

Разработка прототипа модульного биопринтера экструзионного типа

С.В. Кравченко^{1,2}✉, А.И. Трофименко^{1,3,4}, И.В. Сухно², В.Ю. Бузько^{2,5}, А.Н. Гнеуш²

¹ Кубанский государственный технологический университет, Краснодар, Россия

² Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина, Краснодар, Россия

³ Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, Россия

⁴ Краевая клиническая больница №1 имени профессора С.В. Очаповского, Краснодар, Россия

⁵ Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия

Аннотация. Введение. Цель данной работы – разработка прототипа модульного биопринтера экструзионного типа, способного выполнять двух- и трехмерную печать гидрогелями на основе биополимеров природного происхождения. **Материалы и методы.** Биопринтер использует Декартову систему координат, печатающая головка подвижна по осям Y и Z, платформа для печати – по оси X и оборудована системой охлаждения. Выполнялась печать конструкторов из 3 типов гелей: на основе желатина с добавлением ксантановой камеди в различных концентрациях; на основе комбинации желатина и альгината натрия; на основе желатина и ксантановой камеди с добавлением углеродных нанотрубок. **Результаты.** Полученные конструкторы из различных гелей соответствовали структуре, определенной их цифровыми моделями. **Выводы.** Разработанная система позволяет выполнять двух- и трехмерную печать гидрогелями на основе желатина, альгината натрия, в том числе содержащих углеродные нанотрубки и/или ксантановую камедь для широкого круга экспериментальных задач.

Ключевые слова: биопринтер, 3D-биопечать, биопечать, биофабрикация, гидрогель, желатин, альгинат натрия, био-чернила, углеродные нанотрубки

ORIGINAL RESEARCHES

Original article

Development of modular extrusion bioprinter prototype

S.V. Kravchenko^{1,2}✉, A.I. Trofimenko^{1,3,4}, I.V. Sukhno², V.Yu. Buz'ko^{2,5}, A.N. Gneush²

¹ Kuban State Technological University, Krasnodar, Russia

² Kuban State Agrarian University named after I. T. Trubilin, Krasnodar, Russia

³ Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia

⁴ Ochapovsky Regional Clinical Hospital no. 1, Krasnodar, Russia

⁵ Kuban State University, Krasnodar, Russia

Abstract. Introduction: The aim of this work was to develop a prototype of a modular extrusion bioprinter capable of performing 2D and 3D printing with hydrogels based on sodium alginate and gelatin. **Materials and methods:** The bioprinter uses Cartesian coordinate system, the print head is movable in Y and Z axes, the printing platform is in X axis and equipped with cooling system. Constructs were printed with 3 types of gels: based on gelatin with the addition various concentrations of xanthan gum; based on combination of gelatin and sodium alginate; based on gelatin and xanthan gum with the addition of carbon nanotubes. **Results:** The constructs from various gels corresponded to the structure determined by their digital models. **Conclusions:** The developed system allows performing 2D and 3D printing with gels based on gelatin, sodium alginate, including those containing carbon nanotubes and/or xanthan gum for a wide range of experimental tasks.

Keywords: bioprinter, 3D-bioprinting, bioprinting, biofabrication, hydrogel, gelatin, sodium alginate, bioinks, carbon nanotubes

Технологии биопечати, или биопринтинга (англ. *bioprinting*), позволяют из живых клеток, биополимеров и иных материалов биологического и небιологического происхождения создавать аддитивным способом биоинженерные структуры с заданной двух- или трехмерной пространственной организацией [1, 2]. Потенциал применения биопринтинга достаточно широк и включает в себя область регенеративной медицины и тканевой инженерии (восстановление поврежденных органов и

тканей путем замены на биоискусственные системы, состоящие из каркаса на основе биосовместимых материалов и живых клеток) [3]. Например, известны эксперименты по биопечати тканеинженерных роговиц, которые в перспективе могли бы использоваться вместо донорского материала [4]. В сфере фундаментальных исследований актуальной задачей является создание биопечатных тканеинженерных конструкций, органоидов, микрофлюидных чипов, которые могут применяться

для моделирования физиологических и патологических процессов, а также фармакологического скрининга [5, 6]. Пример – скрининг нейропротекторных препаратов, моделирование гематоретинальных барьеров и т. д. [6]. Печать биосовместимыми токопроводящими гидрогелями представляет интерес в сфере нейропротезирования и инвазивных нейромашинных интерфейсов. В данном направлении работы ведутся в направлении создания гибких мультиэлектродных матриц и иных электронных устройств, которые могут быть имплантированы в центральную и периферическую нервную систему [7]. Еще одним перспективным направлением биопечати является создание биогибридных роботизированных систем – актуаторов и роботов, содержащих в себе живые клетки и ткани либо полностью состоящих из них [5, 8].

