

6. Fujimoto, K. Favorable treatment response of bevacizumab-combined chemotherapy for advanced or recurrent invasive mucinous adenocarcinoma of the lung: A retrospective observational study / K. Fujimoto [et al.] // Respiratory Investigation. – 2024. – Vol. 62, № 3. – P. 360-364.

7. Wang, X. Survival outcomes of targeted and immune consolidation therapies in locally advanced unresectable lung adenocarcinoma / X. Wang [et al.] // International Immunopharmacology. – 2024. – Vol. 129. – P. 111684.

### **Сведения об авторах**

В.С. Тихомирова – учащийся

А.А. Месарош – учащийся

С.Д. Иванчикова – учащийся

Е.С. Дубровина – учащийся

А.М. Мельников – аспирант

### **Information about the authors**

V.S. Tikhomirova – Student

A.A. Mesarosh – Student

S.D. Ivanchikova – Student

E.S. Dubrovina – Student

A.M. Melnikov – Postgraduate student

\***Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):**

alexMM2001@yandex.ru

УДК: 579.252.5

## **ПРОИЗВОДСТВО БЕЛКОВ С ПОМОЩЬЮ БАКТЕРИЙ**

Тосов Матвей Вадимович<sup>1</sup>, Панкратьева Анна Андреевна<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Муниципальное бюджетное общеобразовательное учреждение средняя общеобразовательная школа № 75

<sup>2</sup>Нетиповая образовательная организация «Фонд поддержки талантливых детей и молодежи «Золотое сечение»

<sup>3</sup>Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»

Екатеринбург, Россия

### **Аннотация**

**Введение.** Сыр является важным продуктом в жизни человека, однако в России сыроделие мало развито из-за распространенности пород, не подходящих для сыроделия, из-за низкого содержания казеинов в молоке, а именно каппа-казеина. Данной работой мы сможем решить проблемы сыроделия в условиях лаборатории. **Цель исследования** - создать ферму бактерий со встроенной и модифицированной плазмидой, успешно производящую каппа казеин. **Материалы и методы.** Выделение тотального РНК, обратная транскрипция, ПЦР, выборка вектора по заданным параметрам, лигирование T7 лигазой, электропорация, Секвенирование по Сэнгеру. Также в работе использовались теоретический и эмпирический метод. **Результаты.** Разработали схему клонирования кодирующего каппа-казеин CSN3 в вектор pET-22b и воспроизвели данную схему. **Выводы.** Бактерии являются оптимальным вариантом производства белков. Бактерии позволяют упростить производство и избежать распространения пород коров, подходящих для сыроделия, что существенно снизит себестоимость сыров и сделает их более доступными.

**Ключевые слова:** каппа-казеин, сыропроизводство, агротехнологии, бактерии, плазида.

## **PROTEIN PRODUCTIN BY BACTERIA**

Tosov Matvey Vadimovich<sup>1</sup>, Pankratieva Anna Andreevna<sup>1</sup>

Municipal budgetary general education institution secondary general education school № 75

<sup>2</sup>Foundation for Support of Talented Children and Youth “Golden Section”, Ekaterinburg, Russia

<sup>3</sup>Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education “Ural Federal University named after the First President of Russia B.N. Yeltsin”

Yekaterinburg, Russia

### **Abstract**

**Introduction.** Cheese is an important product in human life, but in Russia cheese making is little developed because of the prevalence of breeds not suitable for cheese making, because of the low content of caseins in milk, namely kappa-casein. With this work we will be able to solve the problems of cheesemaking in the laboratory. **The aim of the study**

is to establish a bacterial farm with embedded and modified plasmid successfully producing kappa casein. **Materials and Methods.** Total RNA isolation, reverse transcription, PCR, vector selection according to the given parameters, T7 ligation by T7 ligase, electroporation, Sanger sequencing. Also theoretical and empirical method were used in this work. **Results.** We developed a scheme for cloning the kappa-casein encoding CSN3 into pET-22b vector and reproduced this scheme. **Conclusions.** Bacteria are an optimal option for protein production. Bacteria can simplify production and avoid the proliferation of cow breeds suitable for cheesemaking, which will significantly reduce the cost of cheese and make it more affordable.

