

ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПЕРОРАЛЬНОЙ ДОСТАВКИ СОМАТОЛИБЕРИНА В СОСТАВЕ БИОМАССЫ РЕКОМБИНАНТНЫХ ШТАММОВ *E. COLI*

^{1,2}Эпова Е.Ю., ³Смирнова М.С.,
^{2,3,4}Шевелев А.Б., ⁴Тремасов М.Я.,
¹Алёшин В.В., ²Маракасова Е.С.,
^{3,4,*}Плаксына А.Г., ^{2,4}Осипенкова О.В.,
³Баловнева М.В., ⁴Шибяева А.В.,
⁴Папуниди К.Х., ¹Тараканов Б.В.

¹ГНУ «Всероссийский научно-
исследовательский институт
физиологии, биохимии и питания
сельскохозяйственных животных
РАСХН», Боровск;

²ФГОУ ВПО «Московская
государственная академия
ветеринарной медицины
и биотехнологии

им. К.И. Скрябина», Москва;

³Учреждение РАМН Институт
полиомиелита и вирусных энцефалитов
им. М.П. Чумакова РАМН,
Московская обл.;

⁴ФГУ «Федеральный центр
токсикологической и радиационной
безопасности животных», Казань,
e-mail: osipenkova.olga@mail.ru

Были созданы производные гена соматолиберина курицы, кодирующих зрелую последовательность GHRH («длинная» сплайсоформа, состоящая из 46 а.о.) и PACAP, на основе которых были созданы конструкции, обеспечивающие экспрессию в клетках *E. coli*. Биомасса этих штаммов порознь и в смеси друг с другом исследовалась на способность ускорять рост модельных животных. Было получено и испытано 8 штаммов *E. coli*. Штаммы получены путем введения четырех экспрессионных конструкций, включая интактный вектор pQE30, в два различных базовых штамма *E. coli* – C41(DE3) и TG1. Штаммы селектировали в момент проведения трансформации и в дальнейшем поддерживали на чашках Петри с агаризованной средой или жидкой среде LB (10 г/л пептона, 5 г/л дрожжевого экстракта, 10 г/л NaCl), содержащей 100 мкг/мл ампициллина, при 37 °С. При

поддержании на плотной среде пересев проводился не реже 1 раза в неделю. Для получения биомассы штаммы культивировали в колбах Эрленмейера объемом 750 мл, содержащих по 50 мл среды, в течение 14-16 часов при интенсивной аэрации (≥ 250 rpm). Полученную таким образом биомассу собирали низкоскоростным центрифугированием, промывали физиологическим раствором (150 мМ NaCl) и суспендировали в минимальном объеме физиологического раствора с целью создания концентрации бактериальных клеток не ниже 10^{10} кое/мл.

Биологические испытания проводились на белых беспородных мышах возрастом 3-4 недели. Мыши содержались на полноценном белково-витаминном корме в условиях, обеспечивающих максимальную скорость роста. Испытуемый препарат пробиотического штамма вносился в корм 1 раз в сутки в течение всего времени проведения испытаний – 20 дней. Для проведения испытаний каждого штамма выделялась выборка из 40 мышат возрастом 4 недели, которая разбивалась на две подвыборки. Подвыборка 1 получала 10^7 кое в сутки, подвыборка 2 – 10^6 кое в сутки. В качестве контрольной группы выступала выборка из 20 мышей, не получающая пробиотика. Взвешивание каждой выборки животных проводилось ежедневно в одно и то же время (вся выборка одновременно). Общая длительность эксперимента составила 21 день.

С помощью ПЦР из генома курицы было клонировано два экзона гена соматолиберина, которые затем были слиты и введены в состав вектора pQE30. В качестве источника гена была выбрана геномная ДНК курицы, выделенная из мышечной ткани методом фенольной экстракции. Основываясь на известной интрон-экзонной организации гена соматолиберина курицы, были сконструированы две пары праймеров SLN1-SLN2 и SLN3-SLN4 для амплификации. В итоге на основе полученного продукта ПЦР была отобрана конструкция pQE-SLN1, содержащая ген полноразмерного зрелого соматолиберина. Эта конструкция послужила в качестве исходной для получения искусственных генов, кодирующих производные предшественника соматолиберина – пептиды GHRH и PACAP и были отобраны конструкции pQE-SLN-Ch1, содержащая ген пептида GHRH, и pQE-SLN-PACAP, содержащая ген пептида PACAP.

Наряду с генами производных соматолиберина курицы в рамках проекта был синтезирован ген GHRH свиньи. Была установлена полная идентичность белковых продуктов гена человеческого происхождения и GHRH свиньи. С этой целью на

матрице геномной ДНК человека был проведен ПЦР с паримерами SLN-H1 и SLN-H2, в результате чего была получена конструкция pQE-SLN-Le1, содержащая ген пептида GHRH свиньи.

Полученные конструкции pQE-SLN-Ch1, pQE-SLN-PACAP и pQE-SLN-Le1 были использованы для экспрессии в лабораторных условиях с целью препаративной наработки соматолиберина в виде биомассы *E. coli*. Штамм *E. coli* C41(DE3) сам по себе не оказывал существенного влияния на скорость роста мышей в пределах использованных концентраций клеток модельного пробиотика (10^6 – 10^7 кое в сутки). Среди испытанных конструкций, введенных в штамм C41(DE3), наибольший положительный эффект проявила конструкция pQE-SLN-Ch1, несущая ген «длинной» сплайсоформы 1 GHRH курицы. Эффект имел дозозависимость: при нагрузке 10^6 скорость привеса увеличивалась на 9,5 %, а при нагрузке 10^7 кое в сутки – на 15,1 % по сравнению с контролем. При этом разброс результатов в контрольных выборках не превышал 5 %. При этом штаммы, несущие ген PACAP, а также ген GHRH свиньи достоверно не отлича-

лись по влиянию на скорость привеса мышей от контрольного штамма с нерекombинантным вектором pQE30.

Полученные результаты убедительно свидетельствуют о возможности пероральной доставки пептидного гормона GHRH животным. При этом модель мышат обладает необходимой чувствительностью для изучения количественных и качественных характеристик соматолиберина курицы. Между тем, задача конструирования гена соматолиберина курицы, оптимального для рекомбинантной экспрессии в клетках пробиотиков ставит вопрос о целесообразности сохранения или удаления той части природной последовательности ДНК, которая кодирует пептид PACAP. Таким образом, впервые получены данные о физиологическом действии этих гормонов на животных моделях при пероральной доставке. Впервые показана возможность тестирования GHRH курицы на модели мышат.

Настоящее исследование было выполнено при поддержке Государственных контрактов №№ 14.740.11.0122, П807, 14.740.11.0625, 14.740.11.0254, П1263, 16.740.11.0365.

Медицинские науки

СОЦИАЛЬНЫЕ ПАРАМЕТРЫ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ВРАЧА-РУКОВОДИТЕЛЯ В КОНТЕКСТЕ МОДЕРНИЗАЦИИ ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ

**Доника А.Д., Карпович А.В.,
Доника Д.Д.**

*Волгоградский государственный
медицинский университет, Волгоград,
Городская стоматологическая
поликлиника № 8, Саратов,
e-mail: addonika@yandex.ru*

Реализация Национального проекта в области здравоохранения немыслима без оптимизации кадровой политики, особенно руководящего звена системы здравоохранения. Руководитель, как социальная позиция в коллективе, и его личностные характеристики, как предмет исследования, особенно актуальны в условиях современного конкурентного рынка, так как от уровня квалификации, направленности его деятельности во многом зависят не только качество ока-

зываемых лечебно-профилактических услуг, но и социально-психологический климат в коллективе, удовлетворенность работой врачей-исполнителей.

Академик РАМН Решетников А.В. выделяет три группы факторов, обуславливающих конфликты в медицинских учреждениях: экономические, административно-управленческие и психосоциальные. При этом оценка руководителями и врачами конфликтогенных факторов различна. Принципиальное различие состоит в том, что руководители считают наиболее распространенными конфликтогенными факторами административно-управленческие и психосоциальные (соответственно 94 % и 87 % руководителей), а врачи – административные (83 % врачей) и только в кризисных ситуациях – психосоциальные (53 %).

В этой связи мы провели медико-социологический анализ статусно-ролевых параметров профессиональной деятельности врача-руководителя медицинского коллектива для экспликации феномена лидерства в медицинской профессии как специфической социально-психологической компетенции, обуславливающей эффективность руководства в медицинском коллективе.

Проведенное исследование показало, что лидерство в медицинской профессии представляет