

## ЛИТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ *TRICHODERMA* И ИХ РОЛЬ ПРИ ЗАЩИТЕ РАСТЕНИЙ ОТ ГРИБНЫХ БОЛЕЗНЕЙ (Обзор)

© 2003 г. Н.А. Маркович, Г.Л. Кононова

Научно-исследовательский институт молекулярной биологии,

ГНЦ вирусологии и биотехнологий "Вектор" Минздрава РФ

пос. Кольцово Новосибирской области, 630559

[e-mail: namark@ngs.ru](mailto:namark@ngs.ru)

В обзоре рассмотрены литические ферменты микопаразитических грибов рода *Trichoderma*, способных подавлять ряд фитопатогенных грибов воздушного и почвенного происхождения. Проанализированы данные по регуляции продукции хитиназ,  $\beta$ -1,3-глюканаз и протеаз, молекулярным и каталитическим свойствам очищенных ферментов, их способности разрушать клеточные стенки, а также ингибировать прорастание спор и рост споровых различных видов фитопатогенных грибов *in vitro*. Представлены результаты работ по клонированию и экспрессии генов, кодирующих некоторые литические ферменты микопаразитических грибов *Trichoderma*. Эти гены использованы для получения трансгенных растений с повышенной устойчивостью к болезням растений, вызванных патогенными грибами. Получены трансформанты некоторых видов *Trichoderma*, у которых суперпродукция отдельной хитиназы или протеиназы приводит к более высокой степени подавления фитопатогенных грибов.

## ИНГИБИРОВАНИЕ ПЕРОКСИДАЗНОГО ОКИСЛЕНИЯ АРОМАТИЧЕСКИХ АМИНОВ ЗАМЕЩЕННЫМИ ФЕНОЛАМИ

© 2003 г. Д.И. Метелица\*, И.В. Наумчик\*, Е.И. Карасева\*, Г.И. Полозов\*\*,

О.И. Шадыро\*\*

\* Институт биоорганической химии НАН Белоруссии,

Минск, 220141; e-mail: metelitz@iboch.bas-net.by

\*\* Белорусский государственный университет, химический факультет, Минск, 220050

[e-mail: shadyro@open.by](mailto:shadyro@open.by)

Пероксидазное окисление о-фенилендиамина (ФДА) по конкурентному механизму ингибировали триметилгидрохинон (ТМГХ), 4-трет-бутил-пирокатехин (Ин5) и 4,6-трет-бутил-3-сульфанил-1,2-дигидроксибензол (Ин6). Наиболее эффективным ингибитором является Ин6, характеризующийся константой ингибирования  $K_i=11$  мкМ при 20° С в 0.015 М фосфат-цитратном буфере, рН 6.0. Ин5 и Ин6 не вызывали периодов индукции в образовании продуктов окисления ФДА в противоположность ТМГХ, действие которого характеризовалось периодом индукции. Пероксидазное окисление тетраметилбензидина (ТМБ) по неконкурентному механизму ингибировали Ин6 и 3-(2-гидроксиэтилтио)-4,6-ди-трет-бутил-пирокатехин (Ин4) и по смешанному типу - о-аминофенол (АФ). Все три ингибитора вызывали период индукции в образовании продукта окисления ТМБ. Наиболее эффективным был Ин6 ( $K_i = 16$  мкМ при 20° С в 0.015 М фосфат-цитратном буфере, рН 6.0, содержащим 5% этанола). По совокупности свойств целесообразно использовать пары ФДА-Ин5 и ФДА-Ин6 в тест-системах общей антиоксидантной активности биологических жидкостей человека.