**Keywords:** kappa casein, cheese production, agro-technology, bacteria, plasmid.

## ВВЕДЕНИЕ

Генетика одна из важнейших наук для человечества. Ученые, изучая генетику, открывают все новые возможности в агрономии, медицине, животноводстве и многих других сферах. В нашем случае нас интересует агрогенетика: производство белков с помощью бактерий, а именно производства каппа казеина. Сейчас в России есть проблема в сфере сыроделия, так как самые распространенные породы коров в России это Голштинская порода [1], данная порода не является оптимальной для производства сыров, так как молоко породы не имеет большого количества белка, в частности каппа казеина [2]. Таким образом, данным проектом мы попытаемся решить проблему сыроделия в России за счет бактерий.

**Цель исследования** - Создать ферму бактерий со встроенной и модифицированной плазмидой успешно производящую нужный нам белок

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Вначале происходило выделение тотального РНК, после происходило обратная транскрипция, производство ПЦР и вставка липких концов по краям выделенного гена, вектор pET-22b [3], выбранный по заданным параметрам, также был подготовлен к лигированию и было произведено лигирование при 16°C в течении двадцати часов с T7 лигазой[4], после этого произведена электропорация для введения вектора в *E.Coli*, в конце исследования была произведена проверка успешности работы посредством выделения вектора из бактерии и проведения Секвенирования по Сэнгеру.

Также была проделана лабораторная работа по выделению ДНК из проростков пшеницы, ПЦР (Полимеразная Цепная Реакция) и электрофорез:

Выделение и подготовка образца к исследованию, добавить буфер LB и инкубировать получившийся раствор 10 минут при 65°C. Далее охладить образец при комнатной температуре. Центрифугируем образец 5 мин, 12000 gcf. Выделить получившийся супернатант и добавить в него 5мкл РНКазы. Инкубировать образец 10 мин при 37°C. Далее добавить буфер ВВ и инкубировать получившийся образец 1 мин при комнатной температуре. Затем добавить в колонку 750 мкл образца. Центрифугировать колонку 30 с, 12000 gcf несколько раз убирая фильтрат и постепенно добавляя супернатант. После нужно нанести на колонку 500 мкл буфера «WB» и центрифугировать колонку 30 с, 12000 gcf, также убирая фильтрат и добавить повторно буфер, после центрифугировать колонку 30 с, 12000 gcf. Убрав фильтрат, центрифугировать колонку 3 мин, 12000 gcf для полного удаления буфера «WB». Перенести колонку в новую пробирку на 1.5-2 мл. Плотно прижав колонку к пробирке. Нанести на центр фильтра колонки 100 мкл буфера «EW» и инкубировать колонку 3 мин при комнатной температуре. Центрифугировать колонку 1 мин, 10000 gcf. Затем провести нанодроп. В заключении провести ПЦР и электрофорез образцов. Также в течение всей работы принимались во внимание честность, коллективизм и универсализм, использовались теоретический и эмпирический методы исследований. Для моделирования плазмиды с геном CSN3 использовалась программа SnapGene.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

По заданным критериям в выборе рестриктаз были подобраны рестриктазы NdeI и XhoI. Схему клонирования кодирующего гена каппа-казеина CSN3 в вектор pET-22b оптимально разработали с учетом особенностей вектора и последовательности гена CSN3.



