

УДК 091.541.127; 577.15

## **ИЗУЧЕНИЕ БИОКАТАЛИЗАТОРОВ И ВОЗМОЖНОСТЕЙ ИХ ПРАКТИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В РАМКАХ ФЕДЕРАЛЬНОЙ ЦЕЛЕВОЙ НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОЙ ПРОГРАММЫ РОССИИ «ИССЛЕДОВАНИЯ И РАЗРАБОТКИ ПО ПРИОРИТЕТНЫМ НАПРАВЛЕНИЯМ РАЗВИТИЯ НАУКИ И ТЕХНИКИ»**

**Е.А. Зайцева, Т.А. Осипова**

*(Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, химический факультет; тел./факс (095) 939-54-17, (095) 932-89-78; e-mail: zai@enz.chem.msu.ru)*

**В обзоре изложены основные достижения поисково-прикладных научно-исследовательских работ в области биокатализа, проводимых по проекту «Биокаталитические технологии» ФЦНТП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития науки и техники» и имеющих развитие в 2005–2006 гг. Представлены технологии с использованием биокатализаторов для целей целлюлозно-бумажной, текстильной, пищевой промышленности и сельского хозяйства. Даны характеристики созданных высокочувствительных методов анализа для защиты окружающей среды, контроля качества пищевых продуктов, медицинской диагностики. Приводятся примеры разрабатываемых лекарственных средств и материалов на основе ферментов и их регуляторов для лечения сердечно-сосудистых, онкологических и глазных болезней, для терапии ран и ожогов.**

Биокатализ – одна из наиболее инвестиционно привлекательных областей биотехнологии. Мировой рынок биокатализаторов, включая ферменты, субстраты, а также устройства на их основе, оценивается в десятки миллиардов долларов и постоянно растет.

Масштабность сферы применения ферментов и катализаторов на их основе определяется возрастающим вкладом биокаталитических технологий в экономику развитых стран. В ближайшее десятилетие сохранят актуальность исследования по применению биокатализаторов для целей промышленности, сельского хозяйства, тонкого органического синтеза, защиты окружающей среды, медицинской и экологической диагностики; для разработки лекарственных средств на основе ферментов и их регуляторов; для получения и использования возобновляемых источников энергии и экологически чистых топлив.

В настоящей работе представлен краткий обзор новейших результатов научных исследований и разработок ученых Московского университета им. М.В. Ломоносова и некоторых институтов РАН, выполненных в рамках проекта «Биокаталитические технологии» в 2002–2004 гг. и получивших продолжение в ряде новых проектов ФЦНТП

«Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития науки и техники».

### **Ферменты и биокатализаторы для целей промышленности и сельского хозяйства**

Проблема использования ферментов в промышленности и в сельском хозяйстве очень важна, поскольку биокаталитические процессы эффективны, проходят в мягких условиях без образования токсичных продуктов и в ряде случаев не могут быть заменены на традиционные каталитические.

Так, технические ферментные препараты незаменимы в качестве кормовых добавок для сельскохозяйственных животных, при создании пищевых продуктов с новыми свойствами и вкусовыми качествами, при получении экстрактивных веществ, в производстве соков и спирта, в пивоварении и т.д. Они широко применяются в производстве первичной и вторичной целлюлозы, как компоненты моющих средств, а также для обработки текстильных изделий.

По данным статистики (“The worldwide directory of market research report. Studies and surveys”) объем продаж технических препаратов ферментов на мировом рынке в 2004 г. составил почти 1,5 млрд долл., при этом наиболее востребованными ферментными препаратами были протеазы (45%) и карбогидразы (более 35%), в том числе целлюла-

зы, гемицеллюлазы (ксилаказы), амилазы и др. Общий объем продаж технических ферментов в России в 2004 г. оценивается в 50 млн долл., из которых только 1/10 часть сегодня обеспечивается российскими производителями.

В связи с вышесказанным наиболее значимыми представляются работы, направленные на создание промышленных технологий получения отечественных ферментных препаратов карбогидраз и протеаз, не уступающих по качеству мировым аналогам, а в ряде случаев их превосходящих. К ним относятся совместные разработки получения технических препаратов целлюлаз,  $\beta$ -глюканаз, ксиланаз, маннаназ, галактаназ, арабиназ, пектиназ, ксилоглюканаз,  $\alpha$ - и  $\beta$ -галактозидаз,  $\alpha$ -амилазы, глюкоамилазы и др., проводимые в течение последних лет учеными МГУ им. М.В. Ломоносова, Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, ВНИИ пищевой биотехнологии РАСХН, Института биохимии им. А.Н. Баха РАН, а также компаниями ООО «Фермтек», ООО «Промфермент». Ферментные комплексы с использованием вышеуказанных ферментов перспективны для широкомасштабного применения в качестве кормовых добавок для рационов сельскохозяйственных животных и птиц ( $\beta$ -глюканазы, ксиланазы, пектиназы, фитазы); для промышленных процессов высокотемпературного разжижения и декстринизации крахмала ( $\alpha$ -амилаза), осахаривания крахмала и мальтодекстринов (глюкоамилаза); для получения белковых гидролизатов (кислая протеаза) при производстве спирта; в текстильной промышленности для обработки изделий (щелочная протеаза, кутиназа); в производстве моющих средств (щелочные протеазы); для производства соков (пектиназы); в целлюлозно-бумажной промышленности (целлюлазы, ксиланазы) и т.п. Разработаны лабораторные методы исследования, имитирующие процессы ферментации в промышленном масштабе. В качестве продуцентов ферментов используются штаммы микроорганизмов *Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Bacillus*, продуктивность которых существенно увеличена путем мутагенеза и селекции, а также путем оптимизации процессов культивирования. Подробно исследуются состав и свойства внеклеточных ферментных комплексов, продуцируемых дикими и мутантными штаммами. Выделены индивидуальные ферменты комплексов, играющие ключевую роль в применении ферментных препаратов. Успешно осуществляется промышленное производство жидких и сухих форм ферментных препаратов на биохимичес-

ких заводах России (Бердский завод биологических препаратов, Мичуринский экспериментальный завод и др.) [1–11].

В Институте биохимии им. А.Н. Баха РАН проводятся работы по использованию ферментов гемицеллюлаз (ксилаказ) для создания экологически чистых процессов отбеливания целлюлозы и мягких методов роспуска различных видов бумаги при ее производстве. Успешно проведены испытания ферментативного способа переработки трудно распускаемой макулатуры в целлюлозную массу с использованием препарата «Целлокандин» из *Geotrichum candidum* в промышленных условиях. Исследована возможность использования ферментов из мутантного штамма *Geotrichum candidum* ЗС-106 с различным соотношением целлюлаз и ксиланаз для интенсификации процесса отбеливания сульфатной хвойной и лиственной небеленой целлюлозы [12, 13].

Проводится сравнительное изучение лакказ из различных базидиальных грибов, а также поиск эффективных медиаторов для использования лакказ-медиаторных систем в биотехнологических процессах деградации экотоксикантов; обесцвечивания бумажной пульпы; получения химических соединений из лигнина, биопластиков; в качестве компонента биотопливных элементов. Отобран наиболее продуктивный штамм грибов *Trametes (Coriolus)* и подобрана среда, пригодная для крупномасштабного получения культуральной жидкости с высокой оксидазной активностью. Найден новый класс эффективных медиаторов лакказ (фенил-метил-пиразолоны). Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии проведен количественный анализ конверсии модельного соединения лигнина (вератрового спирта) в лакказ-медиаторной системе. Результаты сравнимы с аналогичными данными, полученными при использовании широко известного медиатора лакказ – 2,2'-азинобис-(3-этилбензтиазолин-6-сульфонат) (АБТС). [14–17].

