

БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ РАСТЕНИЙ С ПАЗАРИТИЧЕСКИМИ НЕМАТОДАМИ

© 2004 г. С.В. Зиновьева*, Н.И. Васюкова**, О.Л. Озерецковская**

*Институт паразитологии РАН, Москва, 119071, [e-mail: zinovievas@mail.ru](mailto:zinovievas@mail.ru)

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

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

Изложены сведения о молекулярных аспектах взаимоотношений фитопаразитических нематод с растениями-хозяевами. Приводятся данные о секретах нематод, воздействующих на растения (продукты "генов паразитизма", элиситоры, токсины и другие соединения), рассматриваются звенья информационных цепей взаимодействия паразитов и растений, начиная с элиситоров и заканчивая защитным ответом клетки. Основное внимание уделяется анализу защитных механизмов растений на нематодную инвазию (реакция сверхчувствительности, апоптоз, фитоалексины, ингибиторы протеиназ, PR-белки и др.) Рассмотрены вопросы генетики взаимоотношений нематод и растений. В заключении приводятся данные о перспективных практических направлениях защиты растений от паразитических нематод, разработанных на основе исследований молекулярных механизмов взаимоотношений нематод и растений.

ИНАКТИВАЦИЯ ГЛЮКОЗО-6-ФОСФАТ-ДЕГИДРОГЕНАЗЫ В РАСТВОРАХ НИЗКО- И ВЫСОКОЧАСТОТНЫМ УЛЬТРАЗВУКОМ

© 2004 г. Ж.В. Рачинская, Е.И. Карасева, Д.И. Метелица

Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, 220141,

[e-mail: metelitz@iboh.bas-net.by](mailto:metelitz@iboh.bas-net.by)

Проведено сравнительное изучение кинетики инактивации глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы (Г6ФДГ КФ 1.1.1.49) в 0.1 М фосфатном буфере, рН 7.4, при 36-50 С и воздействии на растворы низкочастотного (НЧ, 27 кГц, 60 Вт/см²) и высокочастотного (ВЧ, 880 кГц, 1.0 Вт/см²) ультразвука (УЗ). Инактивация Г6ФДГ охарактеризована эффективными константами скорости первого порядка: $k_{ин}$ - общая (суммарная) инактивация, $k_{ин}^*$ - термоинактивация и $k_{ин}(уз)$ - УЗ-инактивация. Все три константы скорости сильно возростали с разбавлением фермента от 20 до 3 нМ. Во всех случаях $k_{ин} > k_{ин}^*$. Константы скорости увеличивались с ростом температуры. Кривые зависимости $k_{ин}$ и $k_{ин}(уз)$ от температуры в координатах Аррениуса имели излом при 44 С. Энергии активации суммарной потери активности Г6ФДГ выше, чем Еакт в случае УЗ-инактивации фермента и зависели от частоты УЗ: при инактивации низкой частоты ультразвука (НЧ-УЗ) Еакт была выше, чем при воздействии высокой частоты (ВЧ-УЗ). Ловушки радикалов НО (диметилформамид, этанол, маннит) в невысоких концентрациях существенно снижали скорость УЗ-инактивации фермента, подтверждая участие свободных радикалов в механизме потери активности Г6ФДГ при обработке ее растворов НЧ- и ВЧ-УЗ. Этанол был эффективным протектором Г6ФДГ при воздействии УЗ на растворы фермента.

ТРАНСГЛЮКОЗИЛИРОВАНИЕ СТЕВИОЗИДА ЦИКЛОДЕКСТРИНГЛЮКАНОТРАНСФЕРАЗАМИ РАЗЛИЧНЫХ ГРУПП МИКРООРГАНИЗМОВ

© 2004 г. В.А.Абелян*, А.М.Балаян*, В.Т.Кочикян*, А.А.Маркосян**

*Институт микробиологии НАН Армении, 378510 Абовян, Армения

**Биотехнологическая корпорация "Стевиан", 50450 Куала Лумпур, Малайзия

Циклодекстринглюканотрансферазы (ЦГТаза, КФ 2.4.1.19) из мезофильных, термофильных, алкалофильных и галофильных бацилл использованы для трансгликозилирования стевиозида с циклодекстрином (ЦД) в качестве донора для устранения горечи и остаточного вкуса. Показано, что ЦГТазы экстремофильных микроорганизмов эффективные биокатализаторы трансгликозилирования. Оптимальный рН и температура для всех ферментов находились в пределах рН 6.5-7.5 и 45°C соответственно. Оптимальное соотношение стевиозида и ЦД и общая концентрация сухих веществ для получения продукта с наилучшими вкусовыми качествами были 1:1 (вес/вес) и 11.6% соответственно.