## ВЫДЕЛЕНИЕ МИО-ИНОЗИТА ИЗ РАСТВОРОВ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ БИОТРАНСФОРМАЦИЕЙ

© 2003 г. Е.Н. Реут, М.М. Рахимов

Национальный университет Узбекистана им. Мирзо Улугбека, Ташкент, 700174

[reutlingen@freemail.ru](mailto:reutlingen@freemail.ru)

Изучены особенности трансферазной реакции, катализируемой фосфолипазой D, между фосфолипидами и инозитом на границе раздела фаз в системах вода-органический растворитель. Подобраны оптимальные условия синтеза фосфатидинозита в гетерогенной системе вода-органический растворитель. В системах с органическим растворителем гидрофобные компоненты (фосфолипиды) и водорастворимые продукты (спирты) легко разделялись. Показано, что добавленный в реакционную среду спиртовой субстрат метанол вытесняет мио-инозит из молекулы фосфатидинозита в системе гексан-вода. Проведением двухступенчатой трансферазной реакции с помощью фосфолипазы D из смеси изомеров был выделен мио-инозит.

## ВНЕКЛЕТОЧНАЯ ГЛЮКОЗОКСИДАЗА *PENICILLIUM FUNICULOSUM* 46.1

© 2003 г. Т.В. Семашко\*, Р.В. Михайлова\*, А.Н. Еремин\*\*

\*Институт микробиологии НАН Белоруссии, Минск, 220141,

[e-mail: enzyme@mbio.bas-net.by](mailto:enzyme@mbio.bas-net.by)

\*\*Институт биоорганической химии НАН Белоруссии, Минск, 220141

[e-mail: eryomin@iboch.bas-net.by](mailto:eryomin@iboch.bas-net.by)

С использованием ультрафильтрационных мембран разработан способ выделения внеклеточной глюкозооксидазы (ГО) гриба *Penicillium funiculosum* 46.1. Получены два образца фермента, которые характеризовались удельной активностью, равной 914-956 ME. Фермент проявлял высокую каталитическую активность при pH>6.0. Установлено, что эффективная константа скорости инактивации ГО при pH 2.6 равна  $2.74 \cdot 10^{-6} \text{ c}^{-1}$  (16° С) и существенно уменьшалась с повышением pH (4.0-10.0) среды. Температурный оптимум окисления β-D-глюкозы ГО находился в диапазоне 30-65° С. Показано, что до 30° С энергия активации окисления β-D-глюкозы равна 6.42, а выше - 0.61 ккал/моль. Кинетические параметры процесса окисления β-D-глюкозы с участием ГО зависели от исходной концентрации фермента в растворе. ГО катализировала также окисление 2-дезоксид-глюкозы, мальтозы и галактозы.

## СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ЛАККАЗ *CERRENA UNICOLOR* 059, *CERRENA UNICOLOR* 0784 И *PLEUROTUS OASTREATUS* 0432

© 2003 г. Е.В. Степанова\*, Т.В. Пегасова\*, В.П. Гаврилова\*\*, Е.О. Ландесман\*, О.В. Королева\*

\* Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН г. Москва, 119071

[e-mail: evst@inbi.ras.ru](mailto:evst@inbi.ras.ru)

\*\* Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, г. Санкт-Петербург, 197022

Проведено сравнительное изучение лакказ из базидиомицетов *Cerrena unicolor* 059, *C. unicolor* 0784 и *Pleurotus oastreatus* 0432. Лакказы выделены в гомогенном состоянии и

имели молекулярные массы 55, 56 и 57 кДа соответственно. Все исследованные ферменты были гликопротеинами. Углеводная часть, состоящая из маннозы, галактозы и N-ацетилглюкозамина, для лакказ из *C. unicolor* 059, *C. unicolor* 0784 и *P. Oastreatus* 0432 составляла 17, 23 и 24% и оптимумы pH ферментов - 4.0, 3.75 и 5.6 соответственно. Изучение термостабильности лакказ при 40 °С показало, что наиболее стабильным является фермент из *C. unicolor* 0784 (25% сохранения активности после 172 ч инкубации). Определены константы Михаэлиса ( $K_m$ ) реакций окисления пироксетаина, гидрохинона и калия ферроцианида лакказами базидиомицетов.

## **УЧАСТИЕ $\beta$ -КАРОТИНА В АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ КЛЕТКИ**

© 2003 г. Н.Н. Гесслер, А.В. Соколов, Т.А. Белозерская  
Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва, 119071  
[e-mail: gessler@inbi.ras.ru](mailto:gessler@inbi.ras.ru)

Исследовали влияние рекомбинантного  $\beta$ -каротина на устойчивость культуры *E. coli* к действию менадиона и параквата. Показано, что наличие  $\beta$ -каротина в клетке *E. coli* в значительной мере предотвращало увеличение активности супероксиддисмутазы, вызываемое редокс-медиаторами, но не оказывало влияния на рост культуры. Полученные данные свидетельствуют об участии  $\beta$ -каротина в защите клетки от окислительного стресса.

## **СОДЕРЖАНИЕ ВИТАМИНОВ В ДРОЖЖАХ РОДА *SACCHAROMYCES* В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ**

© 2003 г. Ш.А. Абрамов\*, С.Ц. Котенко\*, А.Ш. Рамазанов\*\*, Ф.И. Исламова\*  
\*Прикаспийский институт биологических ресурсов Дагестанский научный центр РАН,  
г. Махачкала, 367025,  
\*\*Дагестанский государственный университет, г. Мхачкала, 367025

Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии изучен качественный и количественный состав водорастворимых витаминов группы В в дрожжах рода *Saccharomyces*, культивируемых на различных питательных средах. Установлено, что новые штаммы дрожжей *Saccharomyces oviformis* Y-2635 и *Saccharomyces vini* Ф-5, выращенные на питательной среде с использованием геотермальной воды, отличаются повышенной биологической ценностью за счет более высокой внутриклеточной концентрации рибофлавина, тиамина, никотиновой и фолиевой кислот.

**ФИТОТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ САПРОТРОФНЫХ МИКРОМИЦЕТОВ  
ЧЕРНОЗЕМА: СПЕЦИФИЧНОСТЬ, СОРБЦИЯ И СТАБИЛЬНОСТЬ  
ФИТОТОКСИНОВ В ПОЧВЕ**

© 2003 г. И.Д. Свистова\*, А.П. Щербаков\*\*, Л.О. Фролова\*

\*Воронежский государственный педуниверситет, Воронеж, 394043

[e-mail:bot@vspn.as.ru](mailto:bot@vspn.as.ru)

\*\*Воронежский государственный университет, Воронеж, 394006

[e-mail:office@main.vsu.ru](mailto:office@main.vsu.ru)

Микромицеты, входящие в комплекс типичных видов сапротрофных грибов чернозема, выделяли в среду метаболиты с фитотоксическим действием, активность которых проявлялась непосредственно в почве. По результатам исследования степени токсичности, спектра биологического действия, активности и стабильности фитотоксинов в почве и скорости их биodeградации выбраны виды, которые могут служить индикаторами микробного токсикоза чернозема (*Aspergillus clavatus*, *Fusarium solani*, *Talaromyces flavus*, *Penicillium rubrum*, *P. funiculosum*).

**ВЫДЕЛЕННЫЕ ИЗ ВЕЧНОЙ МЕРЗЛОТЫ ГРИБЫ *PENICILLIUM  
AURANTIOGRISEUM DIERCKX* 1901 — ПРОДУЦЕНТЫ  
ДИКЕТОПИПЕРАЗИНОВЫХ АЛКАЛОИДОВ РОКЕФОРТИНА И 3,12-  
ДИГИДРОРОКЕФОРТИНА**

© 2003 г. А.Г. Козловский\*, В.П. Желифонова\*, В.М. Аданин\*, Т.В. Антипова\*, С.М. Озерская\*, Н.Е. Иванушкина\*, У. Грефе\*\*

\*Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пущино, 142290

[e-mail:Kozlovski@ibpm.serpukhov.su](mailto:Kozlovski@ibpm.serpukhov.su)

\*\*Институт по изучению природных продуктов им. Г. Кноля, Йена, Германия, D-07745

[e-mail:Ugraefe@pmail.hki-jena.de](mailto:Ugraefe@pmail.hki-jena.de)

Проведена идентификация вторичных метаболитов у трех штаммов гриба *P. Aurantiogriseum*, выделенных из древних вечномерзлотных отложений. Установлено, что грибы синтезируют дикетопиперазиновые алкалоиды рокефортин и 3,12-дигидророкефортин. Показано, что алкалоидообразование у штамма ВКМ FW-766 относится к процессам, связанным с ростом. Динамика содержания рокефортина и 3,12-дигидророкефортина при росте штамма на минеральной среде носит двухфазный характер.

**УСТАНОВЛЕНИЕ ПЕРВИЧНОЙ И ТОНКОЙ СТРУКТУРЫ ГАЛАКТОМАННАНА  
СЕМЯН *GLEDITSIA TRIACANTHOS* F. INERMIS L.**

© 2003 г. А.В. Егоров, Н.М. Местечкина, В.Д. Щербухин

Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва, 119071

[e-mail:vds@inbi.ras.ru](mailto:vds@inbi.ras.ru)

Впервые выделен галактоманнан — полисахарид из семян *Gleditsia triacanthos* f. *inermis* L. (выход 15.4 %) с молекулярной массой 660 кДа. Его растворы в воде обладали оптической активностью  $[\alpha]_D^{20} = +31.00$  и высокой вязкостью  $[\eta] = 578$  мл/г. Химическими и

энзиматическими методами, а также методами хроматографии и спектроскопии ИК- и <sup>13</sup>C-ЯМР установлено, что гетерополисахарид состоит из D-маннопиранозы и D-галактопиранозы в молярном соотношении 2.42:1. Макромолекула имеет главную цепь, построенную из 1,4-β-D-маннопиранозных остатков, 41% которых замещен по C-6 единичными остатками β-D-галактопиранозы. Вероятность встречаемости различно замещенных маннобиозных звеньев в цепи, определенная экспериментально, составляет для звена Ман-Ман 0.16, а для Гал(Ман-Ман) и (Ман-Ман)Гал - 0.50 и для двузамещенного звена Гал(Ман-Ман)Гал - 0.34.

## **ОБРАЗОВАНИЕ АЛКАЛОИДОВ ГРИБАМИ РОДА *PENICILLIUM* ПРИ РОСТЕ НА ЗЕРНЕ ПШЕНИЦЫ**

© 2003 г. Н.Г. Винокурова, Л.В. Бойченко, М.У. Аринбасаров  
Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им Г.К. Скрыбина РАН, Пушкино,  
Московская область, 142290  
[e-mail:arin@ibpm.serpukhov.su](mailto:arin@ibpm.serpukhov.su)

Изучена способность к синтезу алкалоидов при росте на зерне пшеницы у 13 штаммов, относящихся к 10 видам рода *Penicillium*. Показано, что подавляющее большинство изученных штаммов продуцируют одинаковый спектр алкалоидов при росте на зерне пшеницы и на синтетической среде Абе. У штамма *P. Chrysogenum* ВКМ F-1987 обнаружены рокефортин, 3, 12 дигидророкефортин и гландиколины А и Б; у штаммов *P. commune* ВКМ F-3088, F-3491 и КБП4 — фумигаклавины А и Б, фестуклавин и пироклавин; у *P. fellutanum* ВКМ F-1073 — агроклавин-1 и эпоксиагроклавин-1; у *P. fellutanum* F-3020 — феллутанин А; у *P. glandicola* ВКМ F-743 — рокефортин, 3,12-дигидророкефортин, мелеагрин и гландиколины А и Б; у *P. nalgiovense* ВКМ F-229 — аурантиклавин; у *P. roqueforti* ВКМ F-3624 — рокефортин, 3,12-дигидророкефортин и мелеагрин; у *P. vulpinum* ВКМ F-256 — рокефортин и оксалин; у *P. viridicatum* C-47 — α-циклопиазоновая кислота и ругуловазин Б. У штамма *P. rugulosum* ВКМ F-352 при росте на зерне пшеницы алкалоиды не обнаружены. Предложена упрощенная процедура извлечения алкалоидов из пораженного зерна.

## **ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ 1-АМИНОЦИКЛОПРОПАН-1-КАРБОНОВОЙ КИСЛОТЫ, АКТИВНОСТИ БЕЛКОВОГО ИНГИБИТОРА ПОЛИГАЛАКТУРОНАЗЫ, ИНТЕНСИВНОСТИ ОБРАЗОВАНИЯ ОЛИГОУРОНИДОВ В ПЛОДАХ ЯБЛОНИ ПРИ СОЗРЕВАНИИ И ДЕЙСТВИИ ГАЛОЭТАНПРОИЗВОДНЫХ И АМИНОЭТОКСИВИНИЛГЛИЦИНА**

© 2003 г. Е.А. Буланцева, Е.М. Глинка, М.А. Проценко, Е.Г. Салькова  
Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва, 119071  
[e-mail:inbi@inbi.ras.ru](mailto:inbi@inbi.ras.ru)

Изучали изменение интенсивности выделения этилена, накопления 1-аминоциклопропан-1-карбоновой кислоты при созревании яблок двух сортов, находящихся в различном физиологическом состоянии и обработанных галоэтанпроизводными и

аминоэтоксивинилглицином. При этом наблюдали изменение активности присутствующего в тканях плодов белкового ингибитора полигалактуроназы и накопления олигоуронидов. Обсуждается влияние предобработки ингибитором синтазы 1-аминоциклопропан-1-карбоновой кислоты на выделение этилена и накопление 1-аминоциклопропан-1-карбоновой кислоты, активность белкового ингибитора полигалактуроназы и потенциальную интенсивность образования олигоуронидов тканями яблок.

## **СТРУКТУРА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА БОБОВ *VICIA FABA L.* ПРИ ДЕЙСТВИИ 6-БЕНЗИЛАМИНОПУРИНА**

© 2003 г. Е.С. Роньжина

*Калининградский государственный технический университет, Калининград, 236000*

По мере роста и развития листа бобов (*Vicia faba L.*) изменялся уровень эндогенных цитокининов. Для ювенильных (25% окончательного размера —  $S_{max}$ ) листьев было характерно низкое содержание этих фитогормонов. Их уровень возрастал у растущих (50%  $S_{max}$ ) и снижался в закончивших рост листьях. В стареющих листьях количество цитокининов существенно уменьшалось. При экзогенной обработке 6-бензиламинопурином (БАП) не влиял на структуру терминальной флоремы, но стимулировал растяжение клеток мезофилла, увеличивал площадь и толщину листовой пластинки, количество фотосинтетических пигментов, повышал ассимиляционный потенциал, задерживал старение и опадание листьев, приводя к увеличению биомассы надземной части растений. Сделан вывод о потенциальной возможности использования БАП для усиления развития фотосинтетического аппарата и повышения урожая зеленой массы бобов.

## **АГРЕГИРУЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ ЗАПАСНЫХ БЕЛКОВ ЗЕРНА ЗЛАКОВ С РАЗЛИЧНЫМ КАЧЕСТВОМ КЛЕЙКОВИНЫ**

© 2003 г. В.А. Труфанов, М.Д. Пермякова, Е.В. Березовская

*Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, 664033*

[e-mail: gluten@sifbr.irk.ru](mailto:gluten@sifbr.irk.ru)

Изучено влияние рН, ионной силы и состава среды на процессы формирования макрокомплексов запасных белков зерна пшеницы, ржи и ячменя. Установлено, что агрегация белков происходит с участием различных нековалентных сил: электростатических и гидрофобных взаимодействий и водородных связей, действие которых носит совокупный характер и существенно зависит от биохимической природы запасных белков и факторов среды.



## **НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ МЕТОДА БИОСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ХРОМАТОГРАФИИ**

© 2003 г. И.Л. Валуев, Л.И. Валуев, Н.А. Платэ  
*Институт нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева РАН, Москва, 117912*  
[e-mail: ivaluev@ips.ac.ru](mailto:ivaluev@ips.ac.ru)

Методом радикальной сополимеризации синтезированы полиакриламидные гидрогели, содержащие ковалентно иммобилизованный овомукоид из белка утиных яиц. Показано, что полученные гидрогели защищают физически иммобилизованный в их объеме инсулин от гидролиза под действием протеолитических ферментов. Биоспецифическое взаимодействие полисахаридных участков овомукоида с лектинами обеспечивало направленный транспорт частиц модифицированного гидрогеля на стенки тонкого кишечника.

## **КОЛЛАГЕНОВЫЕ ФРАКЦИИ, ПОЛУЧАЕМЫЕ ВОДНО-СОЛЕВОЙ ЭКСТРАКЦИЕЙ ИЗ СЫРЬЯ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ**

© 2003 г. А.Д. Неклюдов, А.В. Бердугина, А.Н. Иванкин, С.И. Миталева,  
Е.А. Евстафьева  
*Всероссийский научно-исследовательский институт мясной промышленности  
им. В.М. Горбатова, Москва, 109316*  
[e-mail: aivankin@mgul.ac.ru](mailto:aivankin@mgul.ac.ru)

Выделены фракции коллагена, получаемые водно-солевой экстракцией коллагенсодержащего сырья животного происхождения, сухожилия и подкожный слой крупного рогатого скота (КРС), кожный покров свиней. Показано, что эффективное выделение коллагеновых фракций, обладающих максимальной водо- и жиросвязывающей способностью, происходит при температуре ниже 50 °С в результате экстракции водно-солевыми растворами, содержащими 1–10% хлорида натрия. Эффективные константы скорости экстракции коллагеновых фракций при рН 6.5, 9.0 и 12.0 составляют соответственно ( $\text{мин}^{-1}$ ):  $(2.7 \cdot 0.1 \pm 10^{-3})$ ;  $(6.2 \pm 0.5) \cdot 10^{-3}$ ; и  $(15.4 \pm 0.7) \cdot 10^{-3}$ . Найденные оптимальные условия позволяют получать белковые фракции коллагена, представляющие практический интерес для пищевой промышленности.

## **БЕЛКОВЫЕ ГИДРОЛИЗАТЫ, ПОЛУЧЕННЫЕ ИЗ РАКООБРАЗНЫХ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИМ СПОСОБОМ, КАК ОСНОВА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД**

© 2003 г. Г.Г. Няникова, Е.Э. Куприна, С.В. Водолажская  
*Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический  
университет), Санкт-Петербург, 198013*  
[e-mail: as@actor.ru](mailto:as@actor.ru)

Показана возможность использования белковых гидролизатов, полученных электрохимическим способом из ракообразных (гаммарус, креветка), в качестве основы микробиологических питательных сред. Отмечен хороший рост на экспериментальных

средах и типичная морфология колоний сапрофитных почвенных бактерий родов *Bacillus*, *Pseudomonas* и семейства *Enterobacteriaceae*.

**2-ой Московский Международный конгресс "Биотехнология: состояние и перспективы развития" и международная выставка "Мир биотехнологии-2003" 10-14 ноября, 2003 г., Москва.**

Подробная информация дана на сайте <http://www.biotechworld.ru>.