Для биопринтинга применяются содержащие и не содержащие клетки биочернила различных составов. В качестве основы для биочернил могут быть использованы такие материалы, как желатин, коллаген, альгинат натрия, хитозан, гиалуроновая кислота, фибрин и другие в различных сочетаниях. Из вышеперечисленных биоматериалов отдельно стоит выделить альгинат натрия и желатин, часто применяемые в сочетании друг с другом. Альгинат натрия – представляет собой полисахарид образованный, остатками β -D-маннуриновой и α -L-гулуриновой кислот. Альгинат натрия, производимый из бурых водорослей, обладает невысокой стоимостью, низкой иммуногенностью и цитотоксичностью, достаточно высокой пористостью и проницаемостью для кислорода и питательных веществ, а также широкими возможностями для химической модификации. Возможно получение альгинатных гидрогелей, обладающих механическими свойствами, сходными с таковыми у внеклеточного матрикса, однако, при этом, в структуре альгината отсутствуют адгезивные последовательности, необходимые для нормального прикрепления клеток [6, 9]. Реологические свойства растворов альгината сильно зависят от концентрации и в случае чистого раствора альгината не являются оптимальными для трехмерной печати из-за растекания конструкторов, из чего следует необходимость комбинирования альгината с другими материалами либо его модификации [10]. Желатин, получаемый путем частичного гидролиза коллагена, представляет собой короткие полипептидные цепочки. Обладая биосовместимостью, низкой иммуногенностью и сходством с экстраклеточным матриксом, желатин также имеет адгезивные RGD-последовательности. Вязкость желатина зависит от температуры: при охлаждении ниже 30 °C происходит гелеобразование [9].

Среди технологий биопечати в наибольшей степени распространена экструзионная, основанная на непрерывной подаче материала под давлением,

создаваемым при помощи поршня, сжатого воздуха или специального шнека. Экструзионные биопринтеры обладают оптимальным сочетанием характеристик, позволяют осуществлять печать гидрогелями различной вязкости и с большой плотностью клеток (более 10^8 клеток/мл). Также возможна печать достаточно крупных по своим размерам структур (сантиметрового порядка) [11].

Актуальной задачей становится разработка недорогого и простого по конструкции экструзионного биопринтера для широкого круга экспериментальных задач, способного выполнять двухмерную и трехмерную печать гидрогелями на основе наиболее распространенных биополимеров, таких как желатин и альгинат натрия.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Разработка прототипа модульного биопринтера экструзионного типа, способного выполнять двухмерную и трехмерную печать гидрогелями на основе биополимеров природного происхождения.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Биопринтер использует Декартову систему координат. Основание биопринтера, крепления двигателей и печатных плат и ряд других элементов механической части изготовлены методом 3D-печати из ABS-пластика. Кроме того, применены металлические направляющие с линейными подшипниками в подвижных узлах, совершающих линейные перемещения. Печатающая головка подвижна по осям Y и Z, платформа для печати – по оси X. Для перемещения по осям печатающей головки и подвижной платформы использовались шаговые двигатели NEMA 17 с драйверами A4988. В качестве контроллера использован модуль управления 3D-принтерами, основанный на Arduino Mega и RAMPS с модифицированной прошивкой Marlin.

Подача и дозирование биочернил осуществлялись с помощью экструзионной системы поршневого типа, выполненной в виде отдельного модуля шприцевого насоса, закрепленного на специальном штативе. Поршень шприцевого насоса также приводится в движение шаговым двигателем. Печатающая головка имеет специальное крепление для сменных форсунок, изготавливаемых на основе канюль разных диаметров, соединяемых со шприцевым насосом посредством тонкого ПВХ шланга. Исполнение шприцевого насоса в виде отдельного выносного модуля делает систему более гибкой, позволяя впоследствии выполнить замену шприцевого насоса на систему подачи и дозирования биочернил другого типа, если это будет требоваться протоколом эксперимента.

Подвижная платформа биопринтера имеет систему охлаждения на основе термоэлектрического элемента Пельтье, для отведения лишнего тепла от которого

применена система водяного охлаждения. Радиатор, резервуар с охлаждающей жидкостью и насос системы охлаждения смонтированы в отдельном корпусе.

Для управления работой биопринтера и генерации G-кода используется программное обеспечение UltiMaker Cura версии 5.2.2 со специально разработанными профилями для печати гидрогелями [12]. Компьютер с необходимым программным обеспечением и биопринтер соединялись USB-кабелем.

Для приготовления биочернил и экспериментов с ними использовались следующие материалы: 0,01 М фосфатно-солевой буфер (PBS) с pH 7,4 (ООО «Эко-Сервис», Россия); ксантановая камедь и альгинат натрия в виде порошка (Китай); желатин типа А, прочностью 220 блум (Россия); многослойные углеродные нанотрубки внутренним диаметром 3–5 нм, внешним диаметром 8–15 нм и длиной 3–12 мкм (Китай); водный раствор кальция глюконата 100 мг/мл (ООО «Трим», Россия); краситель «Красный очаровательный АС» (Allura Red AC) (Россия).

Приготовлены биочернила следующих типов: I – на основе желатина с добавлением ксантановой камеди в качестве загустителя [13]; II – на основе желатина и альгината натрия; III – на основе желатина и ксантановой камеди с добавлением углеродных нанотрубок.

Биочернила I типа, представленные 6 вариантами, были приготовлены на основе PBS и содержали

4 % желатина и разные концентрации ксантановой камеди: 0 (без добавления); 0,3; 0,5; 1; 1,5 и 2 %. Биочернила II типа также готовились на PBS и содержали 2 % желатина и 3,8 % альгината натрия. Биочернила III типа имели в своем составе 2 % желатина, 1,3 % ксантановой камеди и 7 % углеродных нанотрубок. Для лучшей визуализации печатаемых конструктов в состав всех перечисленных рецептур биочернил включен краситель «Красный очаровательный АС».

При подготовке к биопечати шприц с предварительно нагретыми до 40 °С биочернилами загружали в систему экструдирования, затем биопринтеру передавалась команда подачи материала для заполнения шланга и печатающей форсунки биочернилами и вывода оставшегося воздуха из системы. Если предполагается печать биочернилами, содержащими желатин или иные полимеры, вязкость которых зависит от температуры, перед началом всех манипуляций по подготовке системы к печати необходимо включить охлаждение платформы (до 0 °С).

Гидрогелями I типа (желатин и желатин с добавлением ксантановой камеди в различных концентрациях) осуществлялась печать многослойной трехмерной конструкции в виде квадратной решетки со стороной всей конструкции 13,5 мм, разделенной на 4 ячейки, и имеющей высоту 4 мм, с шириной линий самой решетки 2 мм (рис. 1 А).

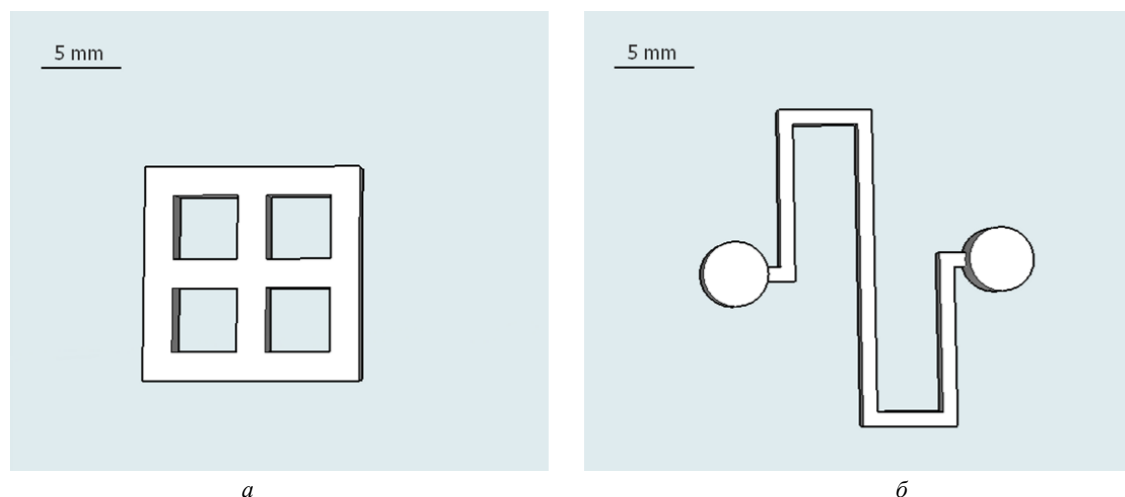


Рис. 1. Компьютерные 3D-модели печатаемых конструктов:

