

МОДИФИКАЦИЯ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ КОНЬЮГАТОВ ДЛЯ ИФА

Ассистент Набиева Ф.С.

Доцент Душанова Г.А.

Ассистент Олимжоновна С.Г.

Клиник ординатор Суюнова М.Ш.

Магистр Эгамбердиева С.М.

Самаркандский Государственный медицинский университет

Самаркандский Государственный университет имени Шарофа Рашидова

<https://doi.org/10.5281/zenodo.7510457>

Аннотация: Диагностика ИФА является актуальным в плане точной, экономически эффективной и доступной для медицинских и биологических исследований. Технология получения конъюгатов можно модифицировать, применив ферменты различных дрожжей, в том числе штаммы *Saccharomyces cerevisiae* является уникальным объектом для синтеза белковых молекул. В статье проанализированы различные штаммы *Saccharomyces cerevisiae* и доступные ферменты для выделения и конъюгирования.

Ключевые слова: ИФА, антитела, конъюгаты, *Saccharomyces*, дрожжи

MODIFICATION OF TECHNOLOGY FOR OBTAINING CONJUGATES FOR IFA

Abstract: The diagnosis of ELISA is relevant in terms of accurate, cost-effective and accessible for medical and biological research. The technology for producing conjugates can be modified by applying enzymes of various yeasts, including strains of *Saccharomyces cerevisiae* is a unique object for the synthesis of protein molecules. The article analyzes various strains of *Saccharomyces cerevisiae* and available enzymes for isolation and conjugation.

Keywords: IFA, antibodies, conjugates, *Saccharomyces*, yeast

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время существует большая проблема быстрой и точной диагностики инфекционных заболеваний, что представляет собой угрозу для жизни и здоровья всего общества. Быстрое и, к тому же, не контролируемое распространение инфекционных заболеваний может привести к развитию эпидемии и, что хуже, пандемии. Важнейшей составляющей борьбы с инфекционными заболеваниями является их своевременная диагностика [6,7, 10,11].

Одно из приоритетных направлений в современной биохимии, биотехнологии и аналитической химии - поиск новых детектирующих систем с использованием ферментов для улучшения характеристик аналитических методов. В настоящее время широко применяются методы иммуноферментного анализа (ИФА), в которых в качестве маркера наиболее часто используется катионный изофермент пероксидазы хрена- ПХ. К сожалению, ПХ не всегда оптимальна для аналитического применения, в частности, при создании высокочувствительных систем со стабильным сигналом. Сегодня наиболее распространен твердофазный ИФА, ELISA, т.е. enzyme-linked immunosorbent assay, предложенный впервые в 1971 г. В ИФА вместо радиоактивной используют ферментную метку. Ферменты, применяемые в ИФА, характеризуются длительным периодом полуинактивации при 4 °С они сохраняются более полугода, они не создают радиационной опасности, дают возможность получать количественные и визуальные качественные тесты для массового анализа образцов [12,19,26].

Весь процесс проведения ИФА можно подразделить на три основных стадии: иммунохимический процесс - формирование комплекса антиген-антитело (АГ -АТ), присоединение к нему метки и ее визуализацию [14,15,18]. Чувствительность ИФА такова, что определение веществ в концентрациях 10^{-9} - 10^{-12} М, белка в микрограммах-нанogramмах в 1 мл – это обыденное дело. Подобно тому как глаз человека регистрирует одиночный световой квант, ИФА можно усовершенствовать так, что он с помощью каскадных систем усиления позволит обнаруживать одиночные молекулы анализируемого вещества. Возможности увеличения чувствительности ограничиваются фоном анализируемого соединения, то есть его наличием не только в анализируемом образце, но и в используемых реактивах и растворителях, субстратной специфичностью фермента и аффинностью антител. К ограничениям ИФА относится также наличие в тестируемых образцах кофакторов, ингибиторов и стимуляторов активности ферментов. Еще один недостаток – ИФА не позволяет различать нативные белки и их биологически неактивные фрагменты, сохранившие антигенные детерминанты. Помехой для ИФА может быть изменение каталитической активности фермента при его конъюгировании с антигеном. Ограничением ИФА является его применимость лишь к хорошо изученным системам, где есть очищенные антигены и высокоспецифические антитела. Высокая чувствительность в сочетании с быстротой анализа [1,10,13,16,17].

Особое значение имеет конъюгаты в составе тест-систем ИФА. На сегодняшний день для получения конъюгатов используются фермент пероксидаза выделенных из растений хрена. Актуальным является использование биотехнологических методов для массового выращивания микроорганизмов для культивирования ферментов. Данные способствуют систематизированию биотехнологических процессов производства и метод

В последние годы описан ряд новых пероксидаз растений, некоторые из которых, например, пероксидазы сои, табака, картофеля, батата, масличной пальмы относятся к группе анионных пероксидаз [2,4,20,21].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Конъюгат - искусственная молекула, которая состоит не менее чем из двух химически объединенных компонентов, часто различного происхождения; для проведения ИФА используют обычно конъюгаты, которые содержат ферментную или иную метку, пришитую к антигену антигенам, антителам или белку *A Staphylococcus aureus*.

Особый интерес в последние годы является поиск новых источников ферментов, применение биотехнологических методов получения белковых продуктов для получения конъюгатов. С этой точки зрения актуальным является проведение метанализа данных некоторых ферментов для подбора фермента и изучения биологических свойств [3,22, 25].

Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* являются эукариотическими микроорганизмами, генетически более сложными, нежели бактерии. Клетка дрожжей, по сравнению с клеткой кишечной палочки *Escherichia coli*, содержит в 3,5 раза больше ДНК. Вместе с тем, в качестве экспериментального объекта дрожжи обладают многими из технических преимуществ, обеспечивших быстрый прогресс молекулярной генетики прокариот и их вирусов. В этой связи следует упомянуть их способность быстро размножаться, возможность манипулирования отдельными клетками дрожжей, легкость одновременного переноса множественных культур дрожжей на селективные среды и выделения мутантов, детальную изученность дрожжей как генетической системы и, что, может быть, важнее всего, возможность разностороннего использования системы генетической трансформации

дрожжей. В отличие от многих микроорганизмов клетки дрожжей могут сохранять жизнеспособность при наличии в их геноме множественных генетических маркеров. Дрожжи не патогенны, поэтому работа с ними не требует чрезвычайных мер предосторожности [5,8,9].

Saccharomyces cerevisiae — эукариотический микроб. В частности, это шаровидные желто-зеленые дрожжи, принадлежащие к царству Fungi, которое включает многоклеточные организмы, такие как грибы и плесень. Природные штаммы дрожжей были обнаружены на поверхности растений, в желудочно-кишечном тракте и на поверхности тела насекомых и теплокровных животных, в почве во всех регионах мира и даже в водной среде. Чаще всего он встречается в местах, где может происходить ферментация, например, на поверхности фруктов, в подвалах для хранения и на оборудовании, используемом в процессе ферментации [23,24].

Saccharomyces cerevisiae — одноклеточный гриб. Они широко известны как хлебопекарные, пивные или почковательные дрожжи. Он используется в производстве ряда пищевых продуктов для человека, в том числе алкогольных напитков и в хлебопекарной промышленности, а также широко используется в качестве модельного вида при изучении эукариотической биологии. В 1996 году геном *S. cerevisiae* стал первым полностью расшифрованным геномом эукариот. Геном *S. cerevisiae* составляет около 12,2 Мб с 6275 генами, компактно расположенными на 16 хромосомах. Только около 5800 из этих генов считаются функциональными. Сборка генома и аннотация модели гена были предоставлены базой данных генома *Saccharomyces* (SGD) в 2011 году.

S. cerevisiae широко известен своей ролью в производстве продуктов питания. Это критический компонент в процессе ферментации, который превращает сахар в спирт, ингредиент, который используется в пиве, вине и дистиллированных напитках. Он также используется в процессе выпечки в качестве разрыхлителя; дрожжи, выделяющие газ в окружающую среду, приводят к губчатой текстуре хлеба и пирожных. Из-за его роли в ферментации люди знали и использовали *Saccharomyces cerevisiae* в течение длительного времени. Археологи обнаружили доказательства ферментированного напитка в горшке в Китае еще в 7000 г. до н.э., а молекулярные доказательства использования дрожжей для ферментации были обнаружены в винном кувшине, датированном 3150 г. до н.э. [10].

Выделение этого вида не происходило до 1938 года, когда Эмиль Мрак выделил его из гнилых инжиров, найденных в Мерседе, Калифорния. Воспользовавшись его уникальным репродуктивным циклом, Роберт Мортимер провел генетическое скрещивание, используя выделенный штамм инжира и другие штаммы дрожжей, полученные другими исследователями. В результате он создал новый штамм под названием S288c, который затем был использован в качестве родительского штамма для выделения большинства мутантных штаммов, используемых в настоящее время в исследованиях. Кроме того, этот штамм был затем использован для секвенирования генома *S. cerevisiae*.