2. Чаицкий, А.А. Влияние генотипов гена каппа-казеина на сыропригодные свойства молока коров / А.А. Чаицкий, А.Д. Лемякин, А.Н. Тяжченко [и др.] // Вестник АПК Верхневолжья. – 2022. – № 2(58). – С. 33-43.
3. Wang, Q. Novel Method for Expression and Purification of Human Pigment Epithelium-Derived Factor with Biological Activities in *Escherichia coli* / Q. Wang, X. Yang, Z. Yang, G. Gao // Preparative Biochemistry & Biotechnology. – 2007. – № 36(2). – P. 127-138.
4. Difference Between T4 and T7 DNA Ligase // DifferenceBetween.COM : [сайт]. – URL: <https://www.differencebetween.com/difference-between-t4-and-t7-dna-ligase/> (дата обращения: 30.04.2025). – Текст : электронный.
5. Патент № 02401307 Российская Федерация, МПК С07К, С123 21/02, С12N 15/70, С12N 15/12. Рекомбинантная плазмидная ДНК рFK2, обеспечивающая синтез рекомбинантного пептида, являющегося аналогом фрагмента каппа-казеина человека, способ получения рекомбинантного пептида и рекомбинантный пептид, аналог фрагмента каппа-казеина человека, обладающий апоптогической активностью по отношению к раковым клеткам : № 2009118462/10 : заявл. 15.05.2009 : опубл. 10.10.2010 / Тикунова Н.В., Семенов Д.В., Бабкина И.Н., Кулигина Е.В., Коваль О.А., Фомин А.С., Матвеева В.А., Матвеев А.Л., Матвеев Л.Э., Рихтер В.А.
6. Hochuli, E. Genetic Approach to Facilitate Purification of Recombinant Proteins with a Novel Metal Chelate Adsorbent / E. Hochuli, W. Bannwarth, H. Döbeli [et al.] // Journal of Nature Biotechnology. – 1988. – P. 1321-1325.

### **Сведения об авторах**

М.В. Тосов\* - учащийся

А.А. Панкратьева - учитель английского языка

### **Information about the authors**

M.V. Tosov\* – Student

A.A. Pankratieva - English teacher

\*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

matvejtosov@gmail.com

УДК 615.3

## **ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПЛОДОВ БАРБАРИСА ОБЫКНОВЕННОГО ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБАХ ХРАНЕНИЯ**

Уткина Дарья Алексеевна<sup>1</sup>, Зиннатова Эльвира Рашидовна<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Детский технопарк Кванториум МАОУ Политехническая гимназия

Нижний Тагил, Россия

### **Аннотация**

**Введение.** В работе определено количественное содержание биологически активных веществ в плодах барбариса и изучена эффективность различных способов хранения на сохранность этих веществ. **Цель исследования** – определение концентрации биологически активных веществ (берберина, каротиноидов, витамина С, рутина) в плодах барбариса обыкновенного при различных способах хранения, а также антибактериальных свойств плодов барбариса. **Материалы и методы.** Проведен спектрофотометрический анализ количества берберина и каротиноидов. Содержание аскорбиновой кислоты и рутина устанавливали методом титриметрического анализа. Приготовление питательной среды Эндо осуществляли в соответствии с официальной инструкцией производителя к сухому препарату, предназначенному для селективного культивирования энтеробактерий. Инокуляцию исследуемого материала выполняли методом прямого контактного посева на поверхность агаризованной среды. **Результаты.** Плоды барбариса при различных способах хранения содержат различное количество биологически активных веществ. Была определена антимикробная активность экстракта из ягод барбариса в отношении кишечной палочки. **Выводы.** Плоды барбариса могут быть использованы в качестве фитодобавок при любых способах хранения, но каждый человек должен учитывать свою индивидуальную непереносимость во избежание аллергических реакций.

**Ключевые слова:** фитотерапия, барбарис, витамины, каротиноиды, берберин.

## **PHARMACOLOGICAL PROPERTIES OF BARBERRY FRUITS IN VARIOUS STORAGE METHODS**

Utkina Darya Alekseevna, Zinnatova Elvira Rashidovna

Children's Technopark Kvantorium Polytechnic Gymnasium

Nizhny Tagil, Russia

### **Annotation**

**Introduction.** The quantitative content of biologically active substances in barberry fruits was determined and the effectiveness of various storage methods for the safety of these substances was studied. **The aim** of the study was to determine the concentration of biologically active substances (berberine, carotenoids, vitamin C, rutin) in barberry fruits with various storage methods, as well as the antibacterial properties of barberry fruits. **Materials and methods.** A