

РАЗРАБОТКА ЗДОРОВЬЕСБЕРЕГАЮЩИХ БИОТЕХНОЛОГИЙ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫХ ПРОДУКТОВ: ПАРАДИГМЫ ПРИОРИТЕТНЫХ РЕШЕНИЙ

В.М. Позняковский* Вековцев А.А.** , И.С. Горбушина*

* Кемеровский государственный медицинский университет, г. Кемерово, Россия

** Компания «Арт Лайф», г. Томск, Россия

Аннотация

Разработана здоровьесберегающая биотехнология специализированного продукта с использованием технологии получения клеток моркови с геномом кишечной щелочной фосфатазы, основанной на выращивании трансформированных клеток (соматических эмбиондов) моркови в суспензионной культуре с дальнейшей лиофильной сушкой. Пробиотический продукт предназначен для коррекции и комплексного лечения нарушений кишечной микрофлоры и иммунной системы, профилактики развития аутоиммунных и воспалительных заболеваний. Механизм такого действия заключается в предотвращении активности ЛПС, NF – K β , рецепторов TLR γ и, как следствие, экспрессии противовоспалительных цитокинов. Представлены данные целевого сегмента и объем их производства. Рекомбинантная кишечная щелочная фосфатаза (кЩФ) человека получена *in vitro* из клеток моркови, в чем заключается новизна и оригинальность технологических решений. В этом случае растительная клетка выступает в качестве идеального средства доставки ШФ к клетками-мишеням кишечника. При этом она устойчива в кислой среде желудка и своевременно разрушается в кишечнике ферментами микрофлоры. Продукт апробирован на базе биотехнологического кластера компании «Арт Лайф» (г. Томск) по требованиям стандартов серии 22 000 и GMP, обеспечивающих уверенность в стабильности заданных характеристик качества и безопасности.

Ключевые слова. Пробиотический продукт, кишечная фосфатаза, технология, механизм действия, эффективность.

Гармония в питании современного человека и ее эффективность может быть достигнута путем соблюдения основополагающих принципов рационального, сбалансированного питания с учетом персонализации и особенностей индивидуального онтогенетического развития организма [5]. Особое значение в реализации рассматриваемой проблемы отводится развитию новых биотехнологических решений в производстве специализированных пищевых продуктов, в том числе биологически активных добавок, что определяется научно- технологическими приоритетом современной нутрициологии [1-3]. Это направление поддерживается пакетом государственных решений, направленных на сохранение здоровья и работоспособности населения [4].

Разработан продукт на основе пробиотика, предназначенный для коррекции и комплексного лечения нарушений кишечной микрофлоры и иммунной системы, а также профилактики развития аутоиммунных и воспалительных заболеваний. Механизм противовоспалительного действия заключается в предотвращении активности ЛПС, NF – K β , рецепторов TLR γ и, как следствие, экспрессии противовоспалительных цитокинов.

Использована технология получения клеток моркови с геномом кишечной щелочной фосфатазы (кЩФ), которая связана с выращиванием трансформированных клеток (соматических эмбиондов) моркови в суспензионной культуре с дальнейшей лиофильной сушкой. Полученный функциональный пищевой ингредиент использован в составе разрабатываемого специализированного продукта.

Фосфатазы – группа ферментов, играющих важную, а в отдельных случаях ключевую роль, в обменных реакциях организма. Так, например, фосфопротеинфосфатазы катализируют дефосфорилирование белков, осуществляя, наряду с протеинкиназами, регуляцию активности клеточных белков – возможность их обратного «включения» или «выключения».

В геноме закодировано около двухсот фосфопротеинфосфатаз.

Щелочная фосфатаза участвует в образовании костной ткани, содержится в остеобластах и клеточная - в остеокластах. Оба фермента выполняют функции маркеров клеток [6].

Кишечная щелочная фосфатаза секретируется эпителиальными клетками кишечника и активно функционирует внутри слизистой мембраны кишечного просвета, попадая в плазму крови в биологически активной форме.

Экспрессия кЩФ осуществляется в тонком кишечнике, в наибольшей степени – двенадцатиперстной кишке, фосфатная активность – в подвздошной. На экспрессию кишечной ЩФ оказывает влияние состояние микробиома, питание и наличие воспалительных процессов. Ее субстратами являются нуклеотидные три-(АТФ) и дифосфаты (АДФ), бактериальные эндотоксины (ЛПС), CpG динуклеотид и флагеллин.