ЭКДИЗОН-20-МОНООКСИГЕНАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ ЦИТОХРОМА P₄₅₀ В РАСТЕНИЯХ И КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК *AJUGA REPTANS* L.

© 2004 г. Л.И.Алексеева

Институт биологии Коми научного центра УрО РАН, Россия, г. Сыктывкар, 167982, [e-mail: alexeeva@ib.komisc.ru](mailto:alexeeva@ib.komisc.ru)

Определены содержание цитохрома P₄₅₀ и экдизон-20-монооксигеназная активность в растениях и каллусной культуре клеток живучки ползучей *Ajuga reptans* L. Максимальное содержание экдистероидов и максимальная экдизон-20-монооксигеназная активность цитохрома P₄₅₀ обнаружены в листьях вегетирующих розеток интактных растений. В листьях генеративных растений в фазу цветения экдизон-20-монооксигеназная активность цитохрома P₄₅₀ выше, чем в других органах. Показано, что в каллусной культуре клеток содержание экдистероидов выше, чем в интактном растении при сохранении высокой экдизон-20-монооксигеназной активности.

ФЕНИЛ-ПИРАЗОЛОНЫ - НОВЫЙ КЛАСС РЕДОКС-МЕДИАТОРОВ ОКСИДОРЕДУКТАЗ ДЛЯ ДЕГРАДАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ

© 2004 г. С.В. Шлеев*, Ир Гвон Хан**, О.В. Морозова*, Ю.М. Мажуго*, А.С.

Халунина*, А.И. Ярополов*

* Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва, 119071, [e-mail: yaropolov@inbi.ras.ru](mailto:yaropolov@inbi.ras.ru)

**Всероссийский научно-исследовательский институт органических полупродуктов и красителей, Москва, 123995

Разработана схема отбора органических соединений с целью выявления новых медиаторов оксидоредуктаз, в частности лакказ и пероксидаз, используемых для детоксификации ксенобиотиков. Исследования проводили с использованием гомогенного препарата лакказы из базидиомицета *Trametes hirsuta*, а также пероксидазы из корня хрена. Отобрана группа соединений с общим названием 1-фенил-3-метил-пиразолон-ы. Проведено изучение

двух соединений данного класса (1-фенил-2,3-диметил-4-аминопиразолон-5*n*(4)-метансульфонат натрия (ФПNa) и 1-(3-сульфофенил)-3-метил-пиразолон (СФП)) спектральным и электрохимическим методами. Показано, что при электрохимическом окислении как ФПNa, так и СФП образуются высокопотенциальные промежуточные соединения, способные окислять модельное соединение лигнина - вератровый спирт. В ферментативной реакции с лакказой определены кинетические параметры этих соединений.

Показано, что при ферментативном окислении СФП лакказой образуются высокопотенциальные промежуточные соединения, способные подвергать окислительной деструкции вератровый спирт до вератровой кислоты. При ферментативном окислении СФП пероксидазой не происходило окисления вератрового спирта, что указывает на различный механизм ферментативного окисления ФПNa и СФП лакказой и пероксидазой.

СВОЙСТВА И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРАКТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ L-ГЛУТАМАТОКСИДАЗЫ *STREPTOMYCES SP. Z-11-6*.

© 2004 г. М.В. Сухачева, Н.И. Журавлева

Биологический факультет МГУ, Воробьевы горы, Москва, 119899б

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

Выделена и очищена внеклеточная L-глутаматоксидаза *Streptomyces sp. Z-11-6*, получен ферментный препарат с удельной активностью 50,8 ед./мг белка и выходом 40%. Изучены свойства фермента и разработан фотометрический метод определения активности аланин- и аспартат-трансаминаз, основанный на использовании полученной L-глутаматоксидазы и пероксидазы. Чувствительность метода позволила применить его для определения активности трансаминаз в биологических жидкостях. Присутствие других аминокислот не оказывало влияния на проведение определения и его результаты.

