

УДК 577.1:577.114

НЕЙТРАЛИЗАЦИЯ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА ХИТОЗАНОМ И ЕГО ПРОИЗВОДНЫМИ *in vitro/vivo* (ОБЗОР)

© 2016 г. А. В. Ильина, В. П. Варламов

Институт биоинженерии, Федеральный исследовательский центр “Фундаментальные основы биотехнологии” РАН, Москва, 117312

e-mail: varlamov@biengi.ac.ru

Поступила в редакцию 21.05.2015 г.

В обзоре рассмотрены данные, полученные в течение последних 10 лет, которые указывают на способность хитозана и его производных связывать активные формы кислорода. Анализ результатов этих исследований будет способствовать выбору перспективного природного антиоксиданта для использования в пищевой, косметической, фармацевтической и других отраслях промышленности.

DOI: 10.7868/S0555109916010062

УДК 577.121

МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ ИНЖЕНЕРИЯ *Escherichia coli* ДЛЯ БИОСИНТЕЗА 1,3-БУТАНДИОЛА ПО ОБРАЩЕННОМУ ПУТИ β -ОКИСЛЕНИЯ ЖИРНЫХ КИСЛОТ

© 2016 г. А. Ю. Гулевич, А. Ю. Скороходова, А. А. Стасенко, Р. С. Шакулов, В. Г. Дебабов

Государственный научноисследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов, Москва, 117545

e-mail: gulevich@genetika.ru

Поступила в редакцию 22.07.2015 г.

С использованием подхода рациональной метаболической инженерии исследована принципиальная возможность биосинтеза 1,3-бутандиола по обращенному циклу β -окисления жирных кислот в клетках *Escherichia coli*. В качестве терминальных ферментов, катализирующих превращение 3-гидроксибутирил-КоА в 1,3-бутандиол, были использованы КоА-зависимая альдегиддегидрогеназа MhpF и алкогольдегидрогеназы FucO и YqhD. Конститутивная экспрессия соответствующих генов в штаммах *E. coli*, дефицитных по путям смешаннокислотного брожения и экспрессирующих гены *fad* регулона под контролем промотора *P_{trc}ideal-4*, не приводила к синтезу 1,3-бутандиола при анаэробной утилизации глюкозы. Дополнительная инактивация в штаммах генов *fadE* и *ydiO*, кодирующих ацил-КоА дегидрогеназы, также не обеспечивала синтеза целевого продукта. Конститутивная экспрессия генов *aceEF-lpdA* оперона, кодирующих ферменты пируватдегидрогеназного комплекса, приводила к увеличению анаэробного синтеза этанола. Синтез 1,3-бутандиола наблюдался при гиперэкспрессии ацетил-КоА С-ацетилтрансферазы AtoB. Конститутивная экспрессия гена *atoB* в штамме с фоновым уровнем экспрессии алкоголь-и альдегиддегидрогеназ обеспечивала синтез 0.3 мМ 1,3-бутандиола.

DOI: 10.7868/S0555109916010050

CLONING, EXPRESSION AND CHARACTERIZATION OF THE GENE ENCODING THE ENOLASE FROM *Fusobacterium nucleatum*

© 2016 S. Yakarsonmez*, E. Cayir*, O. Mutlu**, B. Nural***, E. Sariyer*, M. Topuzogullari*, M. R. Milward****, P. R. Cooper****, A. Erdemir*, and D. TurgutBalik*

*Yildiz Technical University, Faculty of Chemical and Metallurgical Engineering, Department of Bioengineering, Davutpasa Campus, 34210 Esenler, Istanbul, Turkey

**Marmara University, Faculty of Arts and Sciences, Department of Biology, Goztepe Campus, 34722 Goztepe, Istanbul, Turkey

***Eskisehir Osmangazi University, Institute of Science, Department of Biotechnology and Biosafety, Meselik, Eskisehir, Turkey

****University of Birmingham, Department of Periodontology, Birmingham, B4 6NN, UK
e-mail: dilekbalik@gmail.com

Received April 30, 2015

The gene encoding enolase from *Fusobacterium nucleatum* (FnENO) was cloned and analyzed for the first time. The gene comprises of 1302 nucleotide base pairs and encodes 433 amino acids. The gene sequence alignment demonstrated the presence of several distinct insertions and deletions, compared with the human enzyme. The gene for recombinant FnENO was inserted into the pLATE 31 vector system and expressed in *E. coli* BL21(DE3) cells as a soluble protein. The protein was purified by affinity chromatography using a Ni-NTA agarose matrix and shown on SDS-PAGE to be a 46 kDa protein. The molecular weight of the octameric form of the purified recombinant protein was determined as being 375 kDa by size exclusion chromatography. Optimal enzyme activity was observed at pH 8.5 and the enzyme remained stable at a range of different temperatures from 30 to 60°C. Using 2-phosphoglyceric acid as substrate for the purified enzyme, K_M , k_{cat} and k_{cat}/K_M were determined as 0.48 mM, 20.4 s⁻¹ and 4.22 × 10⁴ M⁻¹s⁻¹, respectively. Potential drug binding sites of FnENO were detected using homology modeling. These data could facilitate the design of new inhibitors of *F. nucleatum* which has already been shown to be resistant to several known antibiotics.

DOI: 10.7868/S0555109916010141

ОБРАЗОВАНИЕ ПРОТЕИНАЗ – АКТИВАТОРОВ ПЛАЗМИНОГЕНА МИКРОСКОПИЧЕСКИМ ГРИБОМ *Tolypocladium inflatum* k1

© 2016 г. Т. С. Шаркова*, Э. О. Матвеева*, В. Г. Крейер*, А. А. Осмоловский*, **, А. В. Кураков*, Н. А. Баранова*, Н. С. Егоров***

*Биологический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Москва, 119991

**Биотехнологический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Москва, 119991

***Международный биотехнологический центр Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Москва, 119991

e-mail: aosmol@mail.ru

Поступила в редакцию: 3.04.2015 г.

Оптимизированы условия выращивания (продолжительность культивирования, источники азота и начальный pH среды) для проявления штаммом *Tolypocladium inflatum* k1 – продуцентом внеклеточных протеиназ – максимальной активаторной к плазминогену активности. Показано, что *T. inflatum* k1 образует, по меньшей мере, две протеиназы с

активаторной к плазминогену активностью, одна из которых является тиолзависимой–ЭДТА-чувствительной сериновой протеиназой, активирующей плазминоген и не гидролизующей фибрин, что указывает на ее более узкую специфичность и перспективность использования при разработке новых тромболитических препаратов.

DOI: 10.7868/S0555109916010128

УДК 577.152.313;57.052.6:57.012.5

ИММОБИЛИЗАЦИЯ ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФАТАЗЫ НА СФЕРИЧЕСКИХ ПЕКТИНОВЫХ ГЕЛЯХ

© 2016 г. Т. И. Челпанова, Э. А. Ефимцева

Институт физиологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, 167982

e-mail: chelpanova@physiol.komisc.ru

Поступила в редакцию 31.03.2015 г.

Методом иотропного гелеобразования в присутствии ионов кальция получены сферические гелевые частицы из яблочного и амидированного цитрусового пектинов с низкой степенью метилэтерификации. Проведена иммобилизация коммерческого препарата щелочной фосфатазы из слизистой кишечника быка методом физической адсорбции на пектиновых частицах, а также методом включения фермента в гидрогель. Показано, что при иммобилизации щелочной фосфатазы на пектиновых гелях сохранялось от 21 до 55% исходной активности. Проведено изучение освобождения иммобилизованного фермента из гелевых частиц в растворы, имитирующие физиологические условия отделов желудочно-кишечного тракта. Показано, что щелочная фосфатаза, десорбированная из пектиновых частиц, дефосфорилировала бактериальный липополисахарид.

DOI: 10.7868/S0555109916010049

УДК 579.2

ВЛИЯНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ РАСТВОРИТЕЛЕЙ НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ И МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА РОДОКОККОВ

© 2016 г. И. О. Коршунова*, О. Н. Писцова**, М. С. Куюкина* ***, И. Б. Ившина* **

**Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, 614081*

***Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, 614990*

e-mail: kuyukina@iegm.ru

Поступила в редакцию 26.06 2015 г.

Изучено влияние органических растворителей на жизнеспособность и структурно-механические (размеры, шероховатость и упругость поверхности) свойства актинобактерий рода *Rhodococcus*. Показана зависимость выживаемости родококков от уровня гидрофобности растворителя, плотности культуры и состава среды инкубирования. Отобраны наиболее устойчивые штаммы. С использованием комбинированного конфокального лазерного и атомно-силового сканирования установлено, что воздействие растворителей приводило к увеличению относительной площади и шероховатости поверхности, а также снижению модуля Юнга живых клеток. Показано участие протон- и натрий-зависимых эффлюксных насосов в формировании устойчивости родококков к растворителям.

DOI: 10.7868/S0555109916010074

УДК 579.253.43,579. 663.18

**ИЗУЧЕНИЕ ИНГИБИРУЮЩИХ СВОЙСТВ НОВЫХ НЕБЕЛКОВЫХ
АМИНОКИСЛОТ И ОТБОР ЭФФЕКТИВНЫХ АНАЛОГОВ L-АМИНОКИСЛОТ
ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ ВЫСОКОАКТИВНЫХ ШТАММОВ-ПРОДУЦЕНТОВ**

© 2016 г. А. Х. Чахалян, С. К. Келешян, Ж. В. Карапетян, А. Г. Давтян, Г. Е.

Аветисова, Л. О. Мелконян, А. С. Дадаян, А. С. Сагиян

НПЦ “Армбиотехнология” НАН РА, Ереван, Армения, 0056

e-mail: anachakh@gmail.com, armbiotech@gmail.com

Поступила в редакцию 25.03.2015 г.

Изучены антимикробные свойства 32 новых небелковых соединений, синтезированных в НПЦ “Армбиотехнология” методом асимметрического синтеза, выявлены не известные ранее аналоги L-гистидина и L-изолейцина. Путем химического мутагенеза получены мутанты штамма дикого типа *Brevibacterium flavum* 14067, устойчивые к аналогу гистидина – (S)-β-[4-фенил-3-(3'-гидрокси-пропил)-5-тиоксо-1,2,4-тиазол-1-ил]-α-аланину, а также мутанты, устойчивые к аналогу изолейцина – (2S,3R)-оксилейцину. Показано, что активность синтеза гистидина и изолейцина некоторыми мутантами превосходит уровень синтеза этих аминокислот описанными в литературе наиболее активными штаммами-продуцентами, устойчивыми к одному аналогу. Полученные данные свидетельствуют о целесообразности использования новых аналогов в качестве селективных агентов для отбора высокоактивных штаммов-продуцентов L-гистидина и L-изолейцина.

DOI: 10.7868/S0555109916010037

УДК 577.113

**ВЛИЯНИЕ СВЕРХЭКСПРЕССИИ ГЕНА СТИЛЬБЕН СИНТАЗЫ *VaSTS7* НА
ПРОДУКЦИЮ РЕЗВЕРАТРОЛА В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК ВИНОГРАДА
АМУРСКОГО *Vitis amurensis* Rupr.**

© 2016 г. К. В. Киселёв*, **, О. А. Алейнова*

*Биолого-почвенный институт ДВО РАН, Владивосток, 690022

**Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, 690090

e-mail: kiselev@biosoil.ru

Поступила в редакцию 25.03.2015 г.

Изучен биосинтез резвератрола в культурах клеток винограда *Vitis amurensis* Rupr. при сверхэкспрессии гена *VaSTS7*. Показано, что сверхэкспрессия гена *VaSTS7* увеличивала содержание резвератрола в клетках винограда в 3.2–6.6 раза по сравнению с контролем. При трансформации увеличивался прирост биомассы, в результате чего продуктивность клеток увеличилась в 4.7–9.7 раз по сравнению с контролем.

DOI: 10.7868/S0555109915060070

УДК 577.152:633.11:632.4

**ВЛИЯНИЕ ИНДУКЦИИ ИЛИ ПОДАВЛЕНИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ВЗРЫВА НА
ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ВОЗБУДИТЕЛЯ БУРОЙ РЖАВЧИНЫ С ПШЕНИЦЕЙ
ТИМОФЕЕВА**

© 2016 г. Л. Я. Плотникова*, В. Е. Пожерукова*, О. П. Митрофанова**, А. И.

Дегтярев*

*Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина, Омск, 644008

e-mail: lplotnikova2010@yandex.ru

****Всероссийский институт растениеводства им. Н.И. Вавилова РАН, Санкт-Петербург, 190000**

Поступила в редакцию 6.04.2015 г.

Изучено влияние активных форм кислорода на взаимодействие возбудителя бурой ржавчины *Puccinia triticina* Erikss. с устойчивым к болезни видом *Triticum timopheevii* Zhuk. при обработке салициловой кислотой, усиливающей окислительный взрыв, либо ингибитором Ca^{2+} -каналов верапамилом, подавляющим его. У контрольных растений *T. timopheevii* повышался уровень активных форм кислорода на ранних этапах патогенеза, что было связано с генерацией O_2^- замыкающими клетками устьиц при контакте с аппрессориями, а также мезофильными клетками после внедрения гаусторий и развития реакции сверхчувствительности. Пероксид водорода накапливался позднее в цитоплазме клеток, погибших в результате реакции сверхчувствительности, а также на стенках клеток, контактировавших с гифами гриба. После предобработки салициловой кислотой усиливалась генерация O_2^- , что приводило к гибели большей части инокулюма на устьицах, а также ускорению накопления пероксида водорода. Предобработка растений верапамилом подавляла образование активных форм кислорода и реакцию сверхчувствительности у устойчивых растений *T. timopheevii*. В результате происходило проникновение гриба в устьица и усиление развития мицелия в тканях растения на ранних этапах патогенеза. Часть колоний с единичными гаусториями погибала независимо от образования растениями активных форм кислорода.

DOI: 10.7868/S0555109916010098

УДК 571.27:632.4:632.938:633.11

**КАЧЕСТВЕННЫЕ И КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРОТЕОМА КЛУБНЕЙ
КАРТОФЕЛЯ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ СИГНАЛЬНЫХ МОЛЕКУЛ И
ИНФИЦИРОВАНИЯ *Phytophthora infestans***

© 2016 г. Л. Г. Яруллина*, **, Р. И. Касимова*, Р. И. Ибрагимов**, А. Р. Ахатова*, И. А. Умаров**, И. В. Максимов*

*Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа, 450054

**Бакирский государственный университет, Уфа, 450076

e-mail: yarullina@bk.ru

Поступила в редакцию 16.06.2015 г.

Исследовано влияние сигнальных молекул (жасмоновой кислоты, фитопростоноидных оксипинов, липопептидов бактерии *Bacillus subtilis* 26Д) на протеом клубней картофеля *Solanum tuberosum* L. при инфицировании возбудителем фитофтороза *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. Обработка сигнальными молекулами уменьшала степень развития оомицета на дисках картофеля и вызывала изменения в суммарном спектре растворимых белков в диапазоне pH 6.0–7.0 и 7.5–8.7. Выявлены различия в дифференциальной экспрессии 39 полипептидов под воздействием сигнальных молекул и инфицирования патогеном. Показано, что максимальный защитный эффект при инфицировании клубней картофеля патогеном обусловлен индукцией в тканях защитных белков со значениями отношения молекулярная масса/pI: 24/5.8, 75/6.45, 68/6.45, 19/6.5, 69/6.3. Наличие качественных и количественных изменений в экспрессии индивидуальных белков свидетельствовало о дифференциальном механизме воздействия сигнальных молекул на защитный потенциал растительных клеток.

DOI: 10.7868/S0555109916010153

УДК 543.544:547.913

АНТИРАДИКАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ЭФИРНЫХ МАСЕЛ И ЭКСТРАКТОВ КОРИАНДРА, КАРДАМОНА, БЕЛОГО, КРАСНОГО И ЧЕРНОГО ПЕРЦА

© 2016 г. Т. А. Мишарина

Институт биохимической физики им. Н.М. Эммануэля РАН, Москва 119334

e-mail: tmish@rambler.ru

Поступила в редакцию 27.05.20125 г.

В модельных реакциях со стабильным свободным 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил-радикалом изучены антирадикальные свойства эфирных масел и экстрактов, полученных из семян кориандра *Coriandrum sativum* L., плодов кардамона *Elettaria cardamomum* L., плодов *Piper nigrum* L., стручков красного кайенского и зеленого чили перца *Capsicum frutescens* L. В состав эфирных масел в качестве основных компонентов входили моно- и сесквитерпеновые углеводороды, спирты, оксиды и сложные эфиры. Экстракты пряностей содержали флавоноиды, ди- и тритерпеноиды, фенольные кислоты, алкалоиды и каротиноиды. Величины антирадикальной эффективности были невысокими и уменьшались в ряду: экстракт черного перца > экстракт кайенского перца > эфирное масло кардамона > экстракт чили перца > экстракт кардамона > экстракт белого перца > экстракт кориандра > > эфирное масло черного перца > эфирное масло белого перца > эфирное масло кориандра.

DOI: 10.7868/S0555109916010086

УДК 579.66

БИОЛОГИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ НАНОЧАСТИЦ СЕЛЕНА И ГЕРМАНИЯ КСИЛОТРОФНЫМИ БАЗИДИОМИЦЕТАМИ

© 2016 г. Е. П. Ветчинкина, Е. А. Лощинина, В. Ф. Курский, В. Е. Никитина

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов, 410049

e-mail: elenavetrus@yandex.ru

Поступила в редакцию 4.06.2015 г.

Показана способность культивируемых базидиомицетов *Lentinus edodes*, *Pleurotus ostreatus*, *Ganoderma lucidum* и *Grifola frondosa* к образованию наночастиц при выращивании на средах с селеном (Na_2SeO_3) и германием (GeO_2). Изучено влияние различных концентраций соединений селена и германия на рост колоний и накопление биомассы грибов при глубинном и твердофазном культивировании. При глубинном выращивании на средах с селеном все базидиомицеты образовывали наносферы SeO : *L. edodes* и *G. frondosa* преимущественно внутриклеточно, *G. lucidum* и *P. ostreatus* – в культуральной жидкости. Диаметр частиц, синтезированных *G. lucidum*, составлял 20–50 нм, остальными макромицетами – 50–320 нм. На среде с германием базидиомицеты *G. frondosa* и *P. ostreatus* образовывали наносферы диаметром от 50 до 250 нм в культуральной жидкости, кроме того, *P. ostreatus* аккумулировал большое количество наночастиц германия в мицелии.

DOI: 10.7868/S055510991601013X

УДК 577.322.23/539.4.016:621.785

ПОВЫШЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ R-ФИКОЭРИТРИНА К ТЕРМОАГРЕГАЦИИ НАНОЧАСТИЦАМИ СЕРЕБРА, СИНТЕЗИРОВАННЫМИ В НАНОКАНАЛАХ ПИГМЕНТА

© 2016 г. О. Д. Бекасова, В. А. Борзова, В. В. Шубин, Л. И. Ковалёв, В. А. Штейн-
Марголина, Б. И. Курганов

Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр

“Фундаментальные основы биотехнологии” РАН, Москва, 119071

e-mail: bekasova@bk.ru

Поступила в редакцию 08.06.2015 г.

В качестве матрицы и восстановителя для синтеза наночастиц Ag^0 использован R-фикоэритрин, водорастворимый фотосинтетический пигмент красных водорослей. Диаметр доминирующих наночастиц Ag^0 , определенный по электронномикроскопическим фотографиям, равен 6.5 ± 0.5 нм. Методом динамического светорассеяния в режиме нагревания с постоянной скоростью показано, что гидродинамический радиус молекул R-фикоэритрина начинал увеличиваться при температуре выше 50°C . Гидродинамический радиус молекул R-фикоэритрина с синтезированными во внутренней полости наночастицами Ag^0 оставался постоянным при нагревании до 90°C . Методом кругового дихроизма показано, что температура, при которой доля денатурированного белка достигала 50%, составляла для R-фикоэритрина $51.7 \pm 0.1^\circ\text{C}$, а для R-фикоэритрина с синтезированными в нем наночастицами Ag^0 – $58.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$. Это свидетельствовало о том, что термостабильность R-фикоэритрина повышалась при заполнении его полости наночастицей Ag^0 . На основании сравнительных спектральных исследований R-фикоэритрина до и после синтеза наночастиц Ag^0 , а также после термообработки сделан вывод, что повышение термостабильности R-фикоэритрина обусловлено химической сшивкой белковой молекулы наночастицей Ag^0 .

DOI: 10.7868/S0555109916010025

УДК 547.96

ЧАСТИЧНАЯ ДЕНАТУРАЦИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА ДЛЯ ЕГО АФФИННОГО ВЫДЕЛЕНИЯ

© 2016 г. Д. С. Поляков** ***, Р. Г. Сахабеев**, М. М. Шавловский* **

**Институт экспериментальной медицины. Санкт-Петербург, 197376*

***Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого. Санкт-Петербург, 195251*

****Северо-западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова. Санкт-Петербург, 191015*

e-mail: ravendoctor@mail.ru

Поступила в редакцию 16.02.2015 г.

Исследованы причины потери способности рекомбинантного химерного белка транстиретин человека – зеленый флуоресцентный белок, содержащего олигогистидиновый участок, взаимодействовать с аффинным сорбентом. Подтверждено предположение о частичном изменении начальной конформации с возникновением стерической недоступности олигогистидинового участка для встраивания в координационную сферу ионов никеля в используемом сорбенте. Показано, что длительная инкубация (4 нед) в присутствии имидазола (200 мМ) при температурах 4°C или 37°C приводила к практически полной неспособности белка слипания связываться с

Ni-агарозой. Обработка несвязывающейся фракции белка 0.5 М гуанидинхлоридом восстанавливала способность к связыванию на Ni-агарозе. При этом десорбированный белок был получен в нативной конформации без примеси денатурированного белка. Данный подход частичной денатурации по типу формирования расплавленной глобулы может быть использован для аффинного выделения других рекомбинантных белков, получаемых в бактериальных системах, в случаях их неспособности связываться с сорбентом или образования растворимых только в присутствии денатурантов агрегатов.

DOI: 10.7868/S0555109916010104

УДК 579.61+57.083

СТРАТЕГИИ ПОВЫШЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ДЕТЕКЦИИ АНАЛИТОВ В ИММУНО-ПЦР, ИЗУЧЕННЫЕ НА ПРИМЕРЕ ВЫЯВЛЕНИЯ НЕЙРОТОКСИНА БОТУЛИЗМА ТИПА А

© 2016 г. А. К. Рябко*, А. В. Козырь*, А. В. Колесников*, А. Е. Хлынцева*, И. В. Жарникова**, И. Г. Шемякин*

**Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии
Роспотребнадзора, Московская обл., Оболенск, 142279
e-mail: info@obolensk.org*

***Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, Ставрополь, 355035
e-mail: snipchi@mail.stv.ru*

Поступила в редакцию 21.05.2015 г.

На основе технологии иммуно-ПЦР создан эффективный метод высокочувствительного специфического определения ботулинического нейротоксина типа А, позволяющий обнаружить токсин в концентрациях до 1 пг/мл (10 фг на одну ПЦР-реакцию). В оптимальной схеме анализа наиболее подходящей оказалась твердая фаза, состоящая из парамагнитных органокремнеземных частиц, несущих детекционный комплекс тяжелой цепи токсина с парой поликлональных антител к нему, одно из которых посредством взаимодействия биотин-нейтравидин связывалось с ДНК, служащей матрицей для ПЦР-амплификации. Матричная ДНК представляла собой молекулярную “сетку”, образуемую биотинилированными молекулами ДНК с тетравалентным нейтравидином. Сигнал о связывании детектировался с помощью ПЦР-РВ по методу TaqMan. Разработан метод иммуно-ПЦР для определения ботулотоксина типа А.

DOI: 10.7868/S0555109916010116