

БІОАНАЛІТИЧНИЙ НАБІР «ХРОМХОЛЕСТЕРОЛ» ДЛЯ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ХОЛЕСТЕРОЛУ В СІРОВАТЦІ КРОВІ

Гончар М. В., Брантук А. А.

Контроль вмісту холестерину є важливим клініко-діагностичним маркером для оцінки стану здоров'я людини. І підвищення, і зниження нормального рівня холестерину збільшують ризик розвитку серцево-судинних захворювань: атеросклерозу судин головного мозку, ішемічної хвороби серця, інфаркту міокарда тощо. Принцип роботи створеного набору полягає у супряженні декількох ензиматичних реакцій: холестеролестеразної, холестеролоксидазної та пероксидазної, під час яких генерується кольоровий барвник, що визначається фотометрично. У склад набору входить ферментно-хромогенна суміш, розчин детергента і калібратор. Лінійність калібрування забезпечується в діапазоні концентрацій холестеролу від 2,0 до 10,0 ммоль/л.

ШТАМ ДРІЖДЖІВ *CANDIDA FAMILATA* IMB Y-5028 – ПРОДУЦЕНТ ФЛАВІНМОНОНУКЛЕОТИДУ (5'-ФМН)

Сибірний А. А., Яцишин В. Ю., Федорович Д. В.,
Іщук О. П., Вороновський А. Я.

Винахід відноситься до галузі мікробіологічного синтезу біологічно активних сполук і є новим штамом дріжджів *Candida famata* – продуцентом флавінмонуклеотиду (5'-ФМН).

Шляхом надекспресії гену FMN1 (кодує рибофлавінкіназу) у штаммах *C. famata*, здатних до надсинтезу рибофлавіну, сконструйовано штам дріжджів *C. famata* – продуцент флавінмонуклеотиду (5'-ФМН), який призначений для мікробіологічного отримання цього нуклеотиду. Сконструйовано штам *C. famata* IMB Y-5028, який, завдяки здатності нагромаджувати флавінмонуклеотид без додавання у поживне середовище АТФ або його попередників і РФ, може бути використаний у виробництві як ефективний продуцент цього нуклеотиду.

ШТАМ ДРІЖДЖІВ *CANDIDA FAMILATA* IMB Y-5033 – СТАБІЛЬНИЙ ПРОДУЦЕНТ РИБОФЛАВІНУ (ВІТАМІНУ В2)

Вороновський А. Я., Дмитрук К. В.,
Сибірний А. А., Федорович Д. В., Яцишин В. Ю.

Штам дріжджів *Candida famata* – стабільний синтетик рибофлавіну (вітаміну В2) з підвищеною продуктивністю синтезу, депонований в Депозитарії Інституту мікробіології та вірусології НАН України за № IMB Y-5033, який призначений для мікробіологічного отримання вітаміну В2. Винахід відноситься до галузі біотехнології і є новим штамом дріжджів *Candida famata* – продуцентом рибофлавіну (вітаміну В2).

Шляхом введення в геном дріжджів фрагменту ДНК, що несе генетичну інформацію про фактор, що забезпечує стабільність за ознакою "надсинтез рибофлавіну", сконструйовано стабільний штам дріжджів *Candida famata* IMB Y-5033 з підвищеною флавіногенною активністю. Отримано призначений для мікробіологічного одержання вітаміну

В2 штам дріжджів *Candida famata*, який характеризується підвищеною в 4 рази стабільністю і забезпечує зростання продуктивності синтезу рибофлавіну у 3-4 рази.

СПОСІБ ОТРИМАННЯ РЕКОМБІНАНТНИХ ШТАМІВ ДРІЖДЖІВ *CANDIDA FAMILATA* З ПІДВИЩЕНИМ РІВНЕМ СИНТЕЗУ ВІТАМІНУ В2 (РИБОФЛАВІНУ)

Цирульник А. О., Федорович Д. В.,
Колодій О. М., Дмитрук К. В., Сибірний А. А.

Винахід відноситься до галузі біотехнології і є способом отримання рекомбінантних штамів дріжджів *Candida famata* з підвищеною продукцією вітаміну В2. Рибофлавін застосовується як лікарський препарат, а також як кормова і харчова добавка, оскільки в організмі людини і тварин він не утворюється. У даний час вітамін В2 отримують використовуючи мікробний синтез. Продуцентами РФ є цвільові гриби *Ashbya gossypii* та *Eremothecium ashbyi*, рекомбінантні штами бактерій *Bacillus subtilis*, а також дріжджі *Candida famata*, які дають приблизно однаковий вихід кінцевого продукту. Перевагою дріжджів є їх здатність рости на простих живильних середовищах, напівпродуктах та відходах харчової промисловості. Однак, для рентабельного виробництва препаратів вітаміну В2 необхідно підвищити продуктивність наявних штамів продуцентів.

Для отримання покращених продуцентів рибофлавіну в геномі дріжджів *C. famata* надекспресовано ген, що кодує систему екскреції рибофлавіну. У штам *C. famata* – надсинтетик рибофлавіну введено плазмиду, що містить гомолог гену BCRP (breast cancer resistance protein) генетично близького до *C. famata* виду дріжджів *Debaryomyces hansenii* під контролем сильного промотора фактора елонгації трансляції – TEF1 дріжджів *D. hansenii*. Отримані рекомбінантні штами володіють вищою в 1,3- 1,5 рази продукцією рибофлавіну в порівнянні з реципієнтним штамом.

ШТАМ ДРІЖДЖІВ *CANDIDA FAMILATA* IMB Y-5034 – ПРОДУЦЕНТ РИБОФЛАВІНУ (ВІТАМІНУ В2)

Сибірний А. А., Дмитрук К. В., Федорович Д. В.

Штам дріжджів *Candida famata* – продуцент рибофлавіну (вітаміну В2), депонований в Депозитарії Інституту мікробіології та вірусології НАН України за № IMB Y-5034, який має високу флавіногенну активність і призначений для мікробіологічного отримання вітаміну В2. Винахід відноситься до галузі мікробіологічного синтезу біологічно активних сполук і є новим штамом дріжджів *Candida famata* – продуцентом вітаміну В2. Шляхом комбінації мутагенезу і селективних середовищ отримано штам з високою флавіногенною активністю, в геном якого введено додаткову копію гену SEF1, залученого в регуляцію біосинтезу рибофлавіну, сконструйовано штам-продуцент рибофлавіну з високою стабільністю за ознакою „надсинтез РФ”. Сконструйовано штам *C. famata* IMB Y-5034, який завдяки підвищеній флавіногенній активності та високій стабільності може бути використаний у виробництві як ефективний продуцент РФ (вітаміну В2). ■