КВАРЦЕВЫЙ ПЕСОК - СОРБЕНТ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ГЛЮКОЗООКСИДАЗЫ *PENICILLIUM FUNICULOSUM 46.1*

© 2004 г. А.Н. Еремин*, А.П. Дрожженюк*, Г.К. Жавнерко**, Т.В. Семашко***, Р.В. Михайлова***

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

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

***Институт химии новых материалов НАН Белоруссии, Минск, 220141,*

[e-mail: zhavn@ns.ichnm.ac.by](mailto:zhavn@ns.ichnm.ac.by)

****Институт микробиологии НАН Белоруссии, Минск, 220141,*

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

Разработан способ выделения внеклеточной глюкозооксидазы (ГО, КФ 1.1.3.4) из фильтрата культуральной жидкости (ФКЖ) гриба *Penicillium funiculosum 46.1* с использованием аллювиального речного кварцевого песка в качестве сорбента. Модификация песка путем изменения заряда и полярности не позволяла в существенной степени увеличить его адсорбционную способность по отношению к ГО. Сравнена эффективность песка и окиси алюминия при выделении ГО из ФКЖ. ГО, выделенная из ФКЖ путем адсорбции на песке в объеме, характеризовалась более высокой удельной

каталитической активностью по сравнению с образцами фермента, полученными колоночной хроматографией ФКЖ. Песок проявил себя более эффективным сорбентом ГО *P. funiculosum* 46.1 по сравнению с окисью алюминия. Песок можно использовать при фракционировании частично очищенной ГО.

ИММОБИЛИЗАЦИЯ ШАМПАНСКИХ ДРОЖЖЕЙ ВКЛЮЧЕНИЕМ В КРИОГЕЛЬ ПВС, НОВЫЕ ПУТИ ПРЕДОТВРАЩЕНИЯ ВЫХОДА КЛЕТОК ИЗ МАТРИЦЫ НОСИТЕЛЯ

© 2004 г. Н.Н. Мартыненко*, И.М.Грачева*, Н.Г. Сарисвили**, А.Л. Зубов***, Г.И. Эль-Регистан****, В.И. Лозинский***

**Московский государственный университет пищевых производств, г.Москва, 125080*

***Всероссийский институт пивобезалкогольной и винодельческой промышленности, г. Москва, 119021*

****Институт элементарорганических соединений РАН, г. Москва, 117813*

*****Институт микробиологии РАН, г. Москва, 117312*

Исследован процесс шампанзации вин, проводимый с использованием шампанских дрожжей, иммобилизованных включением в криогели поливинилового спирта. Для предотвращения выхода клеток из матрицы носителя предложена обработка их определенными дозами ауторегуляторного фактора d-1. При этом в дрожжевых клетках ингибировались процессы роста и размножения, в то время как брожение проходило с прежней активностью, обеспечивая получение шампанского, не отличающегося по органолептическим и основным химическим показателям от изготовленного традиционным способом.

ЭКЗОПРОТЕИНАЗЫ ООМИЦЕТА *Phytophthora infestans*

© 2004 г. Е.Л. Гвоздева, Е.В. Иевлева, Н.Г. Герасимова, О.Л. Озерецковская, Т.А. Валуева

Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва, 119071, e-mail: valueva@inbi.ras.ru

При выращивании на среде, содержащей термостабильные белки из клубней картофеля, оомицет *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary продуцировал комплекс экзопротеиназ, проявляющих активность в области нейтральных и слабощелочных значений pH. С помощью метода ДДС-ПААГ-электрофореза в присутствии желатины показано, что экстрацеллюлярные протеиназы представлены, по крайней мере, шестью компонентами с различными значениями молекулярных масс. Результаты ингибиторного анализа и изучения активности ферментов по отношению к различным синтетическим субстратам указывали на то, что в культуральной жидкости *P. infestans* присутствовали преимущественно сериновые протеиназы с трипсино- и субтилизиноподобной специфичностью, а также металлопротеиназы. Их активность подавлялась белками-ингибиторами протеиназ из клубней картофеля. Высказано предположение, что

экзопроотеиназы *P. infestans* могут являться той метаболической мишенью, на которую направлено действие природных ингибиторов протеиназ картофеля.