С целью создания процессов промышленного синтеза циклодекстринов в Казанском государственном университете разработаны биокатализаторы на основе циклодекстринтрансфераз [18, 19]. Получены рекомбинантные штаммы микроорганизмов и культуры клеток растений – гиперпродуцентов циклодекстринтрансфераз, а также их иммобилизованные формы. Создана лабораторная коллекция продуцентов циклодекстринтрансфераз, выделенных из почв Татарстана.

Проводятся исследования, нацеленные на создание новых экологически чистых источников энергии –

биотопливных элементов – с использованием фермента гидрогеназы, способной катализировать реакцию окисления водорода. Разработаны электроды с гидрогеназой из *Thiocapsa rosepersicina*, адсорбированной на высокотехнологичные графитовые ткани, и созданы методы модификации поверхности электрода для увеличения каталитической активности адсорбированных гидрогеназ из других источников. Получены экспериментальные образцы ферментных топливных электродов, не уступающие платиновым [20, 21].

Ферменты являются уникальными катализаторами для энантиоселективного синтеза органических соединений. За последние два десятилетия было разработано и внедрено на практике большое количество таких процессов с участием ферментов различных классов – оксидоредуктаз, гидролаз, трансфераз и др. В МГУ им. М.В. Ломоносова ведутся работы по созданию формиаатдегидрогеназ с заданными свойствами для регенерации коферментов NAD(P)H, имеющих важное практическое значение для промышленного получения хиральных и физиологически активных соединений [22–28]. Методами сайт-специфического мутагенеза на основе данных по трехмерной структуре формиаатдегидрогеназы из бактерий *Pseudomonas sp.*101 получены ферментные препараты формиаатдегидрогеназ с измененными свойствами, обладающие повышенной активностью, температурной и химической стабильностью. Разработаны способы получения уникального, не имеющего природных аналогов фермента с измененной коферментной специфичностью от NAD<sup>+</sup> к NADP<sup>+</sup>, а также фермента с широким рН-оптимумом активности. Для обоих типов биокатализаторов созданы процессы их масштабированного получения с использованием рекомбинантных штаммов *E. coli*, что позволяет снизить на порядок себестоимость этих процессов по сравнению с существующим процессом получения формиаатдегидрогеназы из дрожжей *Candida boidinii*.

Большое значение имеет использование ферментативных процессов при производстве β-лактамных антибиотиков. Новые научные разработки и подходы, созданные в Институте физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, позволили оптимизировать реакции ферментативного синтеза новых пенициллинов и цефалоспоринов в концентрированных водных растворах, в гетерогенных системах «водный раствор–осадок», в пересыщенных водных растворах, при проведении твердофазных ферментативных реакций [29–33]. Показано существенное увеличение эффективности ферментативного синтеза за счет целенаправлен-

ного выбора условий проведения реакции на основе знаний механизма и кинетики ферментативных реакций ацильного переноса, достигнутого в последние годы [34–35].

#### **Биокаталитические системы для защиты окружающей среды, экологической и медицинской диагностики**

В течение последних лет в МГУ им. М.В. Ломоносова создан ряд эффективных экобиотехнологий с использованием биокатализаторов на основе микроорганизмов и изучены возможности их применения на реальных объектах окружающей среды.

Среди этих разработок следует отметить созданный совместно с Всероссийским институтом нефти и газа препарат «Родер» для биоремедиации нефтезагрязненных грунтов и водных поверхностей на территории России [36–38]. Препарат состоит из двух видов бактерий *Rhodococcus ruber* и *Rhodococcus erythropolis*, вызывающих синергический эффект в процессе деградации углеводородов. Результаты полевых испытаний, проведенных в районах Западной Сибири и Заполярья, а также в Республике Коми, показали высокую эффективность применения препарата для открытых водоемов и топких болот со средней степенью загрязнений менее 20 г/л.

Большие возможности открывает использование биокаталитических технологий для очистки сточных вод. Найдены новые решения, позволяющие расширить применимость высокоскоростной анаэробной обработки стоков при низких температурах (4–10°C), что особенно актуально в странах с холодным климатом. Полученные результаты успешно используются в действующих системах, включающих анаэробный реактор с восходящим потоком через слой гранулированной биомассы, для высокоэффективной очистки жидких навозных стоков, увеличения производства удобрений и биогаза, а также реутилизации воды [39, 40].

Представляются перспективными разработки систем разложения азокрасителей, обладающих токсичным, мутагенным и канцерогенным воздействием, с помощью метаногенного консорциума микроорганизмов [41]. На примере азокрасителя «Сириус» желтый продемонстрирована эффективность нового разработанного анаэробно-аэробного гибридного реактора для минерализации устойчивых к биоразложению сточных вод, содержащих азокрасители. Проведены исследования и показана возможность разложения кислотных азокрасителей (Acid Orange 6, Acid Orange 7 и Acid Orange 52) с использованием биока-

тализатора на основе гранулированного ила из анаэробного реактора EGSB [42].

Разработан технологический процесс удаления сероводорода и рекуперации элементарной серы из загрязненных газов и сточных вод, практически не требующий затрат на реагенты [43]. Биореактор, используемый в данной технологии, содержит бактерии рода *Thiobacillus*, которые окисляют сульфид до элементарной серы и выводят ее во внеклеточную среду. Полученная сера удаляется из системы методом седиментации и может в дальнейшем быть использована как отдельный полезный продукт.

Большую практическую значимость для детекции и уничтожения высокотоксичных химических веществ (пестицидов, боевых отравляющих веществ) приобретают ферментные препараты на основе органофосфатгидролазы, способной катализировать реакцию гидролиза фосфорорганических соединений [44]. Созданы новые генетические конструкции и штаммы, обеспечивающие высокий уровень экспрессии в клетках *E. coli* растворимой формы фермента, содержащего различные полигистидиновые последовательности [45–48]. Полученные образцы обладают улучшенной каталитической активностью по ряду субстратов, повышенной термостабильностью и смещенным в щелочную область рН оптимумом действия. Разработаны методы иммобилизации органофосфатгидролазы на тканевых носителях и продемонстрирована эффективность применения разработок в качестве индивидуальных средств защиты персонала, а также для детоксикации поверхностей, инструментов и оборудования [49].

Важным направлением в развитии новых экспрессных методов анализа и диагностики является создание биосенсорных устройств. Биосенсоры на основе ферментов занимают сегодня лидирующее положение как среди научных разработок, так и среди коммерческих сенсорных систем [50]. Последние результаты исследований продемонстрировали эффективность новых подходов к иммобилизации ферментов, а также значительное повышение чувствительности и селективности существующих амперометрических биосенсоров путем замены платиновых и пероксидазных электродов на электроды, модифицированные Берлинской лазурью [51–55]. Создан портативный экспресс-анализатор для определения пероксида водорода, глюкозы, глютамата, этанола и лактата [56].

Успешно проводятся работы по созданию биосенсорных систем для определения ингибиторов холинэстераз, представляющих собой высоко токсичные

пестициды [57–64]. Разработан биосенсор для анализа нейротоксичной эстеразы непосредственно в цельной крови человека, позволяющий осуществлять раннее прогнозирование развития симптомов отравления фосфорорганическими веществами [59–63]. На базе проточно-инжекционной амперометрической системы измерения уровня пероксида водорода разработан автоматический биосенсорный анализатор для определения фосфорорганических веществ и карбаматов в пробах воды, почвы и пищевых продуктах [64].

