggregation of data on gene expression. These approaches make a step from the information on the performance of individual genes to understanding the functioning of their concerted functional ensembles, such as intracellular signaling and metabolic pathways, cytoskeletal reorganization and DNA repair.

Keywords: transcriptomics, proteomics, gene expression, intracellular molecular pathways, metabolic pathways, signaling pathways, bioinformatics analysis, biomathematic algorithms.

УДК 57.083.13

**ИСТОРИЯ СОЗДАНИЯ ПЕРВОГО ОТЕЧЕСТВЕННОГО
ПРОМЫШЛЕННОГО БИОРЕАКТОРА**

А.А. ЛЕЩЕНКО, А.С. ТУМАНОВ, В.В. ТЕТЕРИН, И.П. ПОГОРЕЛЬСКИЙ,
С.В. БАГИН, А.Г. ЛАЗЫКИН, С.В. ЛОГВИНОВ, В.В. БИРЮКОВ

*Научно-исследовательский центр ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт»
Министерства обороны РФ, Киров*

В обзоре приведены исторические сведения о создании первого в стране опытного образца промышленного биореактора, рассмотрено устройство этого аппарата для культивирования микроорганизмов. Представлены научно-исторические материалы о разработчике данного биореактора Алексее Филипповиче Шестеренко. Оценен вклад конструктора в формирование биомедицинских технологий в стране.

Ключевые слова: биореактор, конструкция, технология, вакцина, история.

C. 69-73

HISTORY OF THE DEVELOPMENT OF THE FIRST RUSSIAN INDUSTRIAL BIOREACTOR

A.A. LESCHENKO, A.S. TUMANOV, V.V. TETERIN, I.P. POGORELSKIY,
S.V. BAGIN, A.G. LAZYKIN, S.V. LOGVINOV, V.V. BIRYUKOV

48 Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Kirov

Currently, the market of the biotechnological equipment is widely represented by modern industrial cultivators of microorganisms of various designs. However, very few people, even among the experts, knows where, when, by whom and, most importantly, for what purpose the design of the first bioreactor was developed and the first commercial prototype of the bioreactor in the country was created. The device of the first Russian apparatus for the cultivation of microorganisms is considered in the review. Scientific and historical materials about the developer of the bioreactor Alexei Filippovich Shesterenko are presented. Constructor contribution in biomedical technology equipping in our country is appreciated.

Keywords: bioreactor, design, technology, vaccine, history.