

УДК 091.541.127; 577.15.

РАЗВИТИЕ БИОКАТАЛИТИЧЕСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ В МОСКОВСКОМ УНИВЕРСИТЕТЕ И НЕКОТОРЫХ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИХ ИНСТИТУТАХ РОССИИ В НАЧАЛЕ XXI ВЕКА*

Е.А. Зайцева, Т.А. Осипова

(Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, химический факультет, кафедра химической энзимологии; e-mail: zai@enz.chem.msu.ru)

Обзор посвящен изложению последних достижений научно-исследовательских работ в области биокатализа, проводимых по проекту “Биокаталитические технологии” ФЦНТП “Исследования и разработки по приоритетным направлениям науки и техники”. Приводится краткое описание новых технологий с использованием биокатализаторов для целей целлюлозно-бумажной, текстильной, пищевой, фармацевтической промышленности и сельского хозяйства. Даны характеристики высокочувствительных методов анализа для защиты окружающей среды, контроля качества пищевых продуктов, медицинской диагностики. Приведены примеры разрабатываемых лекарственных средств и материалов на основе ферментов и их регуляторов для лечения сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний, а также для использования в хирургии, стоматологии и офтальмологии.

Использование биокатализаторов на основе ферментов и микроорганизмов выгодно как с экономической, так и с экологической точек зрения. Об этом свидетельствует возрастающий объем продаж биокатализаторов на мировом рынке, который в 2001 г. составил более 2,0 млрд американских долларов. Общий объем сектора мирового рынка ферментов, связанного с прикладной энзимологией, включающий ферменты, регуляторы их активности, субстраты, а также устройства на их основе, оценивается в десятки миллиардов долларов и постоянно растет. Ферментные препараты находят широкое применение в различных областях промышленности (текстильная, целлюлозно-бумажная, химическая (производство моющих средств), пищевая, фармацевтическая); в сельском хозяйстве (кормовые добавки, ветеринарные препараты); в медицинской и экологической диагностике. Наиболее широко используемыми ферментами являются карбогидразы (целлюлазы, гемицеллюлазы, пектиназы, амилазы и др.), гидролазы (протеазы, липазы), оксидоредуктазы (лактазы, пероксидазы и др.). В современной России, несмотря на существенное сокращение ряда производств после распада СССР, общий объем производства ферментных препаратов в 2000 г. составил 2132,4 усл. т. Однако имеющиеся в стране биотехнологии часто не отвечают современным требованиям рынка и во многом не являются конкурентноспособными по сравнению с зару-

бежными аналогами. В связи с этим существует необходимость создания новых эффективных отечественных технологий по производству и использованию биокатализаторов.

Проект “Биокаталитические технологии” входит в состав Федеральной целевой научно-технической программы “Исследования и разработки по приоритетным направлениям науки и техники” и направлен на решение стратегически важной задачи создания новых каталитических процессов с использованием ферментов и ферментных систем, отвечающих требованиям современного рынка. В рамках проекта, являющегося логическим продолжением приоритетного направления “Инженерная энзимология” государственной научно-технической программы “Новейшие методы биоинженерии”, за последние 10 лет проведены фундаментальные исследования, формирующие представления о молекулярной природе биологического катализа, принципиально расширяющие возможности его практического использования. Полученные результаты служат основой для ряда разработок, проводимых в настоящее время, и имеют важное значение для создания принципиально новых биокаталитических процессов в России.

Настоящая работа посвящена полученным за последние годы научным и практическим достижениям по применению биокаталитических технологий в об-

* По материалам Федеральной целевой научно-технической программы “Исследования и разработки по приоритетным направлениям науки и техники”

ласти химического синтеза, аналитических систем и медицины.

Научные исследовательские работы, проводимые в рамках проекта “Биокаталитические технологии”, разделяются с учетом области их использования на следующие основные направления: 1) биокатализаторы для промышленности и сельского хозяйства; 2) биокаталитические системы для защиты окружающей среды, экологической и медицинской диагностики; 3) лекарственные препараты на основе ферментов и их регуляторов.

Биокатализаторы для промышленности и сельского хозяйства

Наиболее значительными в этом направлении являются работы, завершившиеся созданием высокоэффективных биокатализаторов с новыми улучшенными свойствами для биоконверсии растительного сырья и целлюлозосодержащих отходов, обработки тканей и текстильных изделий, получения кормовых добавок, для химического синтеза, фармакологии, ветеринарии. К числу таких разработок можно отнести препараты на основе карбогидраз (целлюлаз, гемицеллюлаз, пектиназ, амилаз, ксиланаз, маннаназ), кутиназ, оксидоредуктаз (лакказ, пероксидаз), циклодекстрин-трансфераз, формиатдегидрогеназ и др.

Так, учеными Московского университета совместно с сотрудниками Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН впервые в России разработан биотехнологический способ получения высокоактивных препаратов ферментов карбогидраз с помощью штамма *Penicillium funiculosum*, изучены их основные свойства и показана перспективность их использования в качестве кормовых добавок. По своему составу и активности отдельных компонентов карбогидразный комплекс не уступает лучшим мировым аналогам. Показано, что в состав карбогидраз гриба входят, главным образом, целлюлазы, ксиланазы и маннаназы. Нарботана опытная партия ферментного препарата и успешно проводятся испытания в условиях производства [1–3]. Большой интерес представляют ферменты, способные расщеплять полиэфирные материалы и осуществлять биоскоринг суровой хлопковой ткани, заменяющий щелочную варку. С этой целью ведутся работы по созданию новых препаратов ферментов специфических полиэстераз и кутиназ. Установлено, что наиболее активные штаммы принадлежат к родам *Fusarium* и *Aspergillus* [4–6]. Проведено культивирование наиболее активных мутантов в лабораторных условиях и получены опытные партии.

В Институте биохимии им. А.Н. Баха РАН успешно выполняются работы по использованию ферментов (пектиназ, целлюлаз, гемицеллюлаз, эндо-глюконаз и др.), деградирующих полисахариды клеточных стенок высших растений для защиты сельскохозяйственных

растений от фитопатогенов. На примере экосистемы корень нантской моркови–возбудитель белой гнили моркови *Sclerotinia libertiana* и кагатной гнили *Rhizopus nigericana* продемонстрирована устойчивость сельскохозяйственных растений к фитопатогенным формам микроорганизмов, вызванная образованием фитоалексинов под действием ферментных препаратов, и показаны морфологические изменения, способствующие увеличению урожайности [7]. Ферменты такого типа перспективны для использования в целлюлозно-бумажной промышленности. Так, разработан и уже применяется ферментативный способ переработки трудно распускаемой макулатуры в целлюлозную массу с использованием препарата “Целлокандин” из *Geotrichum candidum* на основе целлюлаз и гемицеллюлаз. Успешно ведутся работы по применению гемицеллюлаз, целлюлаз, пектиназ, лакказ, пероксидаз, а также лакказа- и пероксидаза-медиаторных систем для удаления лигнина и исключения хлорсодержащих реагентов из систем отбеливания целлюлозы [8, 9].

С целью создания промышленного синтеза циклодекстринов, обеспечивающего потребности внутреннего рынка, в Казанском государственном университете проводятся разработки биокатализаторов на основе циклодекстринтрансфераз. Получены рекомбинантные штаммы микроорганизмов и культуры клеток растений – гиперпродуценты циклодекстринтрансфераз, а также их иммобилизованные формы. Разработан метод получения комплексов антиаритмического препарата аймалина с β -циклодекстрином [10].

Продолжены работы по созданию биокатализаторов для процессов регенерации коферментов (НАДН и НАДФН), особенно важных при химическом синтезе оптически активных соединений. Созданы рекомбинантные штаммы суперпродуценты НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ, а также получены препараты с измененной субстратной специфичностью [11–12].

На примере пенициллинацилазы, ключевого фермента синтеза β -лактамов антибиотиков, развиты биокаталитические методы для целей тонкого органического синтеза. Изучены возможности ферментативного синтеза ампициллина и амоксициллина в гомогенной среде и в промышленно важных условиях гетерогенной системы “водный раствор–осадок”, предложены подходы для создания конкурентноспособной, по сравнению с традиционными химическими методами, биокаталитической технологии [13–15].

С использованием комплекса бактериолитических и протеолитических ферментов “Лизоамидаза” в Институте биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН разработаны ветеринарный препарат неантибиотической природы “Лизомаст”, а также новые лекарственные формы на его основе, эффективные для лечения мастита у коров [16–18].

Биокаталитические системы для защиты окружающей среды, экологической и медицинской диагностики

Важным направлением использования биокатализаторов является создание эффективных технологий для защиты окружающей среды, а также разработка новых методов экологической и медицинской диагностики. В рамках проекта “Биокаталитические технологии” успешно ведутся работы по созданию процесса очистки газов и сточных вод от сероводорода с использованием биокатализатора на основе иммобилизованных бактерий *Thiobacillus*. Разрабатываемая технология выгодно отличается от используемых в настоящее время дешевизной, экологичностью, практически безреагентным характером процесса, высокой степенью окисления сульфида (94–98%). Созданы лабораторные макеты проточных (аэробного и анаэробного) биореакторов и проведена подготовка для пилотных испытаний [19–20].

С целью создания биокатализаторов, способных эффективно осуществлять гидролиз и детекцию фосфорорганических соединений, в том числе боевых отравляющих веществ и нейротоксичных сельскохозяйственных пестицидов, получен генно-инженерный высокопродуктивный штамм-продуцент органофосфатгидролазы. На основе фермента, выделенного из клеток *E. coli* HB100, получены иммобилизованные образцы биокатализаторов с использованием новых тканевых носителей, модифицированных различными хитозановыми покрытиями, обладающие повышенными сорбционными свойствами по отношению к фосфорорганическим нейротоксинам [21].

Продолжено создание биосенсорных систем и устройств для экспресс-анализа токсинов и физиологически активных веществ в объектах окружающей среды, продуктах питания и биологических жидкостях.

Создан лабораторный прототип амперометрического биосенсора для быстрого определения активности нейротоксичной эстеразы в крови животных и человека. Разработаны форма анализа и семейство приборов для быстрого и чувствительного анализа фосфорорганических соединений и карбаматов [22–24].

Создан интегральный биодатчик на основе двухцепочечных молекул нуклеиновых кислот, фиксированных в пространственной структуре холестерической жидкокристаллической дисперсии и “сшитых” полимерными хелатными мостиками, для анализа фосфорорганических соединений с пределом обнаружения $1 \cdot 10^{-6}$ – $1 \cdot 10^{-7}$ М [25].

Разработана амперометрическая биосенсорная система на основе иммобилизованной алкогольоксидазы для быстрого измерения спирта в жидких средах в диапазоне концентраций от 0,0001 до 0,004 об.%. Определены аналитические и эксплуатационные характеристики, а также проведены испытания на реальных объектах.

Создан экспрессный лабораторный метод количественного определения ненасыщенных жирных кислот в свободном состоянии, а также в составе жиров и растительных масел с помощью биферментной системы “липаза–липоксигеназа” в среде обращенных мицелл [26].

Продолжены работы по исследованию механизмов биолюминесценции и созданию гиперчувствительных экспресс-методов биолюминесцентного анализа для контроля качества пищевых продуктов. Производятся наборы реагентов для биолюминесцентного анализа на основе АТФ-зависимой люциферазы, включая генно-инженерные модификации фермента, для анализа общей бактериальной обсемененности питьевой воды и сырого молока. Метод позволяет достичь предела обнаружения по общей бактериальной обсемененности 1 клетка/мл при длительности анализа менее 7 ч [27].

Проведены работы по созданию экспериментальных образцов высокочувствительных иммунохимических экспрессных тест-систем с визуальной и приборной детекцией для контроля загрязнения воды пестицидами, относящимися к классам сульфонилов, триазинов и полихлорированных фенолов. Разработаны мембранные и электрохимические методы количественного и качественного определения пестицидов. Тест-системы позволяют детектировать хлорсульфурон, симазин, атразин, 2,4-дихлорфеноксиуксусную кислоту (2,4-Д). Выпущена опытная партия тест-систем на планшетах для определения пестицида 2,4-Д в воде и почве. Экспрессные варианты иммуноанализа характеризуются чувствительностью в диапазоне 0,01–5 нг/мл при времени определения от 5 до 25 мин. Ведутся работы по созданию иммуоферментных тест-систем для определения антибиотиков в продуктах питания. Созданы опытные образцы для анализа левомицитина и хлорамфеникола с пределом обнаружения 10 и 0,03 нг/мл соответственно [28–34].

Лекарственные препараты на основе ферментов и их регуляторов

Особую роль биокатализаторы играют в развитии фармацевтической промышленности и медицины. К настоящему времени в России выполнен большой цикл исследований по разработке средств с использованием физиологически важных белков и их регуляторов, которые недостаточно полно представлены на мировом фармацевтическом рынке.

Проведение дальнейших работ в этой области позволит получить лекарственные препараты для эффективного и исключаящего осложнения тромбоза, действенные и безопасные антиоксидантные составы, средства для терапии ранений, инфицированных ран и ожогов, в том числе глаз, для нормализации

протеолитического баланса в организме (рак, заболевания пищеварительного тракта, ишемии и др.). Исследования, проводимые в этой области, направлены на создание следующих препаратов и методов.

Успешно ведутся работы по созданию тромболитических средств пролонгированного действия. Учеными РК НПК МЗ РФ разрабатывается антитромботический препарат на основе производных супероксиддисмутазы и каталазы, модифицированный хондроитинсульфатом. Проведена оценка антитромботической активности ферментных антиоксидантов при развитии тромбозов и антитромботической активности производных каталазы и хондроитинсульфата на модели артериального тромбоза у животных. Установлено, что действие новых препаратов каталазы влияет на структуру образующегося тромба и замедляет его рост [35–37].

Детально изучено тромболитическое действие нативной урокиназы и ее ацилированных по серину активного центра производных. Найдена оптимальная композиция системы урокиназа – ацил-фермент, обеспечивающая эффективность и пролонгированность тромболитического действия [38, 39].

С целью создания новых лекарственных форм для лечения заболеваний, связанных с активностью ангиотензин-превращающего фермента, регулирующего кровяное давление в организме, изучена кинетика и механизм действия ангиотензин-превращающего фермента для направленной регуляции его активности в различных тканях. Разработаны подходы к созданию новых ингибиторов фермента с доменным (тканеспецифичным) действием, а также методы определения влияния местного введения ингибитора ангиотензин-превращающего фермента – лизиноприла (в виде глазных капель) – на течение заболевания, вызванного щелочным ожогом лимбальной конъюнктивы глаза животных. Проведено также сравнительное исследование влияния ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента (каптоприла, лизиноприла) на течение ожоговой болезни глаз в экспериментах на животных [40–44].

Разработаны новые методы профилактики и прогноза снижения зрительных функций при диабете на основе изучения на ранней стадии заболевания корреляций между активностью протеолитических ферментов, их ингибиторов и состоянием микроциркуляторного русла глаза, изменениями в липидном обмене и окислительных процессах [45].

Проведены исследования, направленные на создание препаратов и методов для терапии новообразований и лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта. Разработаны модифицированные белковые

ингибиторы протеиназ из соевых бобов (ВВ1) и поджелудочной железы крупного рогатого скота (апротинин) для лечения заболеваний, связанных с нарушением протеолитического баланса в организме (некоторые формы рака, панкреатиты, регуляция пищеварения, шоки различной этиологии, ожоги, воспаления, ишемии) [46–48]. Созданы методы микрокапсулирования протеиназ и их белковых ингибиторов с целью создания высокоэффективных лекарственных форм пролонгированного и тропного действия [49–51]. С целью поиска новых путей терапии кишечных заболеваний проводится изучение ингибирования новой сериновой протеиназы – дуоденазы, ключевого фермента в каскаде протеолиза [52].

Проводятся работы по созданию средств, способствующих быстрому заживлению ран (инфицированных ран, ожогов, радиационных поражений), которые изготавливаются в виде повязок, мазей, порошков и могут эффективно применяться в полевых условиях. Разработаны препараты на основе высокоаффинных пептидов-агонистов и их комплексов, инкапсулированных в композитные поли-N-капролактамы-кальций-альгинатные пленки с хитозаном, и выявлено ускорение процесса заживления ран у животных [53, 54].

На основе коллагеназы из гепатопанкреаса камчатского краба создана мазь “*Морикрол*”, обладающая ранозаживляющим действием, для лечения ожогов гнойно-трофических язв, пролежней, рубцов, отторжения при трансплантации кожи [55, 56].

На заводе при Институте текстильных материалов организовано производство (выпускаются опытные партии) мультиферментных перевязочных средств на основе белков из отходов крабового производства.

Предложен метод модификации хитозановых пленок поверхностно-активным веществом, обеспечивающим формирование на пленке слоя, выполняющего роль полупроницаемой мембраны, для замедления выделения лекарственного начала. Пленка в целом при набухании способна увеличивать объем на 2000–4000%. По способности поглощать и удерживать влагу разработанный материал превосходит все известные перевязочные средства. Показана эффективность использования материала для лечения трудно заживающих ран онкологических больных. Для использования при лечении вялоэкссудирующих ран и в стоматологии созданы содержащие белковые ингибиторы протеиназ биodeградируемые полимерные мембраны, обладающие развитой пористой структурой, способствующей прорастанию фибробластов и соединительной ткани, и способностью к биоразложению в течение 1–2 мес. [57–59].

Все работы выполнены при финансовой поддержке ФЦНТП “Исследования и разработки по приоритетным направлениям науки и техники” (Контракт Минпромнауки РФ №43.073.1.1.2505).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Соловьева И.В., Окунев О.Н., Крюкова Е.Г. // Прикладная биохимия и микробиология. 1997. **33**. №4. С. 925.
2. Гутьеррес Б., Синицын А.П., Кастельянос О.Ф. // Прикладная биохимия и микробиология. 1998. **34**. №6. С. 622.
3. Solovyeva I.V., Okunev O.N., Krykova E.G. // System. Appl. Microbiol. 1999. **22**. P. 540.
4. Muller R.J., Kleeberg I.K., Deckwer W. // L.Biotechnol. 2001. **86**. P. 87.
5. Hseith Y.-L., Cram L. // Textile Res. J. 1998. **66**. P. 311.
6. Carvallo C.M.L., Aires-Barros M.R., Cabral J.M.S. // Biotech. Bioengineering. 1999. **66**. P. 17.
7. Лапин В.В., Родионова Н.А., Загустина Н.А., Капанчан А.Т. // Прикладная биохимия и микробиология. 2002. **38**. № 4. С. 452.
8. Лапин В.В., Смоляков А.И., Капанчан А.Т. // Пат. РФ № 2154703 от 13.01.2000.
9. Shleev S.V., Ir Gyon Khan, Morozova O.V., Yaropolov A.I. // Biochem. J. 2002 (in press)
10. Винтер В.Г., Фаттахов С.Г., Козлова Р.Ю. Пат. на изобретение № 2174555 от 10.10.2001.
11. Hummel, W. // Trends Biotechnol. 1999. **17**. P. 487.
12. Tishkov V. I., Galkin A. G., Fedorchuk V.V. et al. // Biotechnol. Bioeng. 1999. **64**. P. 187.
13. Юшко М.И., Шамолина Т.А., Гуранда Д.Ф. // Биохимия. 1998. **63**. С. 1295.
14. Youshko M.I., Van Langen L.M., Van Rantwijk F. // Biotechnol. Bioeng. 2002 (in press).
15. Svedas V.K. Int. conference "BioTrans-2001". Darmstadt. 2001. Proceeding. P. 107.
16. Демидова Л.Д., Юрков М.В., Ежов В.А. // Патент РФ № 2064299 от 27.07.96
17. Демидова Л.Д., Юрков М.В., Ежов В.А. // Ветеринария. 1998. №6. С. 42.
18. Ezhov V.A., Kozlovsky A.G., Demidova L.D. // Int. symp. "Modern problems of microbial biochemistry and biotechnology". Pishchino. June 25–30, 2000. Proceeding. P. 108.
19. Калюжный С., Федорович В. // Экология и промышленность. 2000. № 2. С. 33.
20. Калюжный С., Федорович В. // Нефть, газ и бизнес. 2000. №1. С. 51.
21. Efremenko E.N., Lozinsky V.I., Sergeeva V.S. // J. Biochem. Biophys. Methods. 2002. **51**. P. 195.
22. Гиндилис А.Л., Курочкин И.Н. // Прикладная биохимия и микробиология. 1998. **34**. №3. P. 326.
23. Бармин А.А., Еременко А.А., Осипова Т.А. // Сенсорные системы. 1999. **13**. № 3. P. 239.
24. Sigolaeva L.V., Makower A., Eremenko A.V. // Anal. Biochem. 2001. **290**. P. 1.
25. Евдокимов Ю.М., Саянов В.И., Мчетливили Б.В. // Сенсорные системы. 1999. **13**. №1. С. 82.
26. Павленко И.М., Купцова О.С., Клячко Н.Л. // Биоорганическая химия. 2002. **28**. №1. С. 50.
27. Froudjian V.G., Ugarova N.N. 12 Int. Symposium on Bioluminescence and Chemiluminescence. 2002. Cambridge, Proceeding (in press).
28. Yulaev M.F., Sitdikov R.A., Dmitrieva N.M. // Sensors and Actuators. 2001. **75**. P. 129.
29. Eremin S.A., Ryabova I.A., Yakovleva J.N. // Analytica Chimica Acta. 2001. **215**. P. 1.
30. Дзантиев Б.Б., Язынина Е.В., Жердев А.В. // Прикладная биохимия и микробиология. 2002. **38**. №1. С. 1.
31. Ferapontova E.E., Grigorenko V.G., Egorov A.M. // Biosens. Bioelectr. 2001. **16**. P. 147.
32. Dmitriev D.A., Massino Yu.S., Segal O.L. // Clin. Chim. Acta. 2001. **309**. P. 57.
33. Samsonova J.V., Rubtsova M.Yu., Kiseleva A.V. // Biosens. Bioelectr. 1999. **14**. P. 273.
34. Rubtsova M.Yu., Samsonova J.V., Ezhov A.A., Egorov A.M. // Biolum and Chemilum. Perspectives for the 21st Century, ed. A. Roda, M. Pazzagli, L.J. Kricka, P.E. Stanley. 1999. P. 71.
35. Максименко А.В. // Вopr. биол. мед. фармацевт. химии. 2001. №1. С. 3.
36. Maksimenko A.V., Tischenko E.G., Pozin E.Yu. et al. // Advanced in Gerontology. 2001. **6**. P. 13.
37. Maksimenko A.V. // Medical Science Monitor. 2002. **8**. №1. P. 13.
38. Moukhametova L.I., Aisina R.B., Varfolomeyev S.D. // Trombos. Naemost. 2001. P. 416.
39. Мухаметова Л.И., Айсина Р.Б., Варфоломеев С.Д. // Изв. РАН. Серия Химия. 2001. **10**. С. 5854.
40. Chesnokova N.B., Kuznetsova T.P., Voronov S.V. et al. Int. Conference "Biocatalysis-2000". Moscow. 2000. Abstracts. P. 80.
41. Воронов С.В., Биневский П.В., Еремин С.А., Кост О.А. // Биохимия. 2001. **66**. №7. С. 968.
42. Kost O.A., Bovin N.V., Chemodanova E.E., Nasonov V.V., Orth T.A. // J. Mol. Recognit. 2000. **13**. P. 1.
43. Биневский П.В., Никольская И.И., Поздnev В.Ф., Кост О.А. // Биохимия. 2000. **65**. №6. С. 765.
44. Чемоданова Е.Е., Орт Т.А., Насонов В.В., Бовин Н.В., Кост О.А. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2000. **41**. № 6. С. 380.
45. Чеснокова Н.Б., Григорьев А.В., Кузнецова Т.П. и др. // Вестник офтальмологии. 2000. **116**. № 5. С. 31.
46. Гладышева И.П., Мороз Н.А., Паписова А.И., Ларионова Н.И. // Биохимия. 2001. **66**. № 4. С. 474.
47. Малых Е.В., Тюрина О.П., Ларионова Н.И. // Биохимия. 2001. **66**. №4. С. 549.
48. Тюрина О.П., Шарф Т.В., Селищева А.А., Сорокоумова Г.М., Швец В.И., Ларионова Н.И. // Биохимия. 2001. **66**. № 3. С. 419.
49. Balabushevitch N.G., Sukhorukov G.B., Moroz N.A. et al. // Biotechn. Bioengin. 2001. **76**. P. 207.
50. Tiourina O.P., Antipov A.A., Sukhorukov G.B. et al. // Macromolecular Bioscience. 2001. **1**. P. 209.
51. Larionova N.I., Volodkin D.V., Balabushevitch N.G. et al. // Sci. Pharm. 2001. **69**. P. 175.
52. Гладышева И.П., Попыкина Н.А., Замолдчикова Т.С., Ларионова Н.И. // Биохимия. 2001. **66**. № 6. С. 839.
53. Markvicheva A., Kuptsova S.V., Mareeva T.Yu. et al. // Appl. Biochem. Biotechnol. 2000. **88**. №1–3. P. 145.
54. Струкова С.М. // Биохимия. 2001. **66**. №1. С. 8.
55. Руденская Г.Н., Лютова Л.В., Карабасова М.А. и др. // Вестн. Моск. ун-та. 2000. Сер. 2. Химия. **41**. С. 414.
56. Иголкина Л.А., Руденская Ю.А., Руденская Г.Н. // Вестн. Моск. ун-та. 2000. Сер. 2. Химия. **41**. С. 398.
57. Вихорева Г.А., Шаблыкова И.А., Кильдеева Н.Р. // Химические волокна. 2001. №4. С. 42.
58. Kildeeva N., Vichoreva G., Gorbacheva I. et al. // Pharmacy and Chemistry. 2002. Ed. R.A.A. Muzzarelli, and C. Muzzarelli. P. 245.
59. Babak V., Kildeeva N., Merkovitch E., Rinaudo M. // Chitin Enzymology. 2001. Ed. R.A.A. Muzzarelli. P. 591.