ДИНАМИКА АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА ПОЛИГИДРОКСИАЛКАНОАТОВ У *RALSTONIA EUTROPHA*

© 2004 г. Т.Г. Волова, Г.С. Калачева, О.В. Горбунова, Н.О. Жила

*Институт биофизики Сибирского отделения Российской Академии наук. Академгородок,
660036, Красноярск.*

У водородных бактерий *Ralstonia eutropha* B5786 изучены в динамике характеристики накопления полигидроксибутирата (ПГБ), и активности ключевых ферментов метаболизма ПГБ: (β -кетотиолазы, ацетоацетил-КоА-редуктазы, ПГБ-синтазы, (D)-гидроксибутиратдегидрогеназы и ПГБ-деполимеразы) при различных условиях углеродного питания и обеспеченности субстратом. Выявлено, что наибольшая активность ферментов проявлялась в стадии ускорения скорости синтеза ПГБ. Активность деполимеризующих полимер ферментов (гидроксибутиратдегидрогеназы и ПГБ-деполимеразы) в период его накопления была низка и проявлялась только при стимулированной эндогенной деградации ПГБ. При смене типов углеродного субстрата (CO_2 , фруктоза) существенных различий в динамике активности ферментов не обнаружено.

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ШТАММОВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ ИЗ КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ "НАРИНЭ", "КАРИНЭ" и "МАЦУН"

© 2004 г. А.О.Мартиросян*, Ш.Л.Мнджоян*, Л.М.Чарян**, Л.Г.Акопян**,
М.Н.Никищенко*

**Институт тонкой органической химии им. А.Л.Мнджояна НАН РА. г.Ереван 375014*

***Институт микробиологии НАН РА. г. Абовян 378510*

Изучены антимикробные свойства штаммов молочнокислых бактерий из кисломолочных продуктов "Наринэ", "Каринэ" и "Мацун". Сыворотки кисло-молочных продуктов включали две основные фракции - сахаров и L-молочной кислоты, ее натриевой и кальциевой солей. Показано, что антимикробные свойства продуктов "Наринэ", "Каринэ" и "Мацун" обусловлены L-молочной кислотой и ее натриевой и кальциевой солями.

ВЛИЯНИЕ ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ И КОМПОСТА НА ДЕГРАДАЦИЮ НЕФТЕПРОДУКТОВ В ПОЧВЕ.

© 2004 г. Тен Хак Мун, О.А. Кириенко, Е.Л. Имранова

Институт водных и экологических проблем ДВО РАН, Хабаровск, 680000,

[e-mail: Jenkh@pop.redcom.ru](mailto:Jenkh@pop.redcom.ru)

Установлено, что при добавлении дизельного топлива и отработанного моторного масла в почву происходит стимуляция углеводородокисляющих микроорганизмов, среди которых большую долю составляют бактерии, принадлежащие кориннеподомным группам. Добавление жидкой культуры фотосинтезирующих бактерий в почву способствует не только деградации нефтепродуктов, но и стимулирует рост углеводородокисляющих микроорганизмов. Совместное внесение культуры фотосинтезирующих бактерий и компоста в почву, подвергшуюся нефтяному загрязнению, еще более повышает численность углеводородокисляющих бактерий и значительно ускоряет деградацию поллютанта.

ПРОРАСТАНИЕ БАЗИДИОСПОР *Agaricus bisporus*.

