Эта часть работы выложена в ознакомительных целях. Если вы хотите получить работу полностью, то приобретите ее воспользовавшись формой заказа на странице с готовой работой:

<https://stuservis.ru/kurovaya-rabota/343664>

Тип работы: Курсовая работа

Предмет: Биотехнология

Введение 3

Характеристика целевого продукта 4

Химическое строение 5

Физико-химические свойства 6

Биологические свойства ГАМК 7

Получение ГАМК 12

Биотрансформация аминокислот 14

Основные продуценты целевого продукта 23

Практическое применение ГАМК 27

Технологическая часть 30

Основные этапы промышленного получения целевого продукта 30

Подготовка питательной среды 37

Подготовка воздуха 42

Подготовка посевного материала 43

Основные методы культивирования 44

Способ повышения эффективности ферментации 46

Методы выделения целевого продукта 53

Очистка целевого продукта 58

Получение готовых лекарственных форм 61

Технологическая схема производства 62

Основное аппаратное оформление производства 63

Материальный баланс 65

Отходы производства и способы переработки 72

Заключение 73

Список использованных источников 74

Введение

Аминомасляная кислота – это важнейший тормозной нейромедиатор центральной и периферической нервной системы. Выделение ГАМК в организме происходит из глутаминовой кислоты, после того как проходит стадии декарбоксилирования и переаминирования в глутамат и янтарный полуальдегид. ГАМК приводит к гиперполяризации постсинаптической мембраны, что способствует снижению нейрональной активности клетки.

ГАМК-ергическая система участвует в формировании эмоционального поведения, обработке информации и формировании осцилляторной активности. В развивающемся мозге она обеспечивает важные возбуждающие процессы, что необходимо для развития нервной системы [1].

Цель исследования заключается в разработке подходов по технологии получения γ -аминомасляной кислоты биотрасформацией L-глутаминовой кислоты.

Задачи исследования. Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. На основе литературных источников определить специфику и технологии получения ГАМК
2. Провести анализ производства ГАМК
3. Выявить факторы, влияющие на производство γ -аминомасляной кислоты
4. Разработать требования к обеспечению технологического производства на примере биотрасформацией L-глутаминовой кислоты.

Характеристика целевого продукта

ГАМК действует на две основные группы рецепторов – ионотропные и метаботропные ГАМКВ.

ГАМКА состоит из нескольких субъединиц, сгруппированных в несколько классов: α , β , γ , δ , ϵ , π и σ .

Комбинации этих субъединиц дает множество изоформ рецепторов с различной специфичностью и

скоростью активации [2].

ГАМК-ергическое торможение может принимать различные формы. В зависимости от того, какие клетки (возбуждающие или тормозные) тормозятся, результатом является повышение или понижение возбудимости группы нейронов [3].

Расположение ГАМК-ергических синапсов в постсинаптических клетках также имеет большое значение [4].

Юджин Робертс и Дж. Авапара впервые независимо друг от друга идентифицировали и описали ГАМК в мозге в 1950 году. В то время ее функция не была известна, но первоначально предполагалась [5, 6].

Впервые доказательством того, что γ -аминомасляная кислота также может является нейротрансмиттером было открыто в результате исследований рецепторов растяжения у раков, которые показали, что γ -аминомасляная кислота подавляет всплески спонтанного разряда [7, 8]. Совсем недавно ряд электрофизиологических и биохимических экспериментов показал, что γ -аминомасляная кислота действует как нейротрансмиттер [9-11].

ГАМК в изобилии присутствует в мозг млекопитающих, а разнообразные ГАМК-ергические интернейроны распределены в нескольких областях мозга [12, 13].

Химическое строение

Кислота глутаминовая

Рисунок 1 – кислота глутаминовая

Кислота гаммааминомасляная (аминалон)

Рисунок 2 - Кислота гаммааминомасляная

Гамма-аминомасляную кислоту получают щелочным гидролизом α -пирролидона и последующим осторожным подкислением образовавшейся соли до свободной γ -амино-масляной кислоты:

Физико-химические свойства

Кислота глутаминовая - Белый кристаллический порошок с едва ощутимым запахом. Тпл не ниже 190°C, $[\alpha]_D^{20}$ от +30,5 до +33,5°. Растворим в горячей воде, нерастворим в спирте и эфире

Кислота гаммааминомасляная (аминалон) - Белый кристаллический порошок со слабым специфическим запахом. Тразл = 200-205°C. Легко растворим в воде, очень мало - в спирте

Биологические свойства ГАМК

ГАМК представлены противоположными аспектами ее эффектов в нервной систем как человека, так и более примитивных существ. Вещество является одновременно основным источником энергии для всех типов нейронов и главным тормозным нейромедиатором центральной нервной системы человека.

Около 99% всей ГАМК организма образуется и используется при окислении глюкозы в углекислый газ и воду внутри митохондрий клеток. Поэтому из-за параллельного использования ГАМК в качестве источника энергии ее оказывается много во всех тканях нервных клеток [14]. Именно поэтому ученые долгое время не могли поверить в то, что это вещество также выполняет функцию и главного тормозного медиатора ЦНС.

Из всех нейронов ЦНС около 40% используют ее в качестве тормозного нейромедиатора: в результате взаимодействия ГАМК с белками-рецепторами в мембране постсинаптического (принимающего) нейрона открываются каналы, пропускающие внутрь клетки отрицательно заряженные ионы хлора, избыток которых находится в межклеточной жидкости. Проникновение хлора вызывает в нервной клетке состояние гиперполяризации, то есть торможения.

В качестве тормозного нейромедиатора ГАМК синтезируется исключительно внутри пресинаптических окончаний нервных клеток за счет декарбоксилирования глутаминовой кислоты ферментом - глутаматдекарбоксилазой.

Энергетические процессы в клетках не связаны с синтезом ГАМК в пресинаптических окончаниях нервов.

Функционирование систем внимания и двигательного контроля основано, в первую очередь, на деятельности ГАМК в качестве нейромедиатора. ГАМК участвует также в регуляторной деятельности сенсорных сигналов, двигательной активности и процессах формирования памяти.

Тонкий баланс между глутаматом - главным возбуждающим нейромедиатором и ГАМК - главным

тормозным нейромедиатором обеспечивает нормальное функционирование ЦНС.

ГАМК-нейроны по сравнению с глутамат-нейронами медленнее созревают и легче повреждаются при травмах, гормональных сдвигах, старении. Нарушение баланса между процессами возбуждения и торможения приводит к ухудшению работы психики. Как правило, баланс сдвигается в сторону уменьшения торможения, что проявляется в синдроме дефицита внимания и гиперактивности, нарушениях сна и повышенной тревожности вплоть до эпилепсии [15].

Если принимать ГАМК в виде таблеток, то около 10 % этого вещества проходит в мозг через гематоэнцефалический барьер и выполняет в основном питательную функцию нейронов, улучшая их общее состояние. Торможения, как правило, не наблюдается при систематическом введении ГАМК, а происходит адекватное и правильное питание всего мозга и всех нервных клеток организма. Нейроны воспринимают ГАМК в качестве «хорошей еды» [15].

В этом проявляется ноотропное действие ГАМК. Отметим, что ноотропы улучшают общее состояние нервной системы и высшие психические функции мозга: память, мышление, качество обучения. На здоровый мозг такие вещества заметно не действуют.

Истинный ноотроп начинает «работать» только при хроническом применении его от 2-х и более недель. Таким образом, в фармпрепарате «Аминалон» ГАМК проявляет свойство истинного ноотропного соединения. Среди них ГАМК-ергическая сигнализация важна для обработки информации в первичной зрительной и соматосенсорной коре [16–18].

γ -аминомасляная кислота является основным нейротрансмиттером проекционных нейронов в базальных ганглиях, составляет более 90% от общего количества нейронов в популяции [19]. Таким образом, ГАМК-ергические базальные ганглии могут контролировать двигательные зоны ствола головного мозга, таламуса и коры [20–22].

ГАМК синтезируется через метаболические пути, направленные на производство и поддержание ее внутриклеточного запаса. Основным предшественником для синтеза ГАМК является глюкоза, хотя пируват и другие аминокислоты (далее - АК) могут служить предшественниками.

На первом этапе образуется глутамат. Затем декарбоксилаза глутаминовой кислоты (далее - GAD) катализирует декарбоксилирование глутамата с образованием ГАМК [23].

Были выделены и секвенированы участки ДНК, кодирующие две изоформы GAD человека – GAD65 и GAD67; ген GAD65 кодирует полипептид с молекулярной массой 65 кДа и длиной 585 аминокислотных остатков, а GAD67 – кодирует полипептид 67 кДа, состоящий из 594 аминокислотных остатков. Эти две изоформы GAD отличаются по своему распределению в нейронах, так как GAD67 присутствует во всех частях нейрона, в то время как GAD65 более многочисленна в терминалях аксона.

В головном мозге почти весь GAD67 присутствует в виде холофермента- активной формы, насыщенной кофактором пиридоксальфосфатом.

В отличие от GAD67, только около половины GAD65 присутствует в активной форме. Обе формы синтезируются в цитоплазме в виде растворимых гидрофильных молекул.

Затем GAD65 подвергается поэтапным посттрансляционным модификациям в NH₂-концевом домене, становится гидрофобным, и обратимо прикрепляется к мембране синаптических везикул в нейронах. Скопления GAD65 также обнаруживаются в области комплекса Гольджи нейронов. GAD67 в нейронах обнаруживается в большей части цитоплазмы и проксимальных дендритах, но также в терминалях и области комплекса Гольджи [24].

Как и другие классические непептидные нейротрансмиттеры, ГАМК упаковывается в синаптические везикулы для экзоцитоза. Транспорт ГАМК из цитоплазмы в синаптические везикулы осуществляется двумя белками везикулярной мембраны: вакуолярной H⁺АТФазой, которая создает электрохимический градиент протонов [25–27] и вакуолярным транспортером ГАМК (далее - vGAT), он же вакуолярный ингибитор транспортер аминокислот (далее - VIAAT). Вакуолярный просвет в обмен на протоны, делая цитоплазматический неротрансмиттер доступным для поглощения против градиента концентрации ГАМК [28].

VIAAT принадлежит к семейству транспортеров SLC32, состоит из девяти трансмембранных доменов и не связан с везикулярными транспортерами SLC17 (глутамат) или SLC18 (ацетилхолин и моноамины) [29]. Как и в случаях большинства нейротрансмиттеров, экзоцитоз ГАМК из синаптических везикул инициируется деполяризацией пресинаптической мембраны через открытие потенциал-зависимых кальциевых каналов, локализованных в области плазматической мембраны, прилегающей к синаптическому пузырьку (везикулам), что локально повышает концентрацию цитозольного кальция и цитоскелетную структуру, стимулирует высвобождение везикул из цитоскелета, увеличивая количество везикул, доступных для

слияния с плазматической мембраной [30].

После проникновения в синаптическую щель ГАМК связывается с целевыми рецепторами в постсинаптических клетках. Действие ГАМК в синапсе возвращается в нервные окончания и глиальные клетки через ГАМК-транспортёры, которые являются мембраносвязанными белками, участвующие в транспорте сигнальных молекул (например ионы и различные аминокислоты. Транспортёр ГАМК (далее - GAT) млекопитающих подразделяется на четыре подтипа. Подтипы GAT1 и GAT3 составляют основную долю в центральной нервной системе.

В частности, GAT1 в основном экспрессируется в нейронах мозга [31], особенно в пресинаптических терминалях аксона, и в следовых количествах в ганглиях [32], в то время как GAT3 в основном локализуется в перисинаптических астроцитах [33].

GAT2 / BGT1 не обнаруживается в мозге, но в печени, почках, твердой мозговой оболочке и ГЭБ он экспрессируется [34].

GAT1 и GAT3 играют разные роли в синаптической функции: первый ингибирует выход ГАМК из синаптической щели во время фазной синаптической передачи, а второй регулирует концентрацию ГАМК в окружающей среде, которая опосредует тоническое торможение [35].

Деградация ГАМК в глии происходит под действием ГАМК-трансаминаз, которые подвергаются трансаминизации в присутствии α -кетоглутарата, приобретают аминогруппы и превращаются в глутамин, который транспортируется к нейронам, образуя янтарный полуальдегид. Янтарная полуальдегиддегидрогеназа окисляет янтарный полуальдегид с образованием сукцината, который, в свою очередь, завершает цикл Кребса [22, 36].

Получение ГАМК

Известны следующие химические методы синтеза ГАМК

- Garmaise et al, Canad. J.Chemistry, 1956, 34, 742-748;

- Авторское свидетельство СССР №452196.

Недостатками этого способа являются высокая стоимость пирролидона, жесткие условия синтеза и сложность гидролиза остаточного пирролидона в организме.

Продукты, обогащенные ГАМК, могут также использоваться в медицинских целях. Известны различные продукты растительного происхождения, обогащенные ГАМК. Например, листья чая (заявка Японии 9-205989), штаммы *Bact. cadaveris* ATCC 9760 и *E. coli* ATCC 9637 культивировали в течение 30 часов, и в культуральной среде накапливалось до 4 г/л ГАМК. Продукты отделяли от выделенной культурной среды ионообменной хроматографией с использованием Diaion SKI (тип H+) при pH 2.0. Выход кристаллического продукта из культуральной среды составлял 35%.

Недостатками этого метода являются низкий выход ГАМК и длительное время процесса.

Листья кофе (заявка Японии 8-173111), крестоцветные растения и их сок (европейская заявка EP 1082911 A2), нитевидные грибы (JP 2000060536 A2), порошок или сок крестоцветных растений (JP 2001136929 A2) и т.д.

Описаны микробиологические методы получения ГАМК с использованием бактерий *E.coli* ВКПМ В-7460 и ВКПМ В7452, содержащих плазмиды с генами глутаматдекарбоксилазы (патент РФ №2143002), *Bad. cadaveris* ATCC 9760 (JP69-01197), *E. coli* ATCC 9637 (JP70-15437) и *Arthrobacter simplex* ATCC 15799 (JP69-01196).

Известно, как микробные клетки, включая *E. coli*, ферментативно декарбоксилируют L-глутаминовую кислоту для получения ГАМК, которые содержат L-глутаматдекарбоксилазу (GAD, EC 4.1.1.15) (Патент Японии N 69 01196; Губарев Е.М. и др. Биохимия. 1960. Т. 25, N 2, с. 261-263), а также иммобилизованная GAD (А.с. СССР N 799318).

Недостатками этого метода являются низкая глутаматдекарбоксилазная активность клеток и дополнительная процедура выделения и очистки GAD для иммобилизации.

Существует метод получения ГАМК путем декарбоксилирования L-глутаминовой кислоты клетками бактерии *Arthrobacter simplex* ATCC 15799 (Патент Японии 69 01196). Согласно этому методу, бактерии культивируют в течение четырех дней при температуре 30°C, pH 7,0 в среде, содержащей 1% L-глутаминовой кислоты, 1% глюкозы, 0,05% фосфата калия двузамещенного, 0,025% сульфата магния семиводного, 0,2% сульфата аммония, 0,3% дрожжевого экстракта и 0,3 % мела. Концентрация биомассы в культуральной среде в конце процесса составляет 6 мг/мл. Для получения ГАМК 3 г высушенной биомассы, обработанной ацетоном, добавляют к водному раствору L-глутаминовой кислоты (10 г/300 мл) при pH 5,0 и температуре 37°C. Процесс прокаливании проводят в течение двух часов до полного превращения L-

глутаминовой кислоты в ГАМК при этом исходное значение pH поддерживается автоматическим добавлением 3н.HCL. В конце процесса реакционную смесь освобождают от биомассы и выделяют ГАМК путем добавления этанола. В результате получается 7 г ГАМК, т.е. из 1 г высушенного ацетонированного порошка синтезируется 2,3 г ГАМК.

Недостатками этого метода являются низкое накопление биомассы, длительный период роста и высокий расход биомассы для производства ГАМК (0,43 г сухой биомассы на 1 г продукта) из-за низкой глутаматдекарбоксилазной активности используемых штаммов.

Способ биотрансформации L-глутаминовой кислоты или ее солей в присутствии бактериальной биомассы с активностью декарбоксилазы глутаминовой кислоты для получения γ -аминомасляной кислоты, а затем выделением и очисткой целевого продукта, отличающийся тем, что используют штаммы бактерий *Escherichia coli* ВКПМ В-7460 или *Escherichia coli* ВКПМ В-7452.

Биотрансформация аминокислот

В 1908 году японские ученые обнаружили, что L-глутаминовая кислота в морских водорослях усиливает вкус. Промышленное производство L-глутаминовой кислоты из кислых гидролизатов пшеничного глютена и соевого белка началось в Аджиномото в 1909 году.

В 1957 году компания *Seiwa Nakko* обнаружила, что *Corynebacterium glutamicum* накапливает L-глутаминовую кислоту в среде, содержащей сахар.

В клетках *C. glutamicum* L-глутаминовая кислота образуется путем трансминирования 2-оксоглутаровой кислоты, образующейся при окислении изимоновой кислоты в цикле Кребса. У штаммов дикого типа окисление продукта цикла Кребса - дикарбоновой кислоты - жестко регулируется (Рисунок 3). Исследования генома *C. glutamicum* Исследования генома *C. glutamicum* и способов регуляции активности ферментов привели к открытию следующих новых штаммов:

1) Повышенное выделение глутаминовой кислоты в среду роста;

Количество глутамата в культуральной среде сильно зависит от скорости секреции и, следовательно, от проницаемости цитоплазматической мембраны. Проницаемость мембраны может варьироваться. Например, биотин, жирные кислоты или глицерин (в случае автотрофии с жирными кислотами или глицерином, соответственно) ограничивают для увеличения проницаемости. Добавление пенициллина в среду также увеличивает проницаемость клеточной стенки, поскольку пенициллин ингибирует образование клеточной стенки.

2) Изменяется регуляция активности некоторых ферментов, участвующих в биосинтезе L-глутаминовой кислоты;

Активность оксоглутаратдегидрогеназы значительно ниже у коммерческих штаммов *C. glutamicum*. L-глутаматдегидрогеназы (KM различаются примерно в 70 раз, V_{max} - примерно в 150 раз).

3) Активируются различные метаболические пути побочных продуктов.

Среди наиболее важных анаплеротических реакций - карбоксилирование фосфоенолпирувата и активация глиоксилатного цикла (у растений и бактерий). Обе реакции приводят к образованию оксалукусусной кислоты, предшественника лимонной кислоты, и эти реакции также могут привести к включению продуктов гликолиза дикарбоновых кислот (C2) в цикл лимонной кислоты. Фосфоенолпируваткарбоксилаза использует биотин в качестве кофермента, и активность фермента можно регулировать путем изменения количества биотина. Активность многих ферментов, вовлеченных в глиоксилатный цикл, может быть искусственно изменена, поскольку она зависит не только от метаболитов и конечных продуктов, но и от концентрации NH_4^+ и $NAD^+/NADH$. У штаммов, продуцирующих глутаминовую кислоту, выход продукта может быть увеличен путем генетических манипуляций.

В настоящее время геном *C. glutamicum* полностью расшифрован. Геном *C. glutamicum* полностью расшифрован и активно изучается. В частности, изучается зависимость выхода продукта от вставки в геном мультиметрической кассеты, несущей ген глутаматдегидрогеназы.

Сырьем для производства глутамата являются меласса и гидролизаты крахмала. В оптимальных условиях культуры продуктивные штаммы *C. glutamicum* перерабатывают до 60-70% исходного материала.

Источниками азота являются соли аммония и аммиак. При выборе условий роста следует оптимизировать концентрацию биотина в среде и поддерживать pH среды в диапазоне 7,0-8,0.

Аэрация клеточной культуры очень важна для синтеза глутамата. Оптимальное значение k_d составляет $3,5 \cdot 10^{-6}$ моль кислорода/(атм мин мл).

Ферментацию в промышленных масштабах проводят в реакторах с рабочим объемом до 500 м³. Как правило, сначала проводят предферментацию, а затем ферментацию воздушно-проточным способом. Чтобы

избежать ингибирования катаболитами, после образования достаточного количества клеток (14 ч роста в среде поддерживают постоянный уровень глюкозы, не превышающий 0,5%. После удаления клеток ультрафильтрацией глутамат выделяют из культуральной жидкости методами ионообменной или абсорбционной хроматографии (150 г/л через 60 ч роста) (рис.4).

Рисунок 3 – Биосинтез и штаммы-суперподуценты глутамата

Рисунок 4 – Ферментация и первичная переработка. Усиление секреции

Глутаминовая кислота не является незаменимой, но широко используется в различных областях промышленности. Наиболее часто глутаминовая кислота в виде моносодия глутамата используется в качестве ароматизатора и консерванта в пищевой промышленности.

Приоритет в производстве этой аминокислоты, несомненно, принадлежит Японии. Крупнейшим производителем глутамата натрия является компания Адзидомото. В биосинтезе глутаминовой кислоты используются *Corynebacterium glutamicum* ВНИИГенетика-490, *Corynebacterium glutamicum* 541Р и *Brevibacterium species* 22. Глутаминовая кислота может производиться микроорганизмами в двух формах: - производство глутамата путем восстановительного аминирования α -кетоглутаровой кислоты:

- переаминированием α -кетоглутаровой кислоты с участием свободных аминокислот микробной клетки в присутствии фермента аминотрансферазы:

В обоих случаях предшественником глутаминовой кислоты является α -кетоглутаровая кислота, которая образуется в результате реакций, происходящих в цикле трикарбоновых кислот. Для интенсивного синтеза глутамата требуются мутантные штаммы микроорганизмов, дефектные в ферментной системе, преобразующей α -кетоглутарат в сукцинат (дефект в образовании α -кетоглутаратдегидрогеназы). В отличие от биосинтеза лизина, концентрация биотина в среде при биосинтезе глутамата не должна превышать 2-5 мкг/л. В противном случае происходит интенсивное накопление других аминокислот (аланина, аспарагина, лизина и сукцината). При более высоких концентрациях биотина синтез биомассы увеличивается, а накопление глутаминовой кислоты уменьшается. Максимальное образование биомассы не совпадает с максимальным биосинтезом глутамата, поскольку требования к биотину у этих процессов разные.

1. Белова Е. И. Основы нейрофармакологии. – М.: Аспект Пресс, 2006
2. Сергеев П. В., Шимановский Н. Л., Петров В. И. Рецепторы физиологически активных веществ. 2-е изд. перераб. и доп. – Волгоград: Семь ветров, 1999. – 640 с
3. Семьянов А. В. ГАМК-ергическое торможение в ЦНС: типы ГАМК-рецепторов и механизмы тонического тормозного действия // Нейрофизиология. – 2002.
4. Семьянов А. В., Казанцев В. Б. Нейроглияльные взаимодействия в мозге: учеб.-метод. пособие. – Н. Новгород: Изд-во ННГУ, 2007. – 107с
5. Awapara J., Landua A.J., Fuerst R., Seale B. Free gamma-aminobutyric acid in brain // J. Biol. Chem. 1950. Vol.187, №1. P.35–39.
6. Roberts. E., Frankel S., Harman P.J. Amino acids of nervous tissue // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1950. Vol.74, №2. P.383–387.
7. Bazemore A., Elliott K.A., Florey E. Factor I and gamma-aminobutyric acid // Nature. 1956. Vol.178, №4541. P.1052–1053. doi: 10.1038/1781052a0
8. Bazemore A.W., Elliot K.A., Florey E. Isolation of factor I // J. Neurochem. 1957. Vol.1, №4. P.334–339.
9. Kravitz E.A., Kuffler, S.W., Potter D.D. Gamma-aminobutyric acid and other blocking compounds in Crustacea. III. Their Relative Concentrations in Separated Motor and Inhibitory Axons // J. Neurophysiol. 1963. Vol.26. P.739–751. doi: 10.1152/jn.1963.26.5.739
10. Otsuka M., Iversen, L.L., Hall Z.W., Kravitz E.A. Release of gamma-aminobutyric acid from inhibitory nerves of lobster // Proc. Natl. Acad. Sci. 1966. Vol.56, №4. P.1110–1115. doi: 10.1073/pnas.56.4.1110
11. Krnjevic K., Schwartz S. The action of gamma-aminobutyric acid on cortical neurones // Exp. Brain Res. 1967. Vol.3, №4. P.320–336. doi: 10.1523/JNEUROSCI.07-05-01503.1987
12. Hendry S.H., Schwark H.D., Jones E.G., Yan J. Numbers and proportions of GABA-immunoreactive neurons in different areas of monkey cerebral cortex // J. Neurosci. 1987. Vol.7, №5. P.1503–1519. doi: 10.1523/JNEUROSCI.07-

05-01503.1987

13. Beaulieu C. Numerical data on neocortical neurons in adult rat, with special reference to the GABA population // *Brain Res.* 1993. Vol.609, №1-2. P.284–292. doi: 10.1016/0006-8993(93)90884-p
14. Сытинский И. А. Гамма-аминомасляная кислота в деятельности нервной системы // *Биохимия, фармакология, физиология, клиника.* Л. – 1972.
15. Дубынин В.Д. “Химия” мозга (лекция) // Межфакультетский учебный курс. – 2016. – Л. 6
16. Dykes R.W., Landry P., Metharate R., Hicks T.P. Functional role of GABA in cat primary somatosensory cortex: shaping receptive fields of cortical neurons // *J. Neurophysiol.* 1984. Vol.52, №6. P.1066–1093. doi: 10.1152/jn.1984.52.6.1066
17. Bolz J., Gilbert C.D. Generation of end-inhibition in the visual cortex via interlaminar connections // *Nature* 1986. Vol.320, №6060. P.362–365. doi:10.1038/320362a0
18. Connors B.W., Malenka R.C., Silva L.R. Two inhibitory postsynaptic potentials, and GABAA and GABAB receptor-mediated responses in neocortex of rat and cat // *J. Physiol.* 1988. Vol.406. P.443–468. doi: 10.1113/jphysiol.1988.sp017390
19. Tepper J. M., Abercrombie E.D., Bolam J.P. Basal ganglia macrocircuits // *Prog. Brain Res.* 2007. Vol.160. P.3–7. doi: 10.1016/S0079-6123(06)60001-0
20. Hoover J.E., Strick P.L. Multiple output channels in the basal ganglia // *Science.* 1993. Vol.259, №5096. P.819–821. doi: 10.1126/science.7679223
21. Sommer M. A. The role of the thalamus in motor control // *Curr. Opin. Neurobiol.* 2003. Vol.13, №6. P.663–670. doi: 10.1016/j.conb.2003.10.014
22. Hikosaka O. GABAergic output of the basal ganglia // *Prog. Brain Res.* 2007. Vol.160. P.209–226. doi: 10.1016/S0079-6123(06)60012-5
23. Siegel G.J., Agranoff B.W., Albers R.W. *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects.* 6th edition. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1999. 1200 p.
24. Kanaani J., Lissin D., Kash S. F., Baekkeskov S. The Hydrophilic Isoform of Glutamate Decarboxylase, GAD67, Is Targeted to Membranes and Nerve Terminals Independent of Dimerization With the Hydrophobic Membrane-Anchored Isoform, GAD65 // *J. Biol. Chem.* 1999. Vol.274, №52. P.37200–37209. doi: 10.1074/jbc.274.52.37200
25. Fykse E.M., Fonnum F. Uptake of gamma-aminobutyric acid by a synaptic vesicle fraction isolated from rat brain // *J. Neurochem.* 1988, Vol.50, №4. P.1237–1242. doi: 10.1111/j.1471-4159.1988.tb10599.x
26. Kish P.E., Fischer-Bovenkerk C., Ueda T. Active transport of gamma-aminobutyric acid and glycine into synaptic vesicles // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1989. Vol.86, №10. P.3877–3881. doi: 10.1073/pnas.86.10.3877
27. Hell J.W., Maycox P.R., Jahn R. Energy dependence and functional reconstitution of the gamma-aminobutyric acid carrier from synaptic vesicles // *J. Biol. Chem.* 1990. Vol.265, №4. P.2111–2117.
28. Gasnier B. The loading of neurotransmitters into synaptic vesicles // *Biochimie.* 2000. Vol.82, №4. P.327–337. doi: 10.1016/S0300-9084(00)00221-2
29. Aubrey K.R. Presynaptic control of inhibitory neurotransmitter content in VIAAT containing synaptic vesicles // *Neurochem. Int.* 2016. Vol.98. P.94–102. doi: 10.1016/j.neuint.2016.06.002
30. Lodish H., Berk A., Zipursky S.L. *Molecular Cell Biology.* 4th edition. New York: W.H. Freeman; 2000. 1184 p.
31. Jin Xiao-Tao, Galvan A., Wichmann T., Smith Y. Localization and Function of GABA Transporters GAT-1 and GAT-3 in the Basal Ganglia // *Syst. Neurosci.* 2011. Vol.5. P.63. doi: 10.3389/fnsys.2011.00063
32. Besedovsky H.O., Rey A.D. Physiology of Psychoneuroimmunology: A Personal View // *Brain. Behav. Immun.* 2007. Vol.21, №1. P.34–44. doi: 10.1016/j.bbi.2006.09.008
33. Melone M., Ciappelloni S., Conti F. Plasma membrane transporters GAT-1 and GAT-3 contribute to heterogeneity of GABAergic synapses in neocortex // *Front. Neuroanat.* 2014. Vol.8. P.72. doi: 10.3389/fnana.2014.00072].
34. Zhou Y., Danbolt N. GABA and Glutamate Transporters in Brain // *Front. Endocrinol.* 2013. Vol.4. P.165. doi: 10.3389/fendo.2013.00165
35. Beenhakker M.P., Huguenard J.R. Astrocytes as Gatekeepers of GABAB Receptor Function // *J. Neurosci.* 2010. Vol.30, №45. P.15262–15276. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3243-10.2010
36. Schousboe A., Waagepetersen H.S. GABA: homeostatic and pharmacological aspects // *Prog. Brain Res.* 2007. Vol.160. P.9–19. doi: 10.1016/S0079-6123(06)60002-2
37. Ручай, Н. С. Промышленная биотехнология : электронный курс лекций для студентов специальности 1-48 02 01 «Биотехнология» / Н. С. Ручай, О. В. Остроух. – Минск : БГТУ, 2013. – 109 с
38. Щербакова Т.Н., Озерова П.А. Изучение противоотечного действия действия фенибута и новых производных ГАМК. *Фармация и фармакология.* 2015;3(10):72-74

39. Mody et al., 1994. Bringing the effect at GABA synapses in the brain. *Neuroscience* 17:517-525
40. Jakobs et al., 1993. Inherited disorders of GABA metabolism. *J. Inherit. Metab. Dis.*, 16, 704-715; Wong et al., 2003, GABA, gamma-hydroxybutyric acid, and neurological disease. *Ann. Neurol*, 54, suppl 6, S3-S12
41. Hagiwara et al., 2004. The effect of pre-germinated brown rice intake on blood glucose and PAI-1 levels in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biosci Biotechnol Biochem* 68:444-447; Adeghate, Ponery, 2002,
42. Tujioka et al., 2009. Dietary gamma-aminobutyric acid affects the brain protein synthesis rate in ovariectomized female rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 55:75-80; Cavagnini et al., 1980. Effect of acute and repeated administration of gamma aminobutyric acid (GABA) on growth hormone and prolactin secretion in man. *Acta Endocrinol (Copenh)*. Feb; 93(2): 149-54). GABA in the endocrine pancreas: cellular localization and function in normal and diabetic rats. *Tissue Cell*, 34, 1-6
43. Schuller et al., 2008. Gamma-aminobutyric acid, a potential tumor suppressor for small airway-derived lung adenocarcinoma. *Carcinogenesis* 29: 1979-1985
44. Distler et al., 2012. Glyoxalase 1 increases anxiety by reducing GABA a receptor agonist methylglyoxal. *J Clin Invest* 122:2306-2315; Padgett et al., 2012. Methamphetamine-evoked depression of GABA receptor signaling in GABA neurons of the VTA. *Neuron* 73:978-989
45. Gotesmann, 2002. GABA mechanisms and sleep. *Neuroscience* 111:231-239
46. Czapinski et al., 2005. Mechanisms of action of antiepileptic drugs. *Curr Top Med Chem* 5:3-14
47. Barrett et al., 2012. γ -Aminobutyric acid production by culturable bacteria from the human intestine». *J Appl Microbiol*. 113(2):411-417; патент WO 2013107913 A1, Stanton et al., 2013, Gaba-producing culturable bacteria derived from the human gastrointestinal tract
48. Park et al., 2005. Expression of rice glutamate decarboxylase in *Bifidobacterium longum* enhances gamma-aminobutyric acid production. *Biotechnol Lett*. 2005; 27(21): 1681-4
49. Desbonnet et al., 2008. The probiotic *B.infantis*: An assessment of potential antidepressant properties in the rat. *J Psychiatr Res*. 2008; 43(2): 164-174; Desbonnet et al, 2010, Effects of the probiotic *B.infantis* in the maternal separation model of depression; Sudo et al., 2004. Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic-pituitary-adrenal system for stress response in mice. *J Physiol.*; 558(Pt 1):263-275
50. Dinanet al., 2013. Psychobiotics: a novel class of psychotropic. *Biol Psychiatry*. 2013; 74(10):720-726.)
51. Суханова СМ, Захарова НЕ. Питательные среды в практике микробиологических исследований. В кн.: Лабинская АС, Волина ЕГ, ред. Руководство по медицинской микробиологии. Кн. 1. Общая и санитарная микробиология. М.: Бином; 2008. С. 221-54.
52. Sandle T. Selection of microbiological culture media and testing regimes. In: Saghee MR, Sandle T, Tidswell EC, eds. *Microbiology and Sterility Assurance in Pharmaceuticals and Medical Devices*. New Delhi: Business Horizons; 2010. P. 101-20.
53. Поляк МС, Сухаревич ВИ, Сухаревич МЭ. Питательные среды для медицинской микробиологии. СПб: НИЦФ; 2003. [Polyak MS, Sukharevich VI, Sukharevich ME. *Nutrient Media for Medical Microbiology*. St. Petersburg: RCPH; 2003 (In Russ.)]
54. Якимов ЮМ, Миронов АН, Борисевич ИВ, Меркулов ВА, Фокина АЛ, Волгин АР. К вопросу подтверждения соответствия иммунобиологических лекарственных препаратов требованиям нормативной документации. *Ведомости научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2012;(3):19-22.
55. Шепелин АП, Дятлов ИА. Питательные среды для энтеробактерий. М.: Династия; 2017.
56. Нечаев ВН, Манзенюк ИН, Шипулин ГА, Колин ВВ, Шепелин АП, Масыго АВ и др. Российские производители медицинских изделий для диагностики *in vitro* о проблемах в отрасли. *Современная лабораторная диагностика*. 2015;17(3):25-9
57. Получение лизина на основе продуктов глубокой переработки зерна: лабораторный регламент ЛР-00479942-1-2011 / ФГИУ ГосНИИгенетика. – М.,2011. – 35 с.
58. Wittmann C., Becker O. The L-Lysine Story: From Metabolic Pathways to Industrial Production // *Microbiol Monography*. - 2006. - №2. - P. 1-2.
59. Пономаренко Ю.А. Питательные и антипитательные вещества в кормах: монография. - Минск: Экоперспектива, 2007. - 960 с.
60. Singh M. Medicinal Uses of L-Lysine: Past and Future // *Int. J. Res. Pharm. Sci*. - 2011. - №2(4). - P. 637-642. 4. Н

Эта часть работы выложена в ознакомительных целях. Если вы хотите получить работу полностью, то приобретите ее воспользовавшись формой заказа на странице с готовой работой:

<https://stuservis.ru/kurovaya-rabota/343664>