

### Литература

1. Мельников С.С. Хлорелла: Физиологически активные вещества и их использование / С.С. Мельников, Е.Е. Мананкина - Минск: Наука техника, 1991. - 79 с.
2. Селяметов Р.А., Якубов Х.Ф. К изучению витаминного состава хлореллы и сценедесмуса. - В кн.: Культивирование водорослей и высших водных растений в Узбекистане. - Ташкент: Фан, 1971. - С. 59-60.
3. Заядан Б.К. Фототрофы микоорганизмдер биотехнологиясы: монография. – Павлодар, 2010 ж. - 432 б.
4. Фисинин В.И. Стратегия эффективного развития отрасли и научных исследований по птицеводству /В.И. Фисинин// Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2002. - №1. – С. 56-58.
5. Soeder C. J. Massive cultivation of microalgae: results and prospects // Hydro- biologia. - 1980. - Vol. 72. - P.197-209.
6. Becker E. W. Biotechnology and exploitation of the green alga *Scenedesmus obliquus* // Indian Biomass. – 1984. - Vol. 4. - P.1-19.
7. Сиренко Л.А., Сакевич А.И., Осипов Л.Ф., Лукина Л.Ф. и др. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике. - Киев: Наукова думка, 1975. – 247 с.

### Түйін

Микробалдырлардың аралас дақылдары негізінде алынған қою суспензияны күнделікті қосымша жем ретінде 50 тәулік аралығында қабылдаған тауық балапандарының салмағы 18%-ға, ал тауықтардың жұмыртқа беру көрсеткіштері 15,3% және олардың жұмыртқаларының энергетикалық құндылығы 10,65%-ға жоғарлаған нәтижелер анықталды.

### Summary

Application of a concentrated suspension of mixed cultures of algae as biological stimulators for chickens and laying hens for 50 days resulted in increased weight gain of chickens by 18%, laying hens at 15.3% and energy content of eggs by 10.65% in compared with the control group.

УДК544.45:661.66-022.532:57.089:616-7

**Ибрагимова С.А., Ригер Н.Г., Карабалин А.Б., Сафонов Д.П., Керимкулова М.Р.,  
Нурмолдин Ш., Керимкулова А.Р.**

### **ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА БИОСЕНСОРА НА ОСНОВЕ НАДФ-ГДГ СФЕРОСОМ ДЛЯ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА И КЛИНИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ**

*Институт молекулярной биологии и биохимии имени М.А. Айтхожина  
г. Алматы, ул. Досмухамедова, 86, тел/факс: +7(727)2926306, e.mail: baltakay@mail.ru*

Был получен биосенсор для целей экологического мониторинга и клинической диагностики из колосьев пшеницы, собранных в фазу молочно-восковой спелости. Высокочувствительный биосенсор получали хроматографией полученного бесклеточного экстракта на колонке с наноструктурированным углеродным сорбентом типа «Нанокарбосорб» производства НТПЦ «Жалын» (г. Алматы). Была проведена оптимизация условий применения полученного биосенсора. Изучение активности биосенсора показало, что он имеет особенно высокое сродство к аммоний, что позволяет определять его концентрацию в диапазоне от 0,2мкМ до 10мкМ, то есть наш биосенсор можно применить для раннего выявления антропогенного загрязнения источников питьевой воды. Высокая чувствительность биосенсора для определения концентрации НАДФН и 2-оксоглутарата делает его очень перспективным для использования в клинической диагностики.

### Введение

Проблема определения низких концентраций ионов аммония до настоящего времени еще не нашла удовлетворительного решения. Существующие методы определения аммония имеют крайне низкую чувствительность – не ниже 1 сантимолья. В то время для экологического мониторинга источников питьевой воды необходима чувствительность методов не выше 0,1 мМ [1-3]. В нормальных условиях источники питьевой воды совершенно не содержат ионов аммония, и они появляются только в случае попадания в них канализационных вод или стоков с животноводческих помещений[4-6]. Поэтому является

очень важным вести постоянный мониторинг водных источников на содержания ионов аммония. Все это обуславливает большую актуальность и важность разработки высокочувствительного биосенсора для определения микромолярных концентраций ионов аммония. Кроме того, подобный биосенсор будет иметь большую перспективу для применения в клинической диагностике для выявления почечных заболеваний. Исходя из выше сказанного, целью нашего исследования явилось получение и характеристика биосенсора для экологического мониторинга и клинической диагностики.

### Результаты и их обсуждения

В первую очередь, необходимо было найти фермент, проявляющий высокое сродство к ионам аммония. К сожалению, имеющийся в продаже ферментный препарат глутаматдегидрогеназа (ГДГ) из печени быка проявлял активность лишь в сантимольярных концентрациях ионов аммония. Поэтому для создания высокочувствительного биосенсора необходимо было найти такую форму ГДГ, которая бы имела высокое сродство к ионам аммония [7]. Проведенный нами поиск показал, что таким ферментом является ГДГ, строго специфичная к коферменту NADP. Детальное изучение ферментов показало, что он связан с субклеточными органеллами- сферосомами. Нашей лаборатории принадлежит приоритет открытия структуры этих органелл [8,9]. Было установлено, что центр сферосомы содержит бислойную фосфатидилинозитольную (ФИ) визикулу. К поверхности этой визикулы с помощью собственных ФИ - якорей прикреплено большое число молекул ГДГ. Эти молекулы образуют толстую непроницаемую для воды белковую шубу сферосомы [10]. К сожалению, сферосомы из созревшего покоящегося зерна пшеницы не проявляли никакой ферментативной активности. Поэтому нам надо было найти сферосомы, проявляющие ГДГ активность. Поиск таких сферосом мы провели в прорастающих и в созревающих семенах пшеницы. Впервые было установлено, что на 3-4 день в прорастающих семенах пшеницы обнаруживается активность NADP-ГДГ, связанная со сферосомами. Это активность проявлялось только в реакции восстановительного аминирования 2-оксоглутрата с участием кофермента NADPH. В обратной реакции активность NADP-ГДГ сферосом не проявлялась. Следует отметить, что обнаруженная активность была небольшой. Поэтому мы продолжили поиск этого фермента уже в созревающих семенах пшеницы.

Результаты этого исследования представлены в таблицах 1-3.

Таблица 1 – Активность NADP-ГДГ сферосом пшеницы в фазу молочной спелости

№ п/п	Части растения	Активность NADP-ГДГ, мкМ/г
1	зерно	15,3
2	колосковые чешуйки	82,0

Таблица 2 - Активность NADP-ГДГ сферосом пшеницы в фазу молочно-восковой спелости

№ п/п	Части растения	Активность NADP-ГДГ, мкМ/г
1	зерно	25,7
2	колосковые чешуи	42

Таблица 3- Активность NADP-ГДГ сферосом пшеницы в фазу восковой спелости

№ п/п	Части растения	Активность NADP-ГДГ, мкМ/г
1	зерно	54,4
2	колосковые чешуи	27,3

Как видно из представленных таблиц, активность NADP-ГДГ сферосом была максимальной в зеленых колосковых чешуйках в фазу молочной спелости. Это говорит о важной роли зеленых колосковых чешуй в синтезе глутамата в эту фазу. Затем активность NADP-ГДГ сферосом в чешуйках постепенно снижалась по мере созревания колоса. Зато активность этого фермента в зерне по мере созревания нарастала, что говорит о возрастающей роли NADP-ГДГ в синтезе глутамата в созревающем зерне.

Мы также решили изучить активность этого фермента и в других органах пшеницы. Результаты этого исследования представлены в таблицах 4 - 6.

Таблица 4 - Активность NADP-ГДГ сферосом по органам в фазу молочной спелости

№ п/п	Части растения	Активность NADP-ГДГ, мкМ/г
1	зерно	15,3
2	колосковые чешуйки	82,0
3	лист	102,9
4	стебель	77,2

Таблица 5 - Активность NADP-ГДГ сферосом по органам в фазу молочно-восковой спелости

№ п/п	Части растения	Активность NADP-ГДГ, мкМ/г
1	зерно	25,7
2	колосковые чешуйки	42,0
3	стебель	45
4	лист	50,5

Таблица 6 - Активность NADP-ГДГ сферосом по органам в фазу восковой спелости

№ п/п	Части растения	Активность NADP-GDG, мкМ/г
1	зерно	54,4
2	колосковые чешуйки	27,3
3	стебель	20,9
4	лист	24,1

Как видно из представленных таблиц, самая высшая активность NADP-ГДГ сферосом была в листьях и зеленых чешуйках колосьев в фазу молочной спелости. Во всех других органах активность NADP-ГДГ была меньше. Таким образом, эти данные говорят об интенсивном синтезе глутамата в зеленых органах растения пшеницы в фазу молочной спелости. Высокая активность NADP-ГДГ сферосом свидетельствует о важной роли этого фермента в накоплении глутамата в зерне на ранних стадиях. На поздних стадиях формирования зерна активность этого фермента приходится уже на само зерно, то есть синтез глутамата в созревающем колосе обеспечивается активностью NADP-ГДГ как в чешуйках, так и самом зерне. Впервые получены приоритетные результаты о чрезвычайно важной роли NADP-ГДГ сферосом в синтезе глутамата в созревающем зерне пшеницы.

Таким образом, нами впервые был найден источник для получения высокоактивной NADP-ГДГ сферосом – созревающие семена пшеницы, собранные в фазу молочно-восковой и восковой спелости. Для очистки этого фермента мы впервые применили колоночную хроматографию на наноструктурированном углеродном сорбенте типа «Нанокарбосорб»[10]. Результаты хроматографии представлены на рисунке 1.

Как видно из рисунка, сферосомы выходят в первом высокомолекулярном пике. Полученная фракция первого пика была использована для дальнейших исследований.

В первую очередь, необходимо было изучить кинетические характеристики NADP-ГДГ сферосом из созревающего зерна пшеницы. Результаты изучения зависимости активности NADP-ГДГ сферосом от концентрации ионов аммония представлены на рисунке 2.

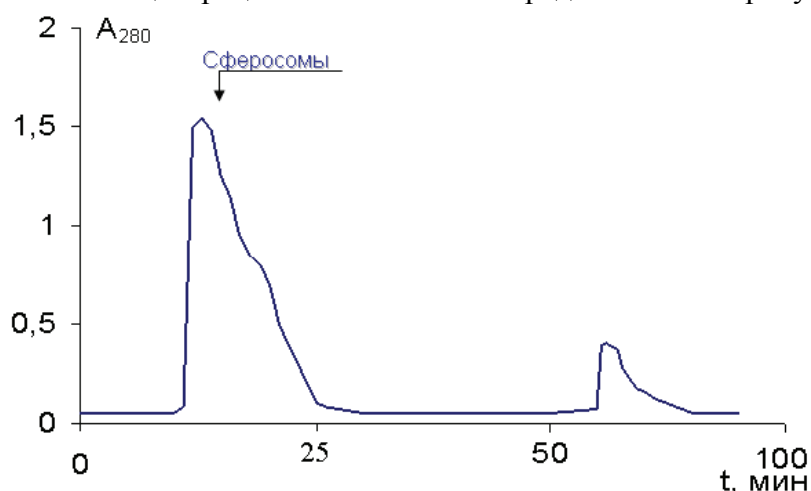


Рисунок 1 Колоночная хроматография сферосом из созревающего зерна пшеницы на колонке с «Нанокарбосорбом»

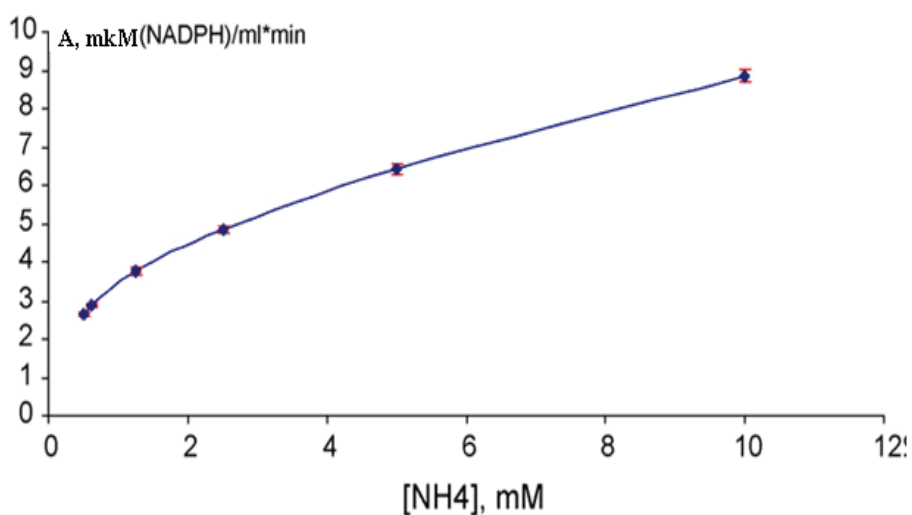


Рисунок 2 – Зависимость активности NADP-ГДГ сферосом от концентрации ионов аммония

Как видно из рисунка, в пределах концентрации от 0,5мкМ до 10 мкМ фермент NADP-ГДГ сферосом может быть использован в качестве высокочувствительного биосенсора для определения наличия ионов аммония в водных растворах. Такой биосенсор крайне необходим для целей экологического мониторинга состояния природных водных источников. В этих случаях активность NADP-ГДГ сферосом может служить объективным диагностическим показателем для определения антропогенного загрязнения природных водоемов. NADP-ГДГ сферосом также может широко применяться для точного определения концентрации ионов аммония, 2-оксоглутарата и NADPH в биологических жидкостях человека. Это имеет важное значение для надежной диагностики тяжелых заболеваний.

#### Литература

1. Folch and Stenly. A simple method for isolation and purification of total lipids for animal tissues // J. Biological Chemistry. – 1957. – Vol. 226. – P. 497-509.
2. Марголис Л. Б., Бергельсон Л. Д. Липосомы и их взаимодействие с клетками // М.: Наука, 1986. – С. 110-141, 240.

3. Посте Дж. Взаимодействие липидных везикул (липосом) с клетками в культуре и их использование как переносчиков лекарств и макромолекул. В кн.: Липосомы в биологических системах // М. Медицина, 1988. – С. 107-155.
4. Бердичевский В.П., Маркосян Р.А., Позин Е.Я. Влияние липосом на функциональное состояние тромбоцитов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1979. – Т. 8. – С. 141-143.
5. Sofou S., Thomas J. L., Lin H. L., McDevitt M. R., Scheinberg D. A., and Sgouros G. Engineered Liposomes for Potential Particle Therapy of Metastatic Cancer // J. Nucl. Med. – 2004. – Vol. 45. – P. 253-260.
6. Марк Дж. и Остро Ж. О. Липосомы // Журнал «В мире науки». – 1987. – №3. – С. 70-80.
7. Саменов Н.А., Аль-Сухайми С.А., Табенова А.А., Сейсенбаев А.Ш., Гильманов М.К. Мицеллярная форма антиартритных лекарств // Журнал «Медицина» Изд. Здравоохранение Казахстана, 2005. – №2. – С. 26-30.
8. Гильманов М.К., Гильманова С. М. и Саменов Н.А. // Способ загрузки липосом. Заявка № 2004/1191.1. – 2004.
9. Гильманов М. К., Сейсенбаев А. С., Табенова А. А. и Саменов Н. А. // Средство для наружного лечения артритов. Заявка № 2004/1411.1. – 2004.
10. Gilmanov M.K., Kerimkylova A.R., Sabitov A.N., Ibragimova S.A. The phosphatidylinositol-protein nanoparticle complex as a new biosensor for ecological monitoring and clinical diagnostic // Journal Biosensor and Bioelectronics. – 2009. – P. 1490-1492.
11. Doctor Zulkhair Mansurov, Miss Almagul Kerimkulova, Doctor Mikhail Yemuranov, Mister K. Kudaibergenov, Doctor Murat Gilmanov. The purification of spherosome by «Nanocarborb» // The Annual Word Conference on Carbon. Biarritz, 2009. – P. 200.

#### Түйін

Экологиялық мониторинг және клиникалық диагностикада қолданылатын биосенсор сүтті-балауыз кезеңінде жиналынған бидай масақтарынан, клеткасыз сығындыны нанокұрылымды көміртекті сорбент (ТОО НТПЦ «Жалын») колонкасынан хроматографиялау арқылы алынды. Алынған биосенсорды қолдану жағдайларын оңтайландыру жүргізілді. Биосенсор активтігін зерттеу нәтижесінде ол 0,2 мкМ ден 10 мкМ концентрациялар аралығында аммоний иондарына ерекше ұқсастыққа ие екендігі анықталды, яғни біздің биосенсорды ауыз су көздерінің антропогенді ластануын алдын ала анықтауға мүмкүндік береді. Биосенсордың НАДФН және 2-оксоглутарат концентрацияларын анықтауға сезімталдығы оны клиникалық диагностикада қолдануға өте перспективті етеді.

#### Summary

The biosensor was isolated for ecological monitoring and clinical diagnostic from ripening ears of wheat. The sensitive biosensor was isolated by chromatography on nanostructures carbon sorbent 'Nanocarborb' produced by Scientific Technical Industry Center "Zhalyn" (Almaty city). Conditions of isolation of the biosensor were optimized. The investigation of activity of the biosensor shown that this enzyme has high affinity to ammonium ions that allowed to determine the concentration of ammonium in range from 0,2 μM to 10μM therefore our biosensor can be applicable for earlier detection of anthropogenic pollution from the water reservoirs. High sensitivity of biosensor for determination of concentration of NADPH and 2-oxoglutarate make its very convenient for application in clinical diagnostic.

УДК:664.162.7.633.18:577.15

**Каманова С.Г., Оспанкулова Г.Х., Нечай Н.Л., Полуботко О.В.,  
Коптлеуова Т.М., Тажина С.Ж.**

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ПАТОКИ ИЗ КРАХМАЛА  
РИСОВОЙ КРУПЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФЕРМЕНТОВ МИКРООРГАНИЗМОВ**  
*ТОО «Казахский научно-исследовательский институт переработки сельскохозяйственной  
продукции», г. Астана, labbioper@mail.*

Современные условия развития экономики Республики Казахстан требуют внедрения новых инновационных экологически безопасных технологий глубокой переработки зерна. Актуальным остается вопрос развития и модернизации крахмалопаточного производства в Республике Казахстан и внедрение современных технологий получения крахмала и крахмалопродуктов. Народнохозяйственное значение крахмалопаточной промышленности определяется широким и разнообразным спектром использования крахмала и продуктов на его основе. Он обладает свойствами загустителя, стабилизатора и структурообразователя. Из крахмала вырабатывается большая группа продуктов его гидролиза [1]. Патока – продукт