Имеются медицинские доказательства положительной роли кЩФ в профилактике и лечении заболеваний:

- язвенный колит и воспаление кишечника – болезнь Крона (Xavier RI et al., 2007; Goldberg RF et al., 2008; Lukas Metal., 2010; Romasamy S et al., 2011; Molnar K et al., 2012);
- энтероколит, некробиотический (Whitehous Is et al., 2010; Rentea RM et al., 2012; Rigge KM et al., 2013);
- диарея, провоцируемая антибиотиками (Chen X et al., 2008; Alam SN et al., 2014);
- метаболические синдромы избыточной массы тела и ожирения, дислипидемии, стеатоза печени и гипертензии, резистентности к инсулину (Dimd S et al., 2010; Kaliannan K et al., 2013).

Механизм действия кЩФ в отношении некротизирующего энтероколита можно рассмотреть на примере кишечника недоношенных детей с увеличенной экспрессией TLR4. Перед возникновением энтероколита наблюдается повышение уровня патогенных бактерий на фоне изменений микробиома. Увеличивается количество ЛПС, что является причиной повреждения слизистой и снижения восстановительных процессов. кЩФ деактивирует ЛПС в просвете кишечника, предотвращая, таким образом, активацию каскада реакций TLR4. Одновременно кЩФ нивелирует негативные изменения микробиоты путем дефосфорилирования фосфорилированных нуклеотидов (АТФ), а ее низкие уровни повышают количества АТФ и снижают рост комменсальных бактерий.

Продукты на основе пробиотиков – целевой сегмент средств коррекции нарушений микрофлоры кишечника и иммунитета.

Мировой объем производства – 30 млрд \$ при росте 5% в год, в России 20 млрд руб.

Технология получения клеток моркови с геномом кЩФ связана с выращиванием трансформированных клеток (соматических эмбионидов) моркови в суспензионной культуре с дальнейшей лиофильной сушкой. Полученный функциональный пищевой ингредиент может использоваться самостоятельно или в составе специализированных продуктов: БАД нутрицевтиков, напитков и др.

Продукт на основе пробиотика предназначен для коррекции и комплексного лечения нарушений кишечной микрофлоры и иммунной системы, а также профилактики аутоиммунных и воспалительных заболеваний. Механизм противовоспалительного действия заключается в предотвращении активности ЛПС, NF – K β , рецепторов TLR γ и, как следствие, экспрессии противовоспалительных цитокинов.

Пробиотический продукт отличается высокой эффективностью в отношении восстановления микрофлоры и активности иммунной системы, профилактики и комплексного лечения воспалительных и аутоиммунных заболеваний. Другими преимуществами являются: безопасность –отсутствие эндотоксинов бактерий и угрозы окружающей среде трансгенными растениями; экономичность - снижение себестоимости

продукта на 2 порядка за счет использования растительных продуцентов по сравнению с клетками млекопитающих и отсутствия этапа очистки белка; применение эмбриоидов (зародышевых клеток) обеспечивает высокий выход белка.

Новизна и оригинальность технологических решений заключается в том, что впервые рекомбинантная ЦФ человека получена *in vitro*, из клеток моркови. В этом случае растительная клетка выступает в качестве идеального средства доставки ШФ к клетками-мишеням кишечника. При этом она устойчива в кислой среде желудка и своевременно разрушается в кишечнике ферментами микрофлоры.

Технология разработана и апробирована на базе биотехнологического кластера компании «Арт Лайф» (г. Томск) по требованиям Стандартов 22 000 GMP, обеспечивающих уверенность в стабильности заданных характеристик качества и безопасности.

Список литературы

1. Вековцев, А.А. Новые масштабные биотехнологические проекты в метаболической коррекции дисфункциональных состояний и синдромов дезадаптации / А.А. Вековцев, Д.Б. Никитюк, В.М. Позняковский // Коллективная монография «Актуальные проблемы хранения и переработки сельскохозяйственного сырья». – Санкт-Петербург, изд-во «Лань», 2020. – С. 18-26.
2. Никитюк, Д.Б. Современные представления о микробиоме и его роль в регуляции обменных процессов, сохранении здоровья и работоспособности / Д.Б. Никитюк, В.М. Позняковский, Е.М. Серба и др. // Вестник Южно-уральского государственного университета. Серия «Пищевые и биотехнология». – 2022. – Т. 10, № 2. – С. 59-72.
3. Нутрициология и клиническая диетология: национальное руководство / под ред. В.А. Тутельяна, Д.Б. Никитюка. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2020. – 656 с.
4. Программа фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период (2021-2030 гг.): Распоряжение Правительства Российской Федерации №3684-р от 31.12.2020 г.
5. Черешнев, В.А. Фактор питания и эволюционно-генетическое формирование кишечной микрофлоры: значение для сохранения иммунитета и здоровья / В.А. Черешнев, В.М. Позняковский // Индустрия питания – 2020. - №3 (Т. 5). – С. 5-16.
6. Шмид, Р. Наглядная биотехнология и генетическая инженерия / Р. Шмид; пер. с нем.. – 3-е изд. – М.: Лаборатория знаний, 2020. – 324 с.

DEVELOPMENT OF HEALTH-SAVING BIOTECHNOLOGIES OF SPECIALIZED PRODUCTS: PARADIGMS OF PRIORITY SOLUTIONS

V.M. Poznyakovsky*, Vekovtsev A.A.***, I.S. Gorbushina*

*Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russia

** Art Life Company, Tomsk, Russia

Abstract

A health-saving biotechnology of a specialized product has been developed using the technology of obtaining carrot cells with the intestinal alkaline phosphatase genome, based on the cultivation of transformed carrot cells (somatic embioids) in suspension culture with further freeze-drying. The probiotic product is intended for the correction and complex treatment of disorders of the intestinal microflora and the immune system, prevention of the development of autoimmune and inflammatory diseases. The mechanism of this action is to prevent the activity of LPS, NF – K β , TLR γ receptors and, as a consequence, the expression of anti-inflammatory cytokines. The data of the target segment and the volume of their production are presented. Recombinant human intestinal alkaline phosphatase (cSF) was obtained *in vitro* from carrot cells, which is the novelty and originality of technological solutions. In this case, the plant cell acts as an ideal means of delivering

SF to the target cells of the intestine. At the same time, it is stable in the acidic environment of the stomach and is promptly destroyed in the intestine by microflora enzymes. The product has been tested on the basis of the biotech cluster of the Art Life company (Tomsk) according to the requirements of the 22,000 series and GMP standards, providing confidence in the stability of the specified quality and safety characteristics.

Keywords. Probiotic product, intestinal phosphatase, technology, mechanism of action, effectiveness.

References

1. Vekovtsev, A.A. New large-scale biotechnological projects in the metabolic correction of dysfunctional states and maladaptation syndromes / A.A. Vekovtsev, D.B. Nikityuk, V.M. Poznyakovsky // Collective monograph "Actual problems of storage and processing of agricultural raw materials." - St. Petersburg, publishing house "Lan", 2020. - P. 18-26.
2. Nikityuk, D.B. Modern ideas about the microbiome and its role in the regulation of metabolic processes, maintaining health and performance / D.B. Nikityuk, V.M. Poznyakovsky, E.M. Serba and others // Bulletin of the South Ural State University. Series "Food and Biotechnology". - 2022. - T. 10, No. 2. - S. 59-72.
3. Nutrition and clinical dietology: national guidelines / ed. V.A. Tutelyan, D.B. Nikityuk. - M.: GEOTAR-Media, 2020. - 656 p.
4. The program of fundamental scientific research in the Russian Federation for the long term (2021-2030): Decree of the Government of the Russian Federation No. 3684-r of December 31, 2020
5. Chereshev, V.A. Nutrition factor and evolutionary-genetic formation of intestinal microflora: importance for maintaining immunity and health / V.A. Chereshev, V.M. Poznyakovsky // Food Industry - 2020. - No. 3 (V. 5). - P. 5-16.
6. Schmid, R. Visual biotechnology and genetic engineering / R. Schmid; per. with him .. - 3rd ed. - M.: Laboratory of Knowledge, 2020. - 324 p.