© 2004 г. Е.П. Феофилова*, В.М. Терешина*, Л.В.Гарибова**, Л.А.Завьялова, ** А.С. Меморская* , Н.С. Марышова***

* *Институт микробиологии РАН, Москва, 117813*

** *Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова*

****ООО "Компания АСКОР", Москва*

Изучен тип покоя и условия прорастания базидиоспор (БС) *Agaricus bisporus*. БС не прорастали на голодном агаре, для выхода из состояния покоя нуждались в присутствии в среде источников углерода и азота (аспарагин, глюкоза). После 3 нед хранения прорастали через 4-5 суток. Активации прорастания способствовал температурный шок (20 мин при 45 °С) и выдерживание при низкой температуре. Гетероциклические соединения - стимуляторы прорастания эндогенно покоящихся спор такие, как фурфурол, не активировали прорастание. Полученные данные позволили заключить, что БС *A. bisporus* находились в состоянии эндогенного покоя, отличающегося от такового у зигоспор *Mucorales*. БС содержали 17-19 % липидов, состав жирных кислот которых отличался от такового в шляпке и ножке базидиомы. Растворимые углеводы цитозоля составляли 12 % массы сухих спор и представлены маннитом (74%) и трегалозой (26%). В отличие от БС, хранившихся при 2 °С, после 5 мес хранения при 200С споры утрачивали способность к прорастанию, что коррелировало со снижением количества трегалозы.

ПОЛУЧЕНИЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МАГНИТНЫХ БИОСОРБЕНТОВ В МЕТОДАХ ИММУНОАНАЛИЗА АНТИГЕНОВ МИКРООРГАНИЗМОВ.

© 2004 г. С.М. Кальной*, В.И. Гончаров**, Н.Ф. Василенко*

*Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт, 355106, Ставрополь, [e-mail: admnip@statel.stavropol.ru](mailto:admnip@statel.stavropol.ru)

**Ставропольская государственная медицинская академия, 355017, Ставрополь

Показана возможность придания эритроцитам магнитных свойств (биомагносорбенты - БМС), которые они приобретали в результате их экспозиции при комнатной температуре в течении 48 ± 2 ч в 15-25%-ном водном растворе аммиака и высушивании после каждой операции. Показана возможность иммобилизации лигандов на магнитных эритроцитах (МЭ) и получения биомагноиммуносорбентов (БМИС) с последующим их использованием в ИФА при обнаружении антигенов чумного и туляреминого микробов. В ИФА на основе БМИС чувствительность составила 10 нг/мл и 100 микробных кл./мл (м.к./мл). Относительная ошибка анализа не превышала 8%.

КОНКУРЕНТНОЕ ИММУНОХИМИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИГЕНОВ С ПОМОЩЬЮ КОНЬЮГАТОВ, СОДЕРЖАЩИХ ИОНЫ СО(II) И NI(II).

© 2004 г. Ю.И. Дыхал, Э.П. Медянцева, Н.Р. Муртазина, Н.В. Калачева, Г.К. Будников
Казанский государственный университет, химический факультет, Казань, 420008, [e-mail: Elvina.Medyantseva@ksu.ru](mailto:Elvina.Medyantseva@ksu.ru)

Разработан новый вариант конкурентного гетерогенного иммуноанализа некоторых антигенов, отличительной особенностью которого является использование конъюгатов, содержащих исследуемый белок и ионы Со(II) и Ni(II), иммобилизованных антител и применение эффекта каталитического выделения водорода для вольтамперометрической регистрации меток ионов металла на заключительной стадии анализа. Конъюгаты охарактеризованы методами спектрофотометрии, вольтамперометрии, атомно-адсорбционной спектроскопии, ядерно-магнитной релаксации. Иммуноконъюгат РНКазы-диэтилентриаминопентауксусная кислота-Со(II) (10:4:4) использовали для разработки методики конкурентного иммуноанализа РНКазы в области концентраций $2 \cdot 10^{-2} - 2 \cdot 10^{-4}$ мг/мл.

ОСОБЕННОСТИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КАЛЛУСНОЙ ТКАНИ *Iris ensata* Thunb.

© 2004 г. Е. В. Болтенков*, В. Г. Рыбин**, Е. В. Зарембо***

*Биолого-почвенный институт ДВО РАН, Владивосток, 690022, [e-mail: boltenkov@rambler.ru](mailto:boltenkov@rambler.ru)

**Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр, Владивосток, 690950

***Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН, Владивосток, 690022

Из зиготических зародышей касатика мечевидного (*Iris ensata* Thunb.) на среде Мурасиге-Скуга, дополненной 2 мг/л -нафтилуