

*Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Ставропольский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации*

БИОТЕХНОЛОГИЯ: ВЗГЛЯД В БУДУЩЕЕ

**МАТЕРИАЛЫ XI МЕЖДУНАРОДНОЙ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ**

Часть II

Ставрополь, 2025

УДК 60(063)
ББК 35 30.600.6я431
Б 63

БИОТЕХНОЛОГИЯ: ВЗГЛЯД В БУДУЩЕЕ: материалы XI междунар. науч.-практ. конф. в двух частях. Часть II – Ставрополь: Изд-во СтГМУ, 2025. – 284 с.

ISBN 978-5-89822-911-5 (Ч. II – 284 с.)

ISBN 978-5-89822-910-8

Члены редакционной коллегии:

А.Б. Ходжаян – д. м. н., профессор;

Н.А. Фелько – д. м. н., профессор;

М.В. Топчий – к. б. н., доцент;

Т.М. Чурилова – к. б. н., доцент.

Ответственный редактор:

В.Н. Мажаров – к.м.н., доцент, ректор СтГМУ.

В сборнике представлены материалы XI международной научно-практической конференции по перспективным проблемам биотехнологии лекарственных средств, актуальным вопросам экологической, пищевой, медицинской биотехнологии, химии, биологии, экологии, медицинской диагностики, биоэтическим проблемам современной науки, особенностям преподавания в медицинском вузе.

Рецензенты:

Коробкеев А.А. – д.м.н., профессор, проректор по научной и инновационной работе Ставропольского государственного медицинского университета.

Жарникова И.В. – д.б.н., старший научный сотрудник, ведущий научный сотрудник научно-производственной лаборатории препаратов для диагностики особо опасных и других инфекций ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора.

УДК 60(063)
ББК 35 30.600.6я431
Б 63

Материалы публикуются в авторской редакции.

Рекомендовано к печати редакционно-издательским советом СтГМУ.

ISBN 978-5-89822-911-5 (Ч. II – 284 с.)
ISBN 978-5-89822-910-8

© Ставропольский государственный
медицинский университет, 2025

Дерендяева Н. Н., Марданова А. С., Боталова И. А.

Удмуртский государственный университет

ВЛИЯНИЕ ФЕНОЛА НА ФРАКЦИОНИРУЮЩИЕ СПОСОБНОСТИ КАПРИЛОВОЙ КИСЛОТЫ

В данный момент особенно остро стоит вопрос о возможностях переработки биологических отходов, в том числе крови. Кровь относится к медицинским отходам класса Б, так как может содержать возбудителей опасных инфекций, представляющих угрозу для человека. В связи с этим, её утилизация должна производиться в строгом соответствии с санитарно-эпидемиологическими требованиями [1]. В то же время препараты крови являются эффективными лечебными средствами и широко применяются как в медицинской, так и в ветеринарной практике. Необходимо непрерывно совершенствовать технологию получения биопрепаратов крови путем внедрения эффективных способов удаления и инактивации инфекционных агентов, в том числе и за счет использования химических реагентов, обладающих выраженным противомикробным действием, позволяющих сохранить нативную структуру лабильных белков крови. Практические аспекты выделения белков с помощью каприловой кислоты хорошо известны и, следовательно, делают возможным производство иммуноглобулинов и некоторых других белков, которые могут использоваться для создания лекарственных препаратов, сывороток, а также в отдельных биотехнологических и фармацевтических целях. В данной работе изучается возможность создания условий заготовки гамма-глобулиновой фракции из бросового сырья с помощью каприловой кислоты и дезинфицирующего агента (фенола).