Мощный импульс развитию новых эффективных технологий изготовления биосенсоров придает привлечение подходов и методов нанотехнологии, позволяющих получать информацию о структуре биомолекул в нанометровом диапазоне. Предложена новая концепция биосенсорного анализа, основанная на подсчете наночастиц-маркеров, в рамках которой методами сканирующей зондовой микроскопии осуществляется подсчет отдельных наночастиц, образующихся в ходе биокаталитической полимеризации ряда субстратов [65]. Возможности предложенного подхода показаны на примере иммунохимического анализа трансферрина и вирусных частиц.

Широкое применение для контроля уровня загрязнений окружающей среды и детекции токсинов находят методы иммуноферментного анализа, в которых специфичность обеспечивается за счет взаимодействия антител с детектируемым веществом-антигеном, а для достижения требуемой чувствительности используются различные системы определения активности ферментных меток.

В настоящее время российскими учеными создан ряд иммуноферментных методик количественного и качественного контроля уровня загрязненности пестицидами природных объектов и пищевых продуктов. Большая часть этих методик сертифицирована и внедрена в практику. Спектр определяемых соединений охватывает 2,4-дихлорфеноксисукусную (2,4-Д), 2-метил-4-хлорфеноксисукусную (2-М-4-Х) и 2,4,5-трихлорфеноксисукусную (2,4,5-Т) кислоты [66–69], атразин [70, 71], симазин [72, 73], хлорсульфурон [74–76] и основные продукты их деструкции. Предел чувствительности для различных пестицидов варьируется в диапазоне 0,1–5 нг/мл при времени анализа от 10 до 60 мин.

Успешно ведутся работы по созданию иммуноферментных тест-систем со спектрофотометрической и хемилюминесцентной детекцией сигнала для определения антибиотиков в продуктах питания. Созданы опытные образцы для анализа стрептомицина, лево-

мицетина (хлорамфеникола) и ампициллина с пределом обнаружения 3,2, 0,03 и 50 нг/мл соответственно [77–81].

Разработаны методы группоспецифической иммунодетекции неионных поверхностно-активных веществ (ПАВ) по стабильному конечному продукту деструкции алкилфенолэтоксилатов – нонилфенолу, с высоким (10 нг/мл) уровнем чувствительности, что позволяет контролировать загрязненность различных водных образцов при экологическом мониторинге и контроле технологических процессов [82–86]. Установлено, что в рабочем диапазоне анализа обеспечивается выявление не менее 85% содержащихся в пробе молекул ПАВ независимо от структурной микрогетерогенности препаратов.

Учеными Московского университета разработаны и успешно применяются методы биолюминесцентного анализа для экспресс-детекции микроорганизмов, в том числе патогенных, основанные на ферментативной реакции окисления D-люциферина в присутствии АТФ. Созданы и выпускаются малыми партиями наборы биолюминесцентных реагентов, в состав которых входит рекомбинантная люцифераза светлячков, люциферин и другие компоненты, необходимые для генерации биолюминесценции, а также наборы реагентов для предобработки анализируемых образцов [87–91]. Наборы предназначены для контроля микробных загрязнений в пищевых продуктах и в питьевой воде, для определения общей микробной обсемененности поверхностей, для диагностики мастита у крупного рогатого скота.

Значительный прогресс в области практического применения метода достигнут при использовании специальных люминометрических кювет (филтраветт), дно которых изготовлено из бактериального мембранного фильтра [92]. Такая конструкция позволяет сочетать в одной кювете выполнение нескольких стадий анализа, в том числе удаление немикробного АТФ, концентрирование и разрушение микробных клеток, измерение концентрации АТФ. Предел обнаружения микробных клеток с использованием филтраветт – 200 клеток в кювете. С помощью разработанных методик можно определять общую микробную обсемененность (ОМО) сырого молока (предел обнаружения  $5 \cdot 10^3$  КОЕ/мл, длительность анализа 20 мин), сырого рубленого мяса (предел обнаружения  $10^3$  КОЕ/г, длительность анализа ~30 мин) и водопроводной воды (предел обнаружения  $10^3$  КОЕ/мл воды при длительности анализа 20 мин и предел обнаружения 1 КОЕ/мл при длительности анализа 6 ч), а также проводить эк-

спресс-анализ чистоты поверхностей при концентрации микробных клеток при загрязнении свыше  $10^2$  КОЕ/100 см<sup>2</sup> без специальной пробоподготовки [93–105].

#### **Лекарственные препараты нового поколения на основе ферментов и их регуляторов**

В рамках проекта «Биокаталитические технологии» к настоящему времени выполнен большой цикл исследований по разработке медицинских препаратов на основе ферментов и ферментных систем. Проведение работ в этой области позволит в ближайшем будущем получить лекарственные препараты для эффективного и исключаящего осложнения тромбозиса, действенные и безопасные антиоксидантные составы, средства для терапии ранений, инфицированных ран и ожогов, в том числе ожогов глаз, для нормализации протеолитического баланса в организме (рак, заболевания пищеварительного тракта, ишемии и др.), антимикробные медицинские препараты. Большинству разрабатываемых препаратов требуется химическая предобработка для снижения иммуногенности, повышения стабильности, снижения скорости выведения, придания свойства тропности и способности взаимодействовать на клеточном уровне. Поставленные цели достигаются с помощью различных методов конъюгирования, микрокапсулирования и иммобилизации белков, а также их специфической модификацией.

Исследования *in vivo*, проводимые в Институте экспериментальной кардиологии РК НПК МЗ РФ, показали выраженную антитромботическую активность биферментных конъюгатов модифицированной хондроитинсульфатом супероксиддисмутазы и каталазы. Найдены оптимальные сочетания компонентов, разработан лабораторный регламент и получены образцы действенных антитромботических средств для защиты сосудистых стенок [106–109].

Проведены работы, нацеленные на повышение эффективности и снижение побочных эффектов тромболитических агентов, используемых в клинике, а также на разработку новых препаратов. Изучено тромболитическое действие нативной урокиназы и ее ацилпроизводных, найдена оптимальная композиция урокиназа-ацил-урокиназа, обеспечивающая эффективность и пролонгированность действия [110–112].

Интенсивно исследуются свойства нового тромболитического агента – рекомбинантной стафилокиназы, которая находится на стадии клинических испытаний за рубежом. Проведены детальные сравнительные исследования стабильности в плазме, активаторных и фибринолитических свойств и уровня побочных эффектов стафилокиназы и стрептокиназы. Предложен

механизм фибрин-селективности действия стафилокиназы [113, 114]. Найдено, что тип гликозилирования плазминогена влияет на кинетику его активации стафилокиназой [115, 116].

В результате комплексного исследования различных комбинаций рекомбинантной стафилокиназы с тканевым активатором плазминогена или с одноцепочечным активатором плазминогена урокиназного типа (проурокиназой) обнаружены синергичные композиции этих агентов, позволяющие в 3 раза снизить общую терапевтическую дозу, а также уровень побочных эффектов каждого из них [117–119].

Проводится сравнительное изучение активаторных и фибринолитических свойств трипсино-подобного отечественного фермента лонголитина, выделенного из сапрофитного гриба *Artrobotrys Longa*, с другими активаторами плазминогена [120]. Представляется перспективным его применение на отечественном рынке для лечения тромбоэмболических заболеваний за счет низкой стоимости и доступности.

Выделен и изучен тромбино-подобный фермент анцистрон из яда змеи *Agkistrodon halys*, обитающей на территории России [121]. Разработан оригинальный способ получения растворимого фибрин-мономера путем обработки фибриногена анцистроном [122]. С использованием полученного фибрин-мономера разработан высокочувствительный кинетический сопряженный способ определения тканевого активатора плазминогена [123].