А – конструкция в виде квадратной решетки со стороной 13,5 мм для печати биочернилами I (на основе желатина и ксантановой камеди) и II (на основе желатина и альгината натрия) типов; Б – паттерн в виде зигзагообразной прямоугольно изогнутой линии с приподнятыми площадками на концах для печати биочернилами III типа, содержащими углеродные нанотрубки

Сразу после процесса печати образец фотографировали. Проводили оценку соответствия геометрической формы напечатанного конструкта его цифровой модели, наличие ошибок и дефектов печати.

Биочернилами II типа, содержащими альгинат натрия, по аналогичному протоколу осуществлялась печать той же структуры, что и биочернилами I типа для

оценки возможности использования разработанного биопринтера с биоматериалами, содержащими альгинат натрия. После процесса печати конструкты из биочернил II типа подвергались «полимеризации» путем нанесения раствора глюконата кальция. Биочернилами III типа, содержащими углеродные нанотрубки, печатался паттерн в виде зигзагообразной прямоугольно изогнутой линии

с приподнятыми площадками на концах (рис. 1 Б). Данный паттерн воспроизводит такие элементы, как токопроводящие дорожки и контактные/электродные площадки в составе различных имплантов, предназначенных для регистрации биоэлектрической активности возбудимых тканей либо их стимуляции [14].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Выполнена печать трехмерных конструкторов чистым желатином и растворами, содержащими желатин и ксантановую камедь в различных концентрациях (биочернила I типа). Хотя охлаждение платформы препятствовало растеканию биочернил, благодаря переходу желатина в состояние геля, концентрация ксантановой камеди оказывала значительное влияние на результаты печати. В случае чистого раствора желатина, только 1-й слой геометрически соответствовал таковому

у цифровой модели конструктора. Уже со второго слоя при печати раствором желатина происходило собирание биочернил в капли на углах печатаемого конструктора, что приводило к серьезным искажениям (рис. 2 А). При печати составами с концентрацией ксантановой камеди 0,3 % (рис. 2 Б) и 0,5 % (рис. 2 В) наблюдались аналогичные эффекты. В образце с 1 % (рис. 2 Г) ксантановой камеди подобные эффекты были минимальны и затрагивали лишь последний слой. Образцы биочернил, содержащие 1,5 % (рис. 2 Д) и 2 % (рис. 2 Е) ксантановой камеди, позволяли печатать объекты уже с достаточной степенью точности – не наблюдалось накопление материала на углах конструктора, до самого последнего слоя сохранялась непрерывность печати. Таким образом, испытанный прототип биопринтера может использоваться с биочернилами, на основе желатина и ксантановой камеди, что возможно благодаря наличию системы охлаждения платформы для печати.