Каприловая (октановая) кислота – насыщенная восьмиуглеродистая жирная кислота ($C_8H_{16}O_2$). Представляет собой маслянистую жидкость растительного происхождения

с низкой растворимостью в воде. Может применяться для инактивации различных оболочечных вирусов. Вероятнее всего механизм инактивации заключается в разрушении или дезорганизации липидной оболочки вируса каприлатом с последующим разрушением капсида за счет связывания его белков с кислотой и их денатурации. Широко используется в получении гамма-глобулина, как промежуточной стадии производства целевого продукта. При фракционировании каприловой кислотой гамма-глобулин получают из супернатанта. Большое значение имеют концентрация каприловой кислоты, концентрация белка, ионной силы и pH инкубационной среды. При стандартной процедуре pH перед добавлением каприловой кислоты доводится до $4,8 \pm 0,05$ посредством разведения плазмы ацетатным буфером 0,04 - 0,06 М в соотношении 1:2. При этом наблюдается наилучший выход IgG по сравнению с неразведенной плазмой [2]. Далее рассчитывают необходимый объем каприловой кислоты и добавляют её по каплям, интенсивно перемешивая. В проведенных ранее исследованиях есть примеры использования 0,4 – 1,5 % каприловой кислоты. Однако наибольшую эффективность показало использование её в диапазоне концентраций от 0,5 % до 1 % [3]. После центрифугирования альбумин, связываясь с каприловой кислотой, выпадает в осадок, иммуноглобулины остаются в надосадочной жидкости. Чистота IgG в надосадке при этих условиях может достигать 90 – 94 % [2].

При фракционировании крови в условиях, не отвечающих требованиям надлежащей чистоты производственных помещений, актуален вопрос биологической безопасности. Для предотвращения инфекционного загрязнения в процессе выделения белков предполагается использование дезинфектантов. Фенол (карболовая кислота) является одним из старейших антибактериальных средств. Он действует как бактериостат, подавляя биологические процессы бактерий в концентрации 0,1 – 1 %, и обладает фунгицидным действием в концентрации 1 - 2 % [4]. Препараты фенола только в достаточно большой концентрации или при длительной экспозиции убивают инфекции, при низких концентрациях они влияют лишь бактериостатически. Поэтому важно использовать дезинфицирующее средство в высокой концентрации, и тогда возникает необходимость оценить его влияние на фракционирующую способность каприловой кислоты.

В данном исследовании использовали сыворотку крови КРС. Концентрацию белка в образцах определяли биуретовым методом. Проводили анализ чистоты белковых фракций при помощи диск-электрофореза по Дэвису в модификации Лэммли в однородном (8 %) ПААГ в диссоциирующих условиях. Результаты электрофореза анализировали с помощью системы GelDoc EZ System (Bio-Rad, США).

Фракционирование каприловой кислотой проводили стандартным способом с добавлением фенола в качестве дезинфектанта. Изучали влияние фенола в концентрациях 0,5 % и 1 % на процесс фракционирования каприловой кислоты в концентрациях 0,5 и 1 %. В стандартной процедуре плазму предварительно разбавляли 0,05 М натрий-ацетатным буфером ($pH = 4,8 \pm 0,05$), при перемешивании добавляли последовательно каприловую кислоту, а затем фенол. Центрифугировали 15 минут 4200 g. Получили две фракции – осадок, обогащенный альбумином и надосадок, обогащенный иммуноглобулином. Целевой фракцией является иммуноглобулиновый надосадок.

Измеряли концентрации белка в осадке и надосадке, далее рассчитывали количество белка и процент распределения белка по фракциям. Результаты анализа представлены на рисунке 1.

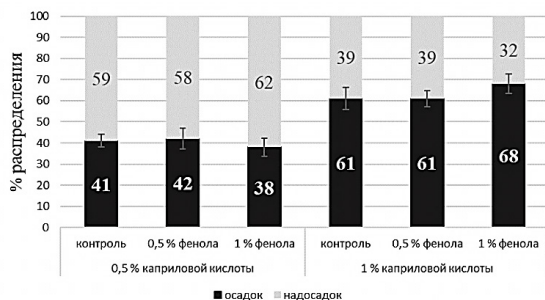


Рис. 1. Влияние фенола на фракционирование каприловой кислотой

По рисунку 1 можно заметить, что в процессе фракционирования 0,5 % каприловой кислоты фенол в концентрациях 0,5 - 1 % не оказывает достоверного влияния на распределение белка между осадком и надосадком. Увеличение концентрации фракционирующего агента до 1 % приводит к выпадению белка в осадок на 11 % больше, чем в контрольной пробе и пробе с 0,5 % фенола.

Далее анализировался белковый спектр всех полученных фракций с помощью электрофоретического метода. Чистоту полученных фракций и конечного продукта оценивали по числу и локализации окрашенных фракций. На рисунке 2 представлена электрофореграмма всех целевых фракций, а также результаты анализа образцов. На диаграмме представлено процентное содержание белковой фракции с молекулярной массой 140-160 кДа, что соответствует фракции иммуноглобулина G.

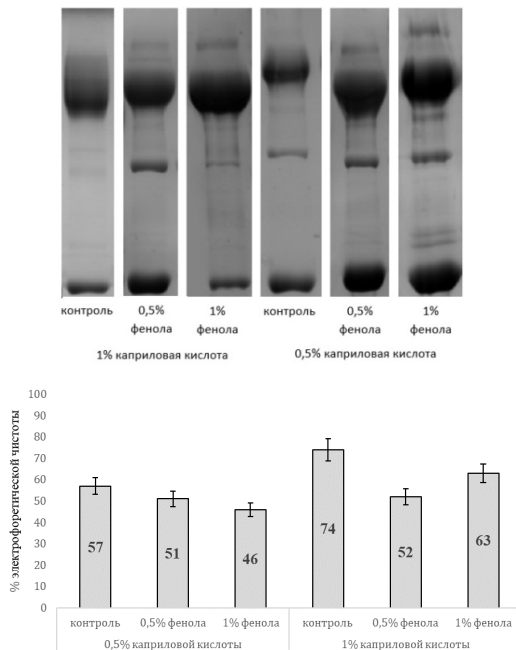


Рис. 2. Анализ электрофореза целевой фракции при фракционировании различными комбинациями каприловой кислоты и фенола

Диаграмма на рисунке 2 демонстрирует снижение чистоты целевого белка в образцах с фенолом, процент фенола не оказывает существенного влияния на данный процесс. Можно предположить, что каприловая кислота в присутствии фенола образует смешанные мицеллы, тем самым вызывая большее разворачивание молекулы иммуноглобулина. Таким образом, межфазная поверхность белка становится сильно гидрофобной и вызывает белок-белковые взаимодействия, что приводит к ассоциации и осаждению макромолекулярных комплексов. Увеличение количества белка, выпадающего в осадок под действием 1 % фенола и 1 % каприловой кислоты, происходит за счёт большего осаждения иммуноглобулина G.

Для дальнейших исследований оптимальными условиями фракционирования являются 0,5 % каприловой кислоты в присутствии 0,5 % фенола, так как в данной комбинации не выявлено негативное влияние, как на количество осаждающегося белка, так и на белковый спектр этого осадка.

Список использованной литературы

1. Препараты, полученные из крови человека и животных, в аспекте показателей качества, эффективности и безопасности / М. В. Супотницкий, А. А. Елапов, И. В. Борисевич [и др.] // Биопрепараты, 2015. – № 3. – С. 33–48.
2. Steinbuch, M. Protein Fractionation by Ammonium Sulphate, Rivanol and Caprylic Acid Precipitation. / M. Steinbuch // Methods of plasma protein fractionation; edited by J.M. Curling. – London : Academic Press, 1980. – P. 33–56.
3. Caprylic acid-induced impurity precipitation from protein A capture column elution pool to enable a two-chromatography-step process for monoclonal antibody purification / J. Zheng, L. Wang, B. Twarowska [etc.] // Biotechnology Progress, 2015. – V. 31. – P. 1515– 1525.
4. Sabbineni, J. Phenol-An effective antibacterial Agent / J. Sabbineni // Journal of Medicinal & Organic Chemistry, 2016. – V. 3. – P. 182-191.

БИОТЕХНОЛОГИЯ: ВЗГЛЯД В БУДУЩЕЕ

МАТЕРИАЛЫ XI МЕЖДУНАРОДНОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ

Часть II

Компьютерная верстка О. Г. Слисарь

Подписано в печать 22.05.2025 г.
Формат 60х84 ¹/₁₆. Бумага офсетная. Печать офсетная.
Гарнитура Times New Roman. Усл. печ. л. 16,5.
Заказ № 229. Тираж 30 экз.

**Ставропольский государственный медицинский университет,
355017, г. Ставрополь, ул. Мира, 310.**