Перспективными являются работы ученых МГУ им. М.В. Ломоносова по изучению механизмов действия и получению новых ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента (АПФ), представляющих собой класс лекарственных препаратов первого выбора и применяемых для регуляции давления крови. Описан общий механизм функционирования двух активных центров в составе АПФ и показана принципиальная роль длины лиганда в реакциях гидролиза коротких и длинных субстратов при подавлении активности фермента короткими и длинными ингибиторами [124–126].

Совместно с МНИИ глазных болезней им. Гельмгольца в экспериментах на животных продемонстрирована высокая эффективность ингибиторов АПФ для терапии при ожогах и ранениях глаза, а также для лечения заболеваний, связанных с нарушением микроциркуляции в сетчатке глаза (глаукома, диабетическая ретинопатия и др.). Разработана фармацевтическая композиция в виде глазных капель и показана способность нового лекарственного средства одновре-

менно улучшать репаративные процессы и восстанавливать микроциркуляцию в глазу [127–130].

Для лечения заболеваний, связанных с нарушением протеолитического баланса в организме, проводятся исследования, направленные на создание лекарственных средств на основе ингибиторов протеиназ растительного и животного происхождения. Получена биологически активная добавка «ИНСОЛ» на основе ингибитора протеиназ типа Баумана–Бирк из сои (ВБИ), обладающая противовоспалительной, противоопухолевой и антиканцерогенной активностью [131]; создана технология производства апротинина («Ингипрол» для инъекций) из легких крупного рогатого скота [132] и получена разрешительная документация для его клинического применения, разработаны уникальные системы доставки ингибиторов протеиназ в виде конъюгатов с производными жирных кислот [133], пролонгированных полимерных конъюгатов [134], микрочастиц [135], полимерных мицелл и наночастиц [136], биорастворимых лекарственных покрытий [137]. Биорастворимые биоадгезивные пленки, содержащие «Ингипрол», разрешены Комитетом по новой медицинской технике РФ для применения в стоматологии [138]. Показано увеличение антивирусной активности апротинина при применении его в виде биоадгезивных биодеградируемых микросфер [139]. Развита методика инкапсулирования белков, гормонов, биокатализаторов в полиэлектролитные мультислойные микросферы [140], продемонстрировано контролируемое высвобождение белков из указанных микрочастиц [141]. Подобные системы могут быть использованы для создания пероральных гормональных препаратов [142] и биокаталитических систем [143].

Большое внимание уделяется разработкам лекарственных средств, способствующих быстрому заживлению ран, ожогов, радиационных поражений, которые могут эффективно применяться в полевых условиях, а также в реконструктивной травматической и пластической хирургии.

Развивается новая стратегия промотирования заживления ран с использованием факторов роста. Предложено использовать в качестве факторов, ускоряющих процесс заживления ран, протеиназы, тромбин и пептиды – агонисты рецептора тромбина из семейства рецепторов, активируемых протеиназами (PAR). Показано ускорение заживления ран у животных, вызванное усилением миграции, пролиферации клеток и неоваскуляризации в грануляционной ткани при использовании гидрогелей с инкапсулированными пептидами [144–148].

Созданы перевязочные средства с комплексной биологической активностью на основе трипсина, лизоцима, коллитина (полиферментный комплекс из поджелудочной железы свиньи), лизоамидазы, протеолитического комплекса белков из отходов крабового производства, иммобилизованных на нерастворимых текстильных носителях (диальдегидцеллюлоза, активированный и частично гидролизованный поликапроамид). Полученные средства эффективны для терапии гнойных и ожоговых ран, лечения послеоперационных рубцов и пролежней. В промышленном масштабе указанные средства выпускаются на опытном заводе при Институте текстильных материалов (ФГУП НИИТМ) [149–152]. Разработан новый тип ранозаживляющего перевязочного средства, обладающего мультиферментной активностью, на основе хитозана и протеолитического комплекса из гепатопанкреаса краба [153].

Учеными Московского государственного текстильного университета им. А.Н. Косыгина проводятся работы по созданию новых полимерных материалов – носителей лекарственных средств. Изучен процесс микрокапсулирования трипсина методом двойного эмульгирования с последующим удалением органического растворителя и определены способы предотвращения инактивации белка [154]. Исследуются возможности создания высоконабухающих белоксодержащих не растворимых в воде биологически активных мембран на основе хитозана [155–157]. Предложен метод модификации хитозановых пленок поверхностно-активным веществом (ПАВ), обеспечивающим формирование на пленке слоя, выполняющего роль полупроницаемой мембраны для замедления выделения лекарственного начала [158]. По способности поглощать и удерживать влагу разработанный материал превосходит все известные перевязочные средства. С использованием нерастворимого комплекса ПАВ-хитозан получены микрокапсулы, содержащие трипсин и уреазу, с контролируемой скоростью выделения белка [159]. Создан метод безреагентного способа модифицирования хитозана, с помощью которого получены образцы биологически активных хитозановых пленок, содержащих  $\alpha$ -фетопротеин. Испытания, проведенные на лабораторных животных, продемонстрировали преимущество применения хитозановых пленочных повязок перед традиционным способом лечения ожогов [160].

Большой практический интерес вызывают исследования бактериолитических ферментов микроорганизмов в связи возможностью их использования в

качестве антимикробных медицинских препаратов, в том числе и против бактерий, обладающих мультирезистентностью к антибиотикам. Из культуральной жидкости бактерии *Lysobacter sp.* XL 1 получен препарат лизоамидаза с комплексной бактериолитической активностью [161]. Широкий антимикробный спектр действия препарата обеспечивается совместной работой нескольких (не менее 10) бактериолитических ферментов различной локализации, входящих в его состав и принадлежащих по субстратной специфичности к классам гликозидаз (глюкозаминидазы и мурамидазы), N-ацетилмурамоил-L-аланинамидаз и эндопептидаз [162]. Показано, что ферментный комплекс лизоамидазы активно разрушает клетки бактерий и дрожжей *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Saccharomyces cerevisiae*, а также споры бактерий *Bacillus subtilis* и *Bacillus cereus*. Выделены и охарактеризованы индивидуальные ферменты препарата. Проводятся исследования, направленные на создание лекарственных средств, обладающих специфичностью в отношении различных видов бактерий и спор [163–167].

В заключение следует отметить, что большинство из представленных разработок в настоящее время имеет продолжение в ФЦНТП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям науки и техники» в 2005–2006 гг. Особенностью задач данного этапа программы является необходимость проведения исследований биокатализаторов на более качественном уровне, соответствующем мировым стандартам, а также проведения мероприятий программы, нацеленных на развитие инфраструктуры, создание малых предприятий для коммерциализации научно-технической продукции.

В связи с этим для получения и поиска новых ферментов целевого назначения большое внимание уделяется развитию инструментальных методов, позволяющих получать информацию о структуре белков в режимах высокой чувствительности, воспроизводимости, надежности. Эти методы основаны на масс-спектрометрии биомолекул и использовании подходов биоинформатики.

В рамках программы интенсивно проводятся исследования первичной и третичной структуры ферментов, применяемых в инженерной энзимологии (протеазы, пептидазы, эстеразы, амилазы, липазы, оксидоредуктазы, карбогидролазы, ДНК-полимеразы и др.), идентифицируются функциональные группы каталитических центров и группы, определяющие специфичность ферментов, осуществляется поиск но-

вых биокатализаторов в ряду белков микробного, животного и растительного происхождения, создается база данных по структурам практически значимых ферментов [168–173].

Для коммерциализации результатов исследований созданы и успешно функционируют новые малые предприятия, имеющие частичную финансовую под-

держку в программе «СТАРТ», такие как «Люмтек», «Аттометрикс», «БиоТИР», «Иннотех МГУ», «Инбиотех», «Русенс».

Проводимые мероприятия, безусловно, способствуют развитию научно-технического потенциала страны и призваны решать актуальные практические задачи народного хозяйства.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Синицын А.П., Марков А.В., Семенова М.В. и др. // Сб. "Микробные биокатализаторы и перспективы развития ферментных технологий в перерабатывающих отраслях АПК". М., 2004. С. 95.
2. Соловьева И.В., Окунев О.Н., Вельков В.В. и др. // Сб. "Микробные биокатализаторы и перспективы развития ферментных технологий в перерабатывающих отраслях АПК". М., 2004. С. 55.
3. Костылева Е.В., Цурикова Н.В., Нефедова Л.И. и др. // Сб. "Микробные биокатализаторы и перспективы развития ферментных технологий в перерабатывающих отраслях АПК". М., 2004. С. 21.
4. Цурикова Н.В., Бурцева Э.Н., Веселкина Т.Н. и др. // Сб. "Микробные биокатализаторы и перспективы развития ферментных технологий в перерабатывающих отраслях АПК" // М., 2004. С. 28.
5. Синицын А.П., Окунев О.Н., Матыс В.Ю. и др. // Производство спирта и ликероводочных изделий. 2001. № 3. С. 16.
6. Синицына О.А., Бухтояров Ф.Е., Гусаков А.В. и др. // Биохимия. 2003. **68**. № 11. С. 1494.
7. Синицына О.А., Гусаков А.В., Окунев О.Н. и др. // Биохимия. 2003. **68**. № 12. С. 1631.
8. Гусаков А.В., Попова Н.Н., Берлин А.Х. и др. // Прикл. биохим. микробиол. 1999. **35**. № 2. С. 137.
9. Gusakov A.V., Berlin A.G., Popova N.N. et al. // Appl. Biochem. Biotechnol. 2000. **88**. P. 119.
10. Sinitsin A.P., Gusakov A.V., Grishutin S.G. et al. // J. Biotechnol. 2001. **89**. P. 233.
11. Марков А.В., Гусаков А.В., Грицутин С.Г., Кондратьева Е. Г. и др. // Текстильная химия. 2003. № 2. С. 31.
12. Лапин В.В., Родионова Н.А., Загустина Н.А. и др. // Прикл. биохим. микробиол. 2002. **38**. № 4. С. 452.
13. Родионова Н.А., Дубовая Н.В., Энейская Е.В. и др. // Прикл. биохим. микробиол. 2000. **36**. № 5. С. 535.
14. Shleev S.V., Gyon Khan I., Gazaryan I.G. et al. // Appl. Biochem. Biotechnol. 2003. **111**. № 3. P. 167.
15. Шлеев С.В., Ир Гвон Хан, Морозова О.В. и др. // Прикл. биохим. микробиол. 2004. **40**. № 2. С. 165.
16. Шлеев С.В., Газарян И.Г., Горшина Е.С. и др. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2003. **44**. С. 35.
17. Shleev S.V., Morozova O.V., Nikitina O.V. et al. // Biochimie. 2004. **86**. № 9–10. P. 693.
18. Винтер В.Г., Фаттахов С.Г., Козлова Р.Ю., Резник В.С., Коновалов А.И. // Патент РФ на изобретение № 2174555 от 10.10.2001.
19. Кузнецова Н.Н., Николаева Е.В., Винтер В.Г. // Тр. Межд. конф. «Новая геометрия природы». г. Казань. 25 авг.–5 сент. 2003. 2. С. 190.
20. Morozov S.V., Vignais P.M., Cournac L. et al. // International J. Hydrogen Energy. 2002. **27**. P. 1501.
21. Karyakin A.A., Morozov S.V., Karyakina E.E. et al. // RF Patent Application No 2003112989/13(014144), 06.05.2003.
22. Rojkova A.M., Galkin A.G., Kulakova L.B. et al. // FEBS Letters. 1999. **445**. № 1. P. 183.
23. Tishkov V.I., Galkin A.G., Fedorchuk V.V. et al. // Biotechnol. Bioeng. 1999. **64**. N 2. P. 187.
24. Schwarz-Linek U., Krüdel A., Ludwig F.-A. et al. // Synthesis. 2001. **33**. N 6. P. 947.
25. Serov A.E., Popova A.S., Fedorchuk V.V., Tishkov V.I. // Biochem. J. 2002. **367**. Pt. 3. P. 841.
26. Тишков В.И. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2002. **43**. № 6. С. 380.
27. Тишков В.И., Попов В.О. // Биохимия. 2004. **69**. № 11. С. 1537.
28. Серов А.Е., Одинцева Е.Р., Упоров И.В., Тишков В.И. // Биохимия. 2005. **70**. № 7. С. 974.
29. Chilov G.G., Ljedas V.K. // Can. J. Chem. 2002. **80**. P.699.
30. Youshko M.I., Langen L.M. van, Vroom E. de et al. // J. Molecular Catalysis B:Enzymatic. 2000. **10**. P. 509.
31. Youshko M.I., Langen L.M. van, Vroom E. de et al. // Biotechnol. Bioeng. 2001. **73**. N 5. P. 426.
32. Youshko M.I., Moody H.M., Bukhanov A.L., Boosten A., Ljedas V.K. // Biotechnol. Bioeng. 2004. **85**. № 3. P. 323.
33. Youshko M.I., Ljedas V.K. // Adv. Synth. Cat. 2002. **344**. N 8. P. 894.
34. Youshko M.I., Chilov G.G., Shcherbakova T.A., Ljedas V.K. // Biochim. Biophys. Acta: Proteins & Proteomics. 2002. **1599**. N 1–2. P. 134.
35. Юшко М.И., Буханов А.Л., Шведас В.К. // Биохимия. 2003. **68**. № 3. С. 334.
36. Mats A.A., Murygina V.P., Ivashko R.S. // RF Patent No. 2069492 (1996).
37. Mats A.A., Murygina V.P., Ivashko R.S. // RF Patent No. 2069493 (1996).
38. Murygina V.P., Korotaeva E.V., Stolyarova A.V., Peterson L.R. // RF Pat. No. 2090697 (1997).
39. Kalyuzhnyi S. V., Gladchenko M. A., Sklyar V. I. et al. // Environ. Technol. 2000. **22**. P. 919.
40. Kalyuzhnyi S.V., Gladchenko M. A., Sklyar V. I. et al. // Appl. Biochem. Biotechnol. 2001. **90**. P.107.
41. Kalyuzhnyi S., Sklyar V. // Wat. Sci Technol., 2000. **41**. N 12. P. 23.
42. Yemashova N., Telegina I., Kotova A. et al. // Appl. Biochem. Biotechnol. 2004. **119**. N 1. P. 31.
43. Попова С.В., Эпов А.Н., Скляр В.И., Калюжный С.В. // Катализ в промышленности. 2004. № 2. С. 48.
44. Ефременко Е.Н., Сергеева В.С. // Изв. АН. Сер. хим. 2001. С. 1743.
45. Varfolomeyev S.D., Efremenko E.N., Aliev T.K., Votchitseva Yu.A. // RF Paten Application No 2002131715. Nov. 26. 2002.
46. Efremenko E.N., Aliev T.K., Votchitseva Yu.A., Varfolomeyev S.D. // RF Paten Application No 2003136646. Dec. 19. 2003.



47. Вотчицева Ю.А., Гудков Д.А., Перегудов А.А., Ефременко Е.Н. // Всерос. симпозиум «Биотехнология микробов». М., 20–23 октября 2004. С. 18.
48. Ефременко Е.Н., Кильдеева Н.Р., Перегудов А.А. и др. // Заявление о выдаче патента РФ №2004107942, приоритет от 18.03.2004.
49. Перминов П.А., Перегудов А.А., Ефременко Е.Н., Кильдеева Н.Р. // Тез. докл. производственной международной научно-технической конференции «Достижения текстильной химии», 7–9 сентября 2004, Иваново-2004. С. 62.
50. Карякин А.А., Уласова Е.А., Вагин М.Ю., Карякина Е.Е. // Сенсоры. 2002. **1**. С. 16.
51. Lukachova L.V., Kotel'nikova E.A., D'Ottavi D. et al. // IEEE Sensor J. 2003. **3**. N 3. P. 326.
52. Vlasova E., Moscone D., Micheli L., Vesii L. et al. // Electroanalysis. 2003. **15**. N 5. P. 1.
53. Ricci F., Palleschi G., Yigzaw Y., Gorton L. et al. // Electroanalysis. 2003. **15**. N 3. P. 175.
54. Karyakin A.A., Puganova E.A., Budashov I.A. et al. // Anal. Chem. 2004. **76**. P. 474.
55. Karyakin A.A., Karyakina E.E., Gorton L. // Anal. Chem. 2000. **72**. P. 1720.
56. Karyakin A.A., Kotel'nikova E. A., Lukachova L.V., Karyakina E.E. // J. Wang. Anal. Chem. 2002. **74**. P. 1597.
57. Гиндилис А.Л., Курочкин И.Н. // Прикл. биохим. микробиол. 1998. **34**. № 3. С. 326.
58. Makhaeva G.F., Sigolaeva L.V., Zhuravleva L.V. et al. // J. Toxicol. Environmental Health. 2003. **66**. Part A. P. 599.
59. Makhaeva G.F., Sigolaeva L.V., Zhuravleva L.V. et al. // ASA News Letters. 2002. **5**. N 2. P. 16.
60. Makhaeva G.F., Sigolaeva L.V., Zhuravleva L.V. et al. // In Proceedings of CBMTS-Industry II: The World Congress on Chemical and Biological Terrorism. 2002. P. 327.
61. Sigolaeva L.V., Makower A., Eremenko A.V. et al. // Analytical Biochemistry. 2001. **290**. N 1. P. 1.
62. Sigolaeva L.V., Makower A., Eremenko A.V. et al. // NeuroToxicology. 2000. **21**. N 4. P. 637.
63. Бармин А.В., Еременко А.В., Осипова Т.А., Курочкин И.Н. и др. // Сенсорные системы. 1999. **13**. № 3. С. 239.
64. Eremenko A.V., Kurochkin I.N., Sigolaeva L.V. et al. // Russian Chemical Journal of D.I. Mendeleev Society. 2004. XLVIII. N 4. P. 65.
65. Kurochkin I.N. // In Proceedings of the 2<sup>nd</sup> Moscow Int. Congress "Biotechnology: State of the Art and Prospects of Development", Moscow, Russia, Nov. 10–14. 2003. Part 2. P. 180.
66. Dzantiev B.B., Zherdev A.V., Yulaev M.F. et al. // Biosensors & Bioelectronics. 1996. **11**. N 1/2. P. 179.
67. Zherdev A.V., Bizova N.A., Yarovolov A.I. et al. // Appl. Biochem. and Biotechnol. 1999. **76**. N 3. P. 203.
68. Garcia Sanchez F., Navas Diaz A., Gonzalez Diaz A.F. et al. // Anal. Chim. Acta. 1999. **395**. N 1. P. 133.
69. Sanchez F. Garcia, Diaz A. Navas, Gonzalez Diaz A.F., Eremin S.A. // Anal. Chim. Acta. 1999. **378**. P. 219.
70. Yazyznina E.V., Zherdev A.V., Dzantiev B.B. et al. // Anal. Chim. Acta. 1999. **399**. N 1–2. P. 151.
71. Dzantiev B.B., Zherdev A.V., Romanenko O.G., Sapegova L.A. // Int. J. of Environ. Anal. Chem. 1996. **65**. N 1–4. P. 95.
72. Yulaev M.F., Sidikov R.A., Dmitrieva N.M. et al. // Sensors Actuators B. 2001. **75**. N 1–2. P. 129.
73. Starodub N.F., Dzantiev B.B., Starodub V.M., Zherdev A.V. // Anal. Chim. Acta. 2000. **424**. N 1. P. 37.
74. Eremin S.A., Ryabova I.A., Yakovleva J.N. et al. // Anal. Chim. Acta. 2002. **468**. N 2. P. 231.
75. Язынина Е.В., Жердев А.В., Еремин С.А. и др. // Прикл. биохим. микробиол. 2002. **38**. № 1. С. 14.
76. Дзантиев Б.Б., Язынина Е.В., Жердев А.В. и др. // Прикл. биохим. микробиол. 2002. **38**. № 1. С. 1.
77. Самсонова Ж.В., Рубцова М.Ю., Чикишева Л.В., Егоров А.М. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2002. **43**. № 6. С. 396.
78. Rubtsova M.Yu., Samsonova Z.V., Bashkurov M.L. et al. // Abstracts of VIIth International Conference on Agri-Food Antibodies, Sept. 10–13. 2003. Uppsala, Sweden. P. 06.
79. Rubtsova M.Yu., Samsonova J.V., Chikisheva L.A. et al. // Abstracts of VI<sup>th</sup> International Conference on Agri-Food Antibodies, October 3–5. 2001. Prague, Czech Republic. P. 53.
80. Самсонова Ж.В., Щелокова О.С., Иванова Н.Л. и др. // Прикл. биохим. микробиол. 2005. **41**. № 6. С. 668.
81. Samsonova J.V., Bashkurov M.L., Ivanova N.L. et al. // Food and Agricultural Immunology. 2005. **16**. N 1. P. 47.
82. Mart'ianov A.A., Dzantiev B.B., Zherdev A.V. et al. // Talanta. 2005. **65**. N 2. P. 367.
83. Mart'ianov A.A., Zherdev A.V., Eremin S.A., Dzantiev B.B. // International Journal of Environmental Analytical Chemistry. 2004. **84**. N 13. P. 965.
84. Samsonova J.V., Elliott C.T., Franek M. // Abstracts of VIIth International Conference on Agri-Food Antibodies, Sept.10–13. 2003. Uppsala, Sweden. P. 05.
85. Samsonova J.V., Uskova N.A., Andresyuk A.N. et al. // Chemosphere. 2004. **57**. N 8. P. 975.
86. Мартыанов А.А., Жердев А.В., Дзантиев Б.Б. // Сб. тез. докл. конференции «Аналитика России 2004», Москва, 27 сентября–1 октября 2004. С. 369.
87. Dement'eva E.I., Kutuzova G.D., Lundovskih I.A., Ugarova N.N. // RF Patent No 2164241 (1999).
88. Ugarova N.N., Brovko L.Yu., Belyaeva E.I., Berezin I.V. // RF Patent No 1041568 (1993).
89. Brovko L.Yu., Froundjian V.G., Romanova N.A., Ugarova N.N. // RF Patent No 2061045 (1996).
90. Brovko L.Yu., Froundjian V.G., Babunova V.S., Ugarova N.N. // J. Dairy Research. 1999. **66**. P. 627.
91. Фрунджян В. Г., Бабунова В.С., Угарова Н.Н. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2002. **43**. № 6. С. 389.
92. Froundjian V.G., Ugarova N.N., Trudil D.P. // Bioluminescence Chemiluminescence. Progress and Current Applications / Eds. Ph. E. Stanley, L.J. Kricka. World Scientific Publ. Co. 2002. P. 475.
93. Фрунджян В.Г., Дорошина О.С., Лебедева О.В. и др. // Ветеринария. 2005. № 6. С. 40.
94. Фрунджян В.Г., Угарова Н.Н., Пархоменко И.М. // Переработка молока. 2005. № 5. С.24.
95. Фрунджян В.Г., Угарова Н.Н., Пархоменко И.М. // Переработка молока. 2005. № 3. С. 24.
96. Фрунджян В.Г., Ломакина Г.Ю., Мороз Н.А., Угарова Н.Н. // Мясная индустрия. 2005. № 2. С. 54.
97. Фрунджян В. Г., Бабунова В. С., Угарова Н. Н. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2002. **43**. № 6. С. 389.
98. Авт. св. № 2420/124–2003. 2003.
99. Угарова Н.Н., Бровко Л.Ю., Титов А.И. и др. // Авт. св. № 1507795. 1989.
100. Беляева Е.И., Бровко Л.Ю., Трдатян И.Ю., Угарова Н.Н., Райнина Е.И. // Авт. св. № 1150267. 1984.
101. Фрунджян В. Г., Угарова Н.Н. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2000. **41**. № 6. С. 407.
102. Brovko L.Yu., Froundjian V.G. Babunova V.S., Ugarova N.N. // J. Dairy Research. 1999. **66**. P. 627.

103. Фрунджян В. Г., Угарова Н.Н., Гераймович О.А., Макеева И.А. // Практик. 2005. 7–8. С. 8.
104. Балинер Л.М., Богаутдинов З.Ф., Опарин Ю.Г., Угарова Н.Н., Фрунджян В.Г. // Ветеринария. 2002. № 9. С. 22.
105. Угарова Н.Н. // Сырье и упаковка. 2003. 31. № 2. С. 8.
106. Maksimenko A.V., Golubykh V.L., Tischenko E.G. // J. Pharm. Pharmacol. 2004. 56. P. 1.
107. Максименко А.В., Голубых В.Л., Тищенко Е.Г. // Первая международная конф. «Креативная кардиология. Новые технологии в диагностике и лечении заболеваний сердца». Москва, 29–30 марта 2002 г. Бюлл. НЦ ССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. 2002. 3. № 3. С. 95.
108. Maksimenko A.V., Golubykh V.L., Tischenko E.G. // Abstract of the XIIIth International Symposium on Atherosclerosis. September 28 – October 2, 2003. Kyoto, Japan. Atherosclerosis, Suppl. 2003. 4. N 2. P.246. 3P-0838.
109. Maksimenko A.V., Golubykh V.L., Tischenko E.G. // Metab. Eng. 2003. 5. № 3. P. 177.
110. Aisina R.B., Moukhametova L.I., Firsova E.V., Varfolomeyev S.D. // Appl. Biochem. Biotechnol. 2000. 84. P. 1.
111. Moukhametova L., Aisina R., Varfolomeyev S. // Fibrinolysis and Proteolysis. 2000. 14. Suppl.1. P.41.
112. Мухаметова Л.И., Айсина Р.Б., Варфоломеев С.Д. // Изв. АН РФ. Сер. хим. 2001. 10. С. 1800.
113. Levashov M.Y., Aisina R.B., Varfolomeyev S.D. // J. Thromb. Haemost. 2005. 3. Suppl 1. P. 1386.
114. Moukhametova L.I., Aisina R.B., Gromov A.V., Bakaldina N.A., Varfolomeyev S.D. // Intern. Congress on Thrombosis, Haemostasis and Vascular Pathology, 14<sup>th</sup> Meeting of the Danubian League against Thrombosis and Haemorrhagic disorders, Symposium of the All-Russian Association on Thrombosis, Haemostasis and Vascular Pathology, St. Peterburg, Russia, June 3–5, 2004. P.37.
115. Aisina R., Mukhametova L., Gershkovich K., Varfolomeyev S. // Biochim Biophys Acta. 2005. 1725. № 3. P. 370.
116. Айсина Р.Б., Мухаметова Л.И., Варфоломеев С.Д. // Тромбозы, кровоточивость и болезни. 2003. Приложение 2. С. 17.
117. Aisina R. B., Moukhametova L. I., Varfolomeyev S.D. // J. Thromb. Haemost. 2003. Suppl. 1. P. 1847.
118. Aisina R.B., Moukhametova L.I., Gershkovich K.B., Varfolomeyev S.D. // J. Thromb. Haemost. 2001. Suppl. 1. P. 428.
119. Айсина Р.Б., Мухаметова Л.И., Варфоломеев С.Д. // Биохимия. 2003. 68. № 11. С.1556.
120. Гершкович К.Б., Воронцов В.В., Айсина Р.Б., Шаркова Т.С., Серебрякова Т.Н. // Тромбы, кровоточивость и болезни сосудов. Приложение № 1. М., 2002. С. 53.
121. Момот А.П., Ельчанинов В.В., Айсина Р. Б. и др. // Способ получения тромбиноподобного коагулирующего фермента. Заявка № 2002120163 от 08.08.2002 г. Опубликовано 20.04.04 Бюлл. № 0411.
122. Айсина Р.Б., Булыгин О.Ю., Мухаметова Л.И. и др. // Способ получения растворимого фибрин-мономера. Патент № 2253474. Опубл. 10.06.2005. Бюлл. № 16. Приоритет от 23.10.03 г.
123. Айсина Р.Б., Булыгин О.Ю., Варфоломеев С.Д. и др. // Способ определения тканевого активатора плазминогена. Патент № 2252421. Опубл. 20.05.05. Бюлл. № 14. Приоритет от 23.10.2003.
124. Воронов С.В., Бинеvский П.В., Зуева Н.А. и др. // Биоорг. химия. 2003. 29. С. 470.
125. Binevski P.V., Sizova E.A., Pozdnev V.F., Kost O.A. // FEBS Letters. 2003. 550. P. 84.
126. Skirgello O.E., Binevski P.V., Pozdnev V.F., Kost O.A. // Biochem. J. 2005. 391. P. 641. (Printed in Great Britain) doi:10.1042/BJ20050702.
127. Чеснокова Н.Б., Кузнецова Т.П., Кост О.А. // Способ профилактики и лечения изъязвлений роговицы. Патент РФ № 2119314 (1996).
128. Кост О.А., Чеснокова Н.Б., Макаров П.В. и др. // Заявка на изобретение № 2004105876/14(006349) от 01.03.2004. Приоритет от 01.03.2004.
129. Чеснокова Н.Б., Григорьев А.В., Павленко Т.А. и др. // Вестн. РАМН. 2003. С. 29.
130. Кост О.А., Чеснокова Н.Б., Макаров П.В. и др. // Заявка на изобретение № 2004136367 от 15.12.2004.
131. Михальчик Е.В., Коркина Л.Г., Ануров М.В. и др. // Вестн. РГМУ. 2004. 7. № 48. С. 71.
132. Ларионова Н.И., Балабушевич Н.Г., Казанская Н.Ф. и др. // Патент РФ № 2101291 (1998).
133. Малых Е.В., Ларионова Н.И. // Биохимия. 2002. 67. № 12. С. 1676.
134. Gladysheva I.P., Moroz N.A., Karmakova T.A. et al. // J. Drug Targeting. 2001. 9. P. 303.
135. Larionova N.V., Ronchel G., Duchene D., Larionova N.I. // Int. J. Pharm. 1999. 189. N 2. P. 171.
136. Виллемсон А.Л., Малых Е.В., Штильман М.И., Ларионова Н.И. // Биохимия. 2003. 68. № 8. С. 1063.
137. Ларионова Н.И., Мороз Н.А., Балабушевич Н.Г. и др. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 1995. 36. № 2. С. 139.
138. Вавилова Т.П., Ларионова Н.И., Кильдеева Н.Р. и др. // Авт. св. СССР № 1614496. 1990.
139. Larionova N.V., Malykh E.V., Villemson A.L. et al. // Int. J. Pharm. 2002. 256. N 1–4. P. 191.
140. Володькин Д.В., Балабушевич Н.Г., Сухоруков Г.Б., Ларионова Н.И. // Биохимия. 2003. 68. № 2. С. 283.
141. Volodkin D.V., Balabushevitch N.G., Sukhorukov G.B., Larionova N.I. // STP Pharm. Sci. 2003. 13. N 3. P. 163.
142. Балабушевич Н.Г., Ларионова Н.И. // Биохимия. 2004. 69. С. 930.
143. Balabushevitch N.G., Sukhorukov G.B., Larionova N.I. // Macromol. Rapid. Commun. 2005. 4. P. 1168.
144. Markvicheva E.A., Kuptsova S.V., Mareeva T.Yu. et al. // Appl. Biochem. Biotechnol. 2000. 88. N 1–3. P. 145.
145. Strukova S.M., Dugina T.N., Chistov I.V. et al. // Clin. Appl. Thromb. Hemostasis. 2001. 7. N 4. P. 325.
146. Дугина Т.Н., Киселева Е.В., Чистов И.В., Умарова Б.А., Струкова С.М. // Биохимия. 2002. 67. № 1. С. 77.
147. Марквичева Е.А., Куцова С.А., Руми Л.Д. и др. // Вопр. мед. хим. 2002. 48. № 6. С. 570.
148. Дугина Т.Н., Киселева Е.В., Ланге М.А. и др. // Бюлл. экспер. биол. мед. 2004. 134. № 10. С. 523.
149. Филатов В.Н., Рыльцев В.В., Белов А.А., Медушева Е.О. // Наука и промышленность России. 2003. № 2–3. С. 40.
150. Белов А.А., Филатов В.Н., Рыльцев В.В. // 1-й Межд. конгресс “Биотехнология состояние и перспективы развития”. Окт. 14–18, 2002 г. Тез. докл. М., С. 70.
151. Белов А.А., Филатов В.Н., Донских Г.Н. и др. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2003. 44. № 1. С. 16.
152. Белов А.А., Филатов В.Н., Донских Г.Н. и др. // Тезисы докл. «Биотехнология-2003», Пушкино, 24–26 ноября 2003. С. 35.
153. Белов А.А., Филатов В.Н., Донских Г.Н. и др. // Тез. докл. конф. «Биоресурсы – биотехнологии-инновации Юга России». Пятигорск, 2003. Ч. 1. С. 33.
154. Чернышева Ю.В., Кильдеева Н.Р., Бабак В.Г., Филатова С.В. // Хим. технология. 2004. № 6. С. 17.