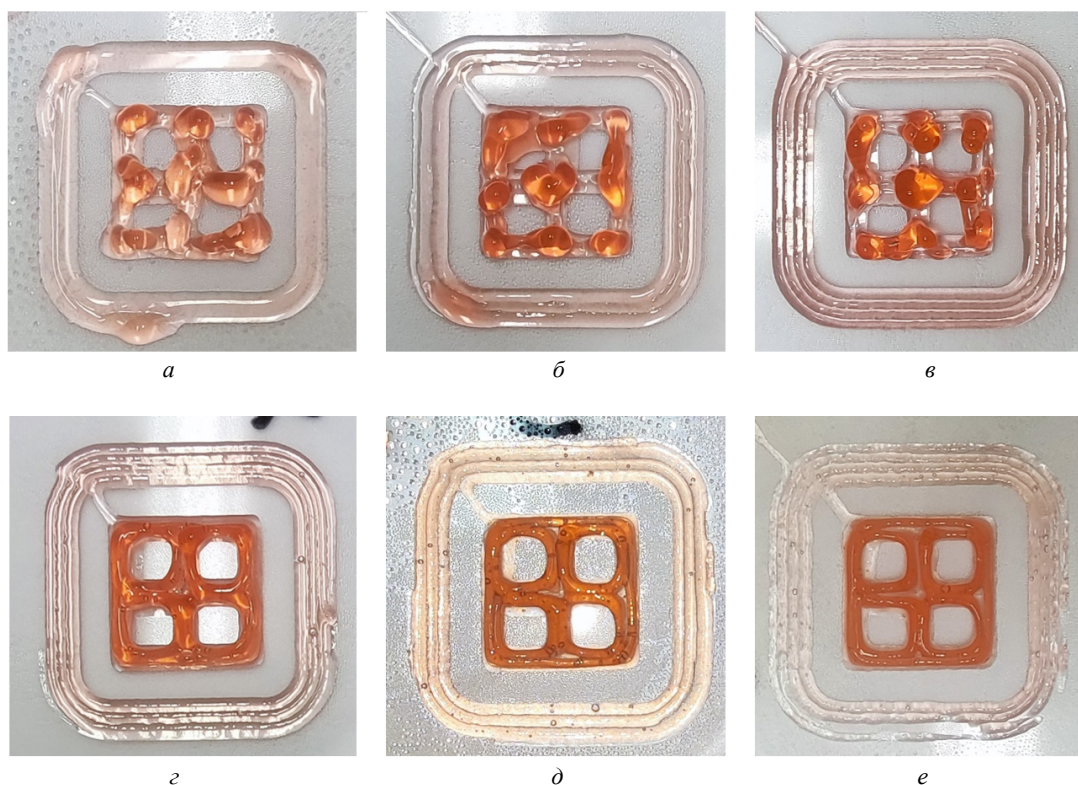


Рис. 2. Конструкторы, напечатанные образцами биочернил I типа на основе желатина:

А – желатин 4 % без добавления ксантановой камеди; Б – содержащие 4 % желатина и 0,3 % ксантановой камеди; В – 4 % желатина и 0,5 % ксантановой камеди; Г – 4 % желатина и 1 % ксантановой камеди; Д – 4 % желатина и 1,5 % ксантановой камеди; Е – 4 % желатина и 2 % ксантановой камеди

Конструкторы, полученные при печати биочернилами II типа (рис. 3 А), содержащими альгинат натрия и желатин, демонстрировали достаточную точность печати, подобную конструкторам из биочернил I типа с 1,5 и 2 % ксантановой камеди, что выражалось в соответствии геометрической конфигурации и размеров конструкторов параметрам их цифровой модели. Обработка

конструкторов раствором глюконата кальция приводила к их усадке, искажению размеров и формы, однако значительно увеличивала прочность, в том числе и при температуре выше 30 °С, благодаря чему было возможным отделение конструкторов от поверхности чашки Петри, на которой они распечатаны (рис. 3 Б). Данные результаты говорят о применимости разработанного прототипа

биопринтера для печати биочернилами на основе комбинаций желатина и альгината натрия. Однако требуется доработка состава биочернил и протоколов печати и

«полимеризации», поскольку при печати большинства конструкций точное соблюдение размеров получаемого в итоге продукта имеет существенное значение.

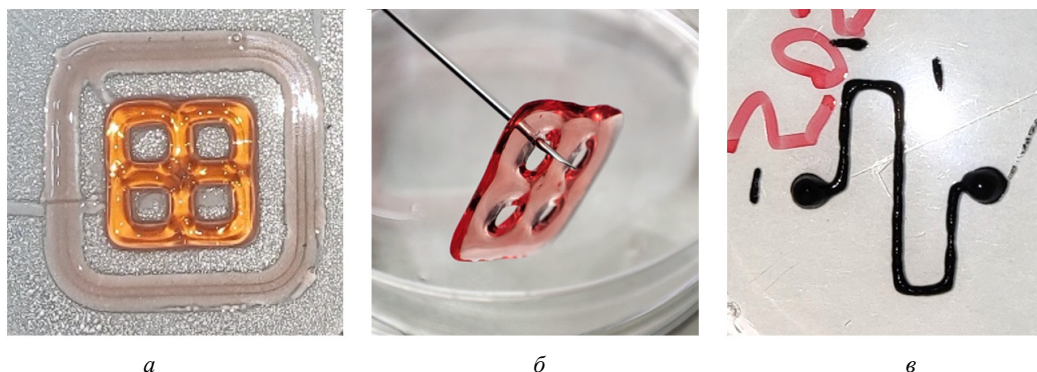


Рис. 3. Конструкты, полученные при печати биочернилами II и III типа:

А – конструкт, напечатанный биочернилами II типа, состоящими из альгината натрия и желатина; Б – конструкт, напечатанный биочернилами II типа, состоящими из альгината натрия и желатина после обработки раствором глюконата кальция; В – структура в виде зигзагообразной прямоугольно изогнутой линии с приподнятыми площадками на концах, напечатанная биочернилами III типа, содержащими углеродные нанотрубки

При печати биочернилами III типа, содержащими желатин, ксантановую камедь и углеродные нанотрубки, полученный паттерн в виде зигзагообразной прямоугольно изогнутой линии с приподнятыми площадками на концах (рис. 3 В) был успешно напечатан – отсутствуют разрывы или существенные искажения. Это говорит о возможности использования испытанного прототипа биопринтера для экспериментальной биопечати токопроводящих элементов в составе различных имплантов (гибкие матрицы электродов для нейропротезов) и систем орган-на-чипе. Кроме того, формирование токопроводящих дорожек на основе гидрогелей с помощью испытанного прототипа биопринтера обладает потенциалом в сфере биоробототехники при создании систем, комбинирующих в себе выращенные на биопечатном скаффолде живые ткани и электронику.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенной работы спроектирован, собран и протестирован прототип экструзионного биопринтера с охлаждаемой платформой. Разработанная система обладает модульной конструкцией и позволяет выполнять двухмерную и трехмерную печать гидрогелями на основе желатина, альгината натрия, в том числе содержащими углеродные трубки и/или ксантановую камедь. Размеры конструктов, которые могут быть напечатаны, в перспективе, делают возможным использование разработанных и опробованных протоколов биопечати при изготовлении систем орган-на-чипе, предназначенных для высокоточной персонализированной диагностики и различных скаффолдов для тканевой инженерии. Возможность биопечати гидрогелями, содержащими углеродные

нанотрубки, обеспечивает потенциал разработанного устройства для экспериментов по созданию биосовместимых электродных матриц для нейропротезов (зрительных, когнитивных, двигательных и других), в сфере микрофизиологических систем (биопечать сенсоров) и биоробототехники.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / REFERENCES

1. Kačarević Ž.P., Rider P.M., Alkildani S. et al. An introduction to 3D bioprinting: possibilities, challenges and future aspects. *Materials*. 2018;11(11):2199. doi: 10.3390/ma11112199.
2. Daly A.C., Prendergast M.E., Hughes A.J., Burdick J.A. Bioprinting for the Biologist. *Cell*. 2021;184(1):18–32. doi: 10.1016/j.cell.2020.12.002.
3. Горбатов Р.О., Романов А.Д. Создание органов и тканей с помощью биопечати. *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета*. 2017;3(63):3–9. doi: 10.19163/1994-9480-2017-3(63)-3-9.
4. Jia S., Bu Y., Lau D-S.A. et al. Advances in 3D bioprinting technology for functional corneal reconstruction and regeneration. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2023;10:1065460. doi: 10.3389/fbioe.2022.1065460.
5. Sun W., Starly B., Daly A.C. et al. The bioprinting roadmap. *Biofabrication*. 2020;12(2):022002. doi: 10.1088/1758-5090/ab5158.
6. Ragelle H., Goncalves A., Kustermann S. et al. Organ-On-A-Chip Technologies for Advanced Blood-Retinal Barrier Models. *Journal of ocular pharmacology and therapeutics: the official journal of the Association for Ocular Pharmacology and Therapeutics*. 2020;36(1):30–41. doi:10.1089/jop.2019.0017.
7. Agarwala S., Lee J.M., Ng W.L. et al. A novel 3D bioprinted flexible and biocompatible hydrogel bioelectronic platform. *Biosensors and Bioelectronics*. 2018;102:365–371. doi: 10.1016/j.bios.2017.11.039.

8. Webster-Wood V.A., Guix M., Xu N.W. et al. Biohybrid robots: Recent progress, challenges, and perspectives. *Bioinspiration & Biomimetics*. 2022;18(1):015001. doi: 10.1088/1748-3190/ac9c3b.

9. Zhang Y., Zhou D., Chen J. et al. Biomaterials Based on Marine Resources for 3D Bioprinting Applications. *Marine Drugs*. 2019;17(10):555. doi: 10.3390/md17100555.

10. Li H., Liu S., Lin L. Rheological study on 3D printability of alginate hydrogel and effect of graphene oxide. *International Journal of Bioprinting*. 2016;2(2):54–66. doi: 10.18063/IJB.2016.02.007.

11. Ramesh S., Harrysson O.L., Rao P.K. et al. Extrusion bioprinting: Recent progress, challenges, and future opportunities. *Bioprinting*. 2021;21:e00116. doi: 10.1016/j.bprint.2020.e00116.

12. Balaji K.V., Bhutoria S., Nayak S. et al. Printability assessment of modified filament deposition modelling three dimensional bioprinter printer using polymeric formulations. *Biomedical Engineering Advances*. 2023;5:100083. doi: 10.1016/j.bea.2023.100083.

13. Kumar A., Rao K.M., Han S.S. Application of xanthan gum as polysaccharide in tissue engineering: A review. *Carbohydrate Polymers*. 2018;180:128–144. doi: 10.1016/j.carbpol.2017.10.009.

14. Tringides C.M., Vachicouras N., de Lázaro I. et al. Viscoelastic surface electrode arrays to interface with viscoelastic tissues. *Nature nanotechnology*. 2021;16(9):1019–1029. doi: 10.1038/s41565-021-00926-z.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Информация об авторах

Сергей Владимирович Кравченко – кандидат медицинских наук, научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории психофизиологических исследований, Кубанский государственный технологический университет; доцент кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики, Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина, Краснодар, Россия; ksv.1991@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2733-1072>;

Артём Иванович Трофименко – кандидат медицинских наук, научный сотрудник, Краевая клиническая больница № 1 имени профессора С.В. Очаповского; доцент кафедры общей и клинической патологической физиологии, Кубанский государственный медицинский университет; заведующий научно-исследовательской лабораторией психофизиологических исследований, Кубанский государственный технологический университет, Краснодар, Россия; artemtrofimenko@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7140-0739>.

Игорь Владимирович Сухно – кандидат химических наук, доцент кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики, заведующий центром нанобиотехнологий, Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина, Краснодар, Россия; sukhno_igor@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7219-5108>

Владимир Юрьевич Бузько – кандидат химических наук, доцент кафедры падиофизики и нанотехнологий физико-технического факультета, Кубанский государственный университет, научный сотрудник центра нанобиотехнологий, Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина, Краснодар, Россия; buzkonmr@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6335-0230>

Анна Николаевна Гнеуш – кандидат сельскохозяйственных наук, заведующий кафедрой биотехнологии, биохимии и биофизики, Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина, Краснодар, Россия; gneush.anna@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4931-795X>

Статья поступила в редакцию 25.12.2023; одобрена после рецензирования 10.05.2024; принята к публикации 08.08.2024.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Information about the authors

Sergey V. Kravchenko – Candidate of Medical Sciences, Researcher at the Research Laboratory of Psychophysiological Research, Kuban State Technological University; Associate Professor of the Department of Biotechnology, Biochemistry and Biophysics, Kuban State Agrarian University named after I.T. Trubilin, Krasnodar, Russia; ksv.1991@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2733-1072>;

Artyom I. Trofimenko – Candidate of Medical Sciences, Researcher, Regional Clinical Hospital No. 1 named after Professor S.V. Ochapovsky; Associate Professor of the Department of General and Clinical Pathological Physiology, Kuban State Medical University; Head of the Research Laboratory of Psychophysiological Research, Kuban State Technological University, Krasnodar, Russia; artemtrofimenko@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7140-0739>.

Igor V. Sukhno – Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor of the Department of Biotechnology, Biochemistry and Biophysics, Head of the Center for Nanobiotechnology, Kuban State Agrarian University named after I.T. Trubilin, Krasnodar, Russia; sukhno_igor@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7219-5108>

Vladimir Yu. Buzko – Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor of the Department of Microbiophysics and Nanotechnology, Faculty of Physics and Technology, Kuban State University, Researcher at the Center for Nanobiotechnology, Kuban State Agrarian University named after I.T. Trubilin, Krasnodar, Russia; buzkonmr@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6335-0230>

Anna N. Gneush – Candidate of Agricultural Sciences, Head of the Department of Biotechnology, Biochemistry and Biophysics, Kuban State Agrarian University named after I.T. Trubilin, Krasnodar, Russia; gneush.anna@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4931-795X>

The article was submitted 25.12.2023; approved after reviewing 10.05.2024; accepted for publication 08.08.2024.