S. cerevisiae также считается учеными «модельным организмом». Его большим преимуществом является то, что это одновременно одноклеточный и эукариотический организм. У эукариота большинство генов и белков дрожжей имеют человеческие гомологи, и более глубокое понимание генома дрожжей также поможет ученым понять геном человека. Еще одним преимуществом является его быстрая решетка роста. На обычной дрожжевой среде для удвоения популяции дрожжей требуется 90 минут, а колонии обычно видны через 2-3 дня после помещения их на свежую среду. Поскольку

теперь доступна полная последовательность генома, мутанты, уникальные для эукариотических организмов, теперь могут быть экспрессированы в эукариотах, в отличие от изучения аналогичного гена у прокариот.

Штаммы дикого типа

Saccharomyces boulardii: ранее использовался в качестве пробиотика для лечения диареи, вызванной бактериями. Клинические испытания показали, что этот вид и вид *S. cerevisiae* генетически идентичны.

Saccharomyces uvarum: используется при брожении лагерного пива. Из-за недавней реклассификации этот вид теперь считается еще одним штаммом дикого типа.

Лабораторные штаммы

Хотя *S. cerevisiae* содержит множество различных штаммов, используемых в исследованиях, ниже приведены некоторые из штаммов, наиболее часто используемых в лабораториях. Выбор штамма для использования зависит от того, какая часть организма изучается.

S288c: Этот штамм был выделен в 1950-х годах Робертом К. Мортимером посредством генетического скрещивания. Его использовали в качестве родительского штамма при выделении мутантов. Штамм S288c использовался, когда геном *S. cerevisiae* был полностью секвенирован в 1996 году. Однако его низкая скорость спорообразования и отсутствие роста белка в отсутствие азота побудили ученых выбрать альтернативные штаммы для своих исследований.

A634A: используется в исследованиях клеточного цикла. Он также тесно связан с S288c из-за скрещивания с S288c и другим неизвестным штаммом.

BY4716: поскольку он почти идентичен S288c, его часто используют в качестве эталонного или контрольного красителя.

CEN.PK: В Европе он используется в качестве вторичного эталонного штамма наряду с S288c при изучении генома дрожжей. Кроме того, он может хорошо расти на нескольких различных источниках углерода, а также в анаэробных условиях. Он используется при изучении скорости роста и образования продукта.

Σ1278b: Этот штамм отличается тем, что содержит гены, уникальные для метаболизма азота. Лучше всего его изучать при ограничении азота; клетки становятся удлиненными и подвергаются уникальному паттерну почкования, при котором клетки остаются физически прикрепленными друг к другу. Это известно как псевдогифальный рост.

SK1: Поскольку этот штамм производит много спор, его используют в мейотических исследованиях.

W303: Тесно связан с S288c из-за скрещивания S288c с неизвестным штаммом, он используется в генетическом и биохимическом анализе.

Среди эукариотических организмов, используемых в качестве моделей для изучения физиологических функций антиоксидантных ферментов, наиболее изучены пекарские дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*. Известно, что *S. cerevisiae* имеют две формы каталазы. Каталаза А, кодируемая геном *CTA1*, локализована в пероксисомах, а каталаза Т, являющаяся продуктом гена *CTT1*, находится преимущественно в цитозоле. Каталазы катализируют превращение перекиси водорода до молекулярного кислорода и воды, эффективно защищая клетки от возможного окисления. Тем не менее сегодня можно с уверенностью сказать, что роль каталазы на уровне клетки не сводится только к этой

реакции. Очень многое зависит от условий экспрессии того или иного изофермента каталазы. Известно также, что каталаза многих эукариот проявляет также пероксидазную активность, т.е. перекись водорода используется как акцептор электронов и протонов. Для изучения роли каталазы, как, впрочем, и других ферментов, часто используются два способа, для которых общим является исследование физиологии клеток, лишенных активности изучаемого фермента. И если в одном случае исследуются клетки, дефектные по гену, кодирующему изучаемый фермент, то во втором – клетки, обработанные специфичным для данного фермента ингибитором. Использование штаммов *S. cerevisiae*, дефектных по генам, кодирующим один или оба изофермента каталазы, позволило расширить наши представления о роли этого фермента в защите белков клетки от окислительной модификации. Подобная идея легла в основу исследования, в котором объектом были штаммы, дефектные по разным изоферментам супероксиддисмутазы. Интересные результаты получены также при ингибировании Cu,Zn СОД у *S. cerevisiae* N,N'-диэтилдитиокарбаматом. Тем не менее каждый способ имеет как преимущества, так и определенные ограничения. Комбинированное использование обоих способов является, возможно, наиболее эффективным при изучении роли ферментов в клетке.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Основные ферменты S288c

PHO5 - Активирует активность кислой фосфатазы, нуклеозид-трифосфатазную и активность нуклеозидтрифосфатдифосфатазы. Участвует в клеточном ответе на фосфатное голодание и метаболическом процессе фосфатсодержащих соединений. Находится в клеточной стенке грибового типа. Человеческие ортологи этого гена вовлечены в мосто-мозжечковую гипоплазию и папиллярную карциному щитовидной железы. Локализован на хромосоме 2, число экзонов 1, имеет 1381 нуклеотидных оснований.

PHO3- Активирует активность кислой фосфатазы. Участвует в метаболическом процессе фосфатсодержащих соединений и метаболическом процессе тиаминсодержащих соединений. Находится в периплазматическом пространстве, ограниченном клеточной стенкой. Человеческие ортологи этого гена вовлечены в мосто-мозжечковую гипоплазию и папиллярную карциному щитовидной железы. Локализован на хромосоме 2, число экзонов 1, имеет 1381 нуклеотидных оснований.

PHM8- Обеспечивает активность фосфатазы лизофосфатидной кислоты и активность нуклеотидазы. Участвует в катаболическом процессе нуклеотидов; реакция на голодание; и гомеостаз триглицеридов. Находится в цитоплазме и ядре. Находится на хромосоме 5. Число экзонов 1, имеет 962 нуклеотидных оснований.

PHO11- Активирует активность кислой фосфатазы. Предполагается участие в метаболическом процессе фосфатсодержащих соединений. Находится во внеклеточной области. Человеческие ортологи этого гена вовлечены в мосто-мозжечковую гипоплазию и папиллярную карциному щитовидной железы. Находится на хромосоме 1, число экзонов 1, имеет 1381 нуклеотидных оснований.

PHO12- Активирует активность кислой фосфатазы. Предполагается участие в дефосфорилировании. Находится в вакуоли грибового типа. Человеческие ортологи этого гена вовлечены в мосто-мозжечковую гипоплазию и папиллярную карциному щитовидной железы. Локализован на хромосоме, число экзонов 1, имеет 1381 нуклеотидных оснований.

DET1 (acid phosphatase DET1)- Активирует активность кислой фосфатазы. Участвует в дефосфорилировании и внутриклеточном транспорте стеролов. Находится в цитоплазме и ядре. Локализован на хромосоме 4, число экзонов 1, имеет 961 нуклеотидных оснований.

YER134C Mg-dependent acid phosphatase- Включает активность кислой фосфатазы и активность протеинтирозинфосфатазы, зависящую от металла. Предполагается, что он участвует в дефосфорилировании пептидилтирозина. Находится в цитоплазме и ядре, имеет 481 нуклеотидных оснований.

DIA3 putative acid phosphatase- Предполагается активирование активности кислой фосфатазы. Участвует в инвазивном росте в ответ на ограничение глюкозы и псевдогифальный рост. Находится в клеточной стенке грибового типа. Человеческие ортологи этого гена вовлечены в мосто- мозжечковую гипоплазию и папиллярную карциному щитовидной железы. Локализован на хромосоме 4, число экзонов 1, имеет 1381 нуклеотидных оснований.

PAH phosphatidate phosphatase- Обеспечивает активность фосфатидатфосфатазы и активность связывания цис-регуляторной области транскрипции. Участвует в нескольких процессах, включая организацию липидных капель; процесс биосинтеза триглицеридов; и слияние вакуолей, неаутофагическое. Находится в нескольких клеточных компонентах, включая липидные капли; ядерная мембрана; и вакуоли. Является внешним компонентом мембраны. Используется для изучения нарушений липидного обмена и миоглобинурии. Ортологичен человеческому LPIN1 (липину 1); LPIN2 (липин 2); и LPIN3 (липин 3). Локализован на хромосоме 13, число экзонов 1, имеет 2581 нуклеотидных оснований.

LTP1 tyrosine protein phosphatase- Активирует активность протеинтирозинфосфатазы. Участвует в дефосфорилировании белков. Находится в цитоплазме и ядре. Человеческие ортологи этого гена, вовлеченные в несколько заболеваний, включая синдром дефицита внимания и гиперактивности, расстройства поведения, сахарный диабет диабетическая ретинопатия; и ожирение. Локализован на хромосоме 14, число экзонов 1, имеет 781 нуклеотидных оснований.

LPP1 phosphatidate phosphatase - Активирует активность фосфатидатфосфатазы. Участвует в процессах обмена фосфолипидов. Находится в мембране. Ортологичен PLPP1 человека (фосфолипидфосфатаза 1) и PLPP3 (фосфолипидфосфатаза 3). Локализован на хромосоме 4, число экзонов 1, имеет 781 нуклеотидных оснований.

BGL2 glucan 1,3-beta-glucosidase- Обеспечивает активность 1,3-бета-глюканозилтрансферазы и глюкан-эндо-1,3-бета-D-глюкозидазы. Участвует в организации клеточной стенки грибового типа. Находится в клеточной стенке грибового типа. Локализован на хромосоме 7, число экзонов 1, имеет 901 нуклеотидных оснований.

EXG1 glucan 1,3-beta-glucosidase- Предполагается, что глюкан активирует экзо-1,3-бета-глюкозидазу. Участвует в клеточном метаболизме глюкана. Расположены во внеклеточной области и клеточной стенке грибового типа. Локализован на хромосоме 12, число экзонов 1, имеет 1321 нуклеотидных оснований.

URE2 glutathione peroxidase- Обеспечивает активность глутатионпероксидазы и активность связывания фосфопротеинов. Участвует в нескольких процессах, включая цитоплазматическую секвестрацию фактора транскрипции; урмилрование белка; и реакция на ион алюминия. Находится в цитоплазме. Находится на хромосоме 14, число экзонов 1, имеет 1021 нуклеотидных оснований.

CCP1 cytochrome-c peroxidase- Активирует активность цитохром-с-пероксидазы. Участвует в клеточном ответе на окислительный стресс. Находится в митохондриальном межмембранном пространстве. Локализован на хромосоме 11, число экзонов 1, имеет 1081 нуклеотидных оснований.

TSA1 thioredoxin peroxidase- Включает несколько функций, включая активность связывания рибосом; активность тиоредоксинпероксидазы; и активность связывания развернутого белка. Участвует в нескольких процессах, включая передачу сигналов контрольных точек повреждения ДНК; защита ДНК; и окислительно-восстановительный гомеостаз клеток. Находится в цитозоле. Часть полисомы. Человеческие ортологи этого гена вовлечены в метилмалоновую ацидурию и гомоцистинурию типа cblC. Ортологичен нескольким генам человека, включая PRDX1 пероксиредоксин 1 и PRDX2 пероксиредоксин 2. Локализован на хромосоме 13, число экзонов 1, имеет 541 нуклеотидных оснований.

TSA2 thioredoxin peroxidase - Активирует активность тиоредоксинпероксидазы. Участвует в окислительно-восстановительном гомеостазе клеток; клеточный ответ на окислительный стресс; и сворачивание белка. Находится в цитоплазме. Человеческие ортологи этого гена вовлечены в метилмалоновую ацидурию и гомоцистинурию типа cblC. Ортологичен нескольким генам человека, включая PRDX1 пероксиредоксин 1, PRDX2 пероксиредоксин 2 и PRDX4 пероксиредоксин 4. Локализован на хромосоме 4, число экзонов 1, имеет 541 нуклеотидных оснований.

GPX2 glutathione peroxidase- Обеспечивает активность глутатионпероксидазы и активность фосфолипид-гидропероксидглутатионпероксидазы. Участвует в клеточном ответе на окислительный стресс. Находится в цитоплазме. Является внешним компонентом внутренней мембраны митохондрий и внешним компонентом внешней мембраны митохондрий. Человеческие ортологи этого гена вовлечены в спондилометафизарную дисплазию седагатского типа и сахарный диабет 2 типа. Ортологичен нескольким человеческим генам, включая GPX4 (глутатионпероксидаза 4). Локализован на хромосоме 2, число экзонов 1, имеет 481 нуклеотидных оснований.

GPX1 glutathione peroxidase- Включает активность глутатионпероксидазы и активность фосфолипид-гидропероксидглутатионпероксидазы. Участвует в клеточном ответе на окислительный стресс и организации пероксисом. Находится в пероксисомальном матриксе. Является внешним компонентом наружной мембраны митохондрий. Человеческие ортологи этого гена вовлечены в спондилометафизарную дисплазию седагатского типа и сахарный диабет 2 типа. Ортологичен нескольким человеческим генам, включая GPX4 глутатионпероксидаза 4. Локализован на хромосоме 11, число экзонов 1, имеет 481 нуклеотидных оснований.

GTT1 bifunctional glutathione transferase/peroxidase- Обеспечивает активность глутатионпероксидазы и активность глутатионтрансферазы. Участвует в процессе метаболизма глутатиона и глутатионилировании белков. Находится в эндоплазматическом ретикулуме. Локализован на хромосоме 9, число экзонов 1, имеет 661 нуклеотидных оснований.

CTT1 catalase T - Активирует каталазную активность. Участвует в реакции на активные формы кислорода. Находится в цитоплазме. Человеческие ортологи этого гена, вовлеченные в несколько заболеваний, включая акаталазию; заболевание глаз (множественное); заболевание легких (множественное); остеонекроз; и эластическая

псевдоксантама. Ортологичен САТ человека- каталазе. Локализован на хромосоме 7, число экзонов 1, имеет 1681 нуклеотидных оснований.

ВЫВОДЫ

Из приведенного списка ферментов *Sacharomyces cerevisiae* штамма S288C самым наиболее удобным объектом для выделения и конъюгирования фермента для ИФА являются РНО3, РНО5, РНО11, РНО12, DIA3 putative acid phosphatase, РАН phosphatidate phosphatase, EXG1 glucan 1,3-beta-glucosidase, URE2 glutathione peroxidase, CCP1 cytochrome-c peroxidase, CTT1 catalase Т белки.

ИСПОЛЬЗОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Амелина Е.А., Арсеньева В.А., Марданлы С.С., Марданлы С.Г., Ротанов С.В. Новые возможности диагностики инфекции, вызванной hhv-8, с использованием иммуноферментного анализа. //Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. 2019. Т. 9. № 4. С. 51-57.
2. Бердиярова, Шохида Шукуруллаевна, Юсупов Шухрат Абдурасулович, and Юсупова Наргиза Абдикодировна. "КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ХРОНИЧЕСКОГО ГЕМАТОГЕННОГО ОСТЕОМИЕЛИТА." //Вестник науки и образования 10-2 (113) (2021): 63-66.
3. Бердиярова Ш.Ш., and Юсупова Н.А. "АЛКОГОЛЛИ ВА ВИРУСЛИ ГЕПАТИТ УЧУН БАЪЗИ ЛАБОРАТОРИЯ КЎРСАТКИЧЛАРИНИ ТАҚҚОСЛАШ ТАҲЛИЛИ." // Журнал гепато-гастроэнтерологических исследований 1, no. 3 (2020): 20-23.
4. Бердиярова Ш.Ш., Юсупов Ш.А., Назарова Г.Ш. "КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕМАТОГЕННОГО ОСТЕОМИЕЛИТА". //Central Asian Research Journal For Interdisciplinary Studies (CARJIS) Issue 5 | May, 2022. (116-125 ст)
5. Даминов Ф. А. и др. Диагностика и лечение интраабдоминальной гипертензии при ожоговом шоке //Журнал Неотложная хирургия им. ИИ Джанелидзе. – 2021. – №. S1. – С. 19-20.
6. Даминов Ф. А. и др. Хирургическая тактика лечения диффузно-токсического зоба //Академический журнал Западной Сибири. – 2013. – Т. 9. – №. 1. – С. 21-21.
7. Даминов Ф. А. и др. Хирургическая тактика лечения диффузно-токсического зоба //Академический журнал Западной Сибири. – 2013. – Т. 9. – №. 1. – С. 21-21.
8. Даминов Ф. А. и др. Особенности лечебного питания для ранней профилактики желудочнокишечных осложнений у обожженных //Журнал Неотложная хирургия им. ИИ Джанелидзе. – 2021. – №. S1. – С. 21-21.
9. Кудратова З. Э. и др. АТИПИК МИКРОФЛОРА ЭТИОЛОГИЯЛИ Ў ТКИР ОБСТРУКТИВ БРОНХИТЛАРИНИНГ Ў ЗИГА ХОС КЛИНИК КЕЧИШИ //Research Focus. – 2022. – Т. 1. – №. 4. – С. 23-32.
10. Набиева Ф. С., Душанова Г. А., Бобокулов О. О. Значение иммуноферментного анализа в диагностике инфекционных заболеваний //Вестник науки и образования. – 2021. – №. 4-1 (107). – С. 54-56.
11. Чернакова Г.М., Майчук Д.Ю., Малышева З.Г., Клещева Е.А., Слонимский Ю.Б., Мельник М.А. Результаты иммуноферментного анализа сыворотки крови при

инфекционно-воспалительных заболеваниях переднего сегмента глаза. Вестник офтальмологии. 2020. Т. 136. № 2. С. 32-37.

12. Юсупова Н. А., Бердиярова Ш. Ш., Юлаева И. А. Гематологические характеристики факторов риска и оценка прогноза при COVID-19 //Вестник науки и образования. – 2021. – №. 5-2 (108). – С. 25-29.

13. Юсупова Н. А., Бердиярова Ш. Ш., Юлаева И. А. Ретроспективный анализ состава микрофлоры сигмоидной неовагины //Вестник науки и образования. – 2021. – №. 3-2 (106). – С. 107-109.

14. Abdikadirova N. Y. et al. Clinical and laboratory parameters in children with urolithiasis and the Quality of laboratory tests at the stage of stationary treatment //Annals of the Romanian Society for Cell Biology. – 2021. – С. 7002-7012.

15. Berdiyaraova Sh.Sh., Yusupova N. A., Murtazaeva N. K., and Ibragimova N. S."Clinical and laboratory features of chronic hematogenic osteomyelitis". // *Thematics Journal of Microbiology* 6, no. 1 (2022).

16. DR Khudoyarova, BF Ibragimov, NS Ibragimova, ZA Kobilova [Fertility recovery from polycystic ovarian syndrome](#) // International journal of pharmaceutical research (+ Scopus) ISSN, 0975-2366, 0

17. Erkinovna K. Z., Berdirasulovich K. G., Andreevna Y. I. THE IMPORTANCE OF SOME LABORATORY INDICATORS IN LUNG DISEASES //Вестник науки и образования. – 2020. – №. 22-2 (100). – С. 70-72.

18. Erkinovna K. Z. et al. Bronchial obstruction syndrome in young children with respiratory infections of different etiology: features of clinical manifestations and immune response //Проблемы науки. – 2021. – №. 1 (60). – С. 60-62.

19. Jeffrey M.Becker , Guy A.Caldwell , Eve Ann Zachgo,Exercise 11 - Transformation of *Saccharomyces cerevisiae* // Biotechnology (Second Edition)A Laboratory Course 1996, PP. 97-103, <https://doi.org/10.1016/B978-012084562-0/50067-9>

20. IN Sabirovna, IB Fikriyevich, BS Shukurullayevna, YI Andreyevna [Clinical picture of hypoxic-ischemic encephalopathy in newborn with different gestation date](#) // Thematics Journal of Microbiology 6 (1), 2022

21. NS Ibragimova, BF Ibragimov, MA Mamadierova [Polycystic Ovary Syndrome Highlights](#) // Vestnik nauki i obrazovaniya 2, 105, 2021

22. NS Ibragimova, BF Ibragimov, NA Yusupova, IA Yulaeva [Course, complications and outcomes of postponed pregnancy](#) // European science, 50- 54, 2021

23. Kudratova Z. E. et al. Chlamydial Infections (Intracellular Infection) in the Development of Bronchitis //TJE-Tematics journal of Education ISSN. – 2021. – С. 2249-9822.

24. O'G T. F. O. K. et al. ASSESSMENT OF CARBOHYDRATE METABOLISM IN PATIENTS WITH DIABETES AND COVID-19 //Research Focus. – 2022. – Т. 1. – №. 4. – С. 52-55.

25. Paula Jouhten, Olga Ponomarova, Ramon Gonzalez, Kiran R. Patil, *Saccharomyces cerevisiae* metabolism in ecological context // FEMS Yeast Research – vol. – 16(7)

26. Yusupova N., Firdavs O. Energy drinks. The composition of energy drinks and the effect on the body of their individual components //Thematics Journal of Microbiology. – 2022. – Т. 6. – №.