155. Вихорева Г.А., Шаблыкова И.А., Кильдеева Н.Р. // Химические волокна. 2001. № 3. С. 42.
156. Kildeeva N., Vichoreva G., Gorbacheva I. et al. // In Chitosan in Pharmacy and Chemistry. 2002 / Ed. R.A.A. Muzzarelli, C. Muzzarelli, Atec, Italy. P. 245.
157. Кильдеева Н.Р., Вихорева Г.А., Ефременко Е.Н. и др. // Материалы седьмой Междунар. конф. «Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана» СПб-Репино. Сентябрь 2003. М., С. 395.
158. Babak V., Kildeeva N., Merkovitch E., Rinaudo M. // In Chitin Enzymology. 2001 / Ed. R.A.A. Muzzarelli, Atec, Italy. P. 591.
159. Merkovich E., Mironov A., Kildeeva N. et al. // Mater. XII Inter. Workshop on bioencapsulation. Spain, Vitoria, 24–26 September. 2004. P. 363.
160. Зоткин М.А., Вихорева Г.А., Агеев Е.П. и др. // Химическая технология. 2004. № 9. С. 15.
161. Кулаев И.С., Степная О.А., Цфасман И.М. и др. // Патент РФ № 2193063. 2002.
162. Муранова Т.А., Красовская Л. А., Цфасман И.М., Степная О.А., Кулаев И.С. // Биохимия. 2004. 69. Вып. 5. С. 617.
163. Бегунова Е.А., Степная О.А., Лысанская В.Я., Кулаев И.С. // Биохимия. 2003. 68. Вып. 7. С. 896.
164. Ситкин Б.В., Лысанская В.Я., Цфасман И.М., Степная О.А., Кулаев И.С. // Микробиология. 2003. 72. № 1. С. 136.
165. Степная О.А., Бегунова Е.А., Цфасман И. М. и др. // Микробиология. 2004. 73. № 4. С. 479.
166. Бегунова Е.А., Степная О.А., Цфасман И.М., Кулаев И.С. // Микробиология. 2004. 73. № 3. С. 320.
167. Муранова Т.А., Красовская Л. А., Цфасман И.М. и др. // Биохимия. 2004. 69. Вып. 5. С. 617.
168. Варфоломеев С.Д. // Химическая энзимология. М., 2005.
169. Varfolomeev S.D. // Mendeleev Comm. 2004. 5. P. 185.
170. Варфоломеев С.Д., Упоров И.В., Фёдоров Е.В. // Биохимия. 2002. 67. № 10. С. 1328.
171. Варфоломеев С.Д., Гуревич К.Г. // Изв. АН. Сер. хим. 2001. № 10. С. 1629.
172. Belov M.E., Nikolaev E. N., Anderson G. A. et al. // J. Am. Soc. Mass Spectrom. 2001. 12. P. 38.
173. Belov M.E., Nikolaev E.N., Alving K. et al. // Rapid Communications in Mass Spectrometry. 2001. 15. P. 1172.

Поступила в редакцию 01.12.05

## STUDY OF BIOCATALYSTS AND POTENTIALITIES FOR THEIR APPLICATIONS IN THE FRAMEWORK OF THE RUSSIAN FEDERAL TARGETED SCIENTIFIC-TECHNOLOGICAL PROGRAM “RESEARCH AND METHODOLOGY IN THE PRIORITY TRENDS OF DEVELOPMENT IN SCIENCE AND TECHNOLOGY”

E.A. Zaitseva, T.A. Osipova

(Division of Chemical Enzymology)

The survey covers a major progress in the research works developed in the framework of the project «Biocatalytic technologies» of the Federal targeted scientific-technological program «Research and methodology in the priority trends of development in science and technology» and planned for development in 2005–2006. The new elaborated biocatalysts-based technologies for pulp-and-paper, textile and food industries as well as in agriculture are described. Based on enzymes, the high-sensitivity methods and devices for medical and ecological purposes as well as for control of food quality, industrial productions and environmental monitoring are characterized. The examples of medicaments and materials under way based on enzymes and their regulators are presented for therapy of cardio-vascular, oncological, ophthalmologic diseases for burns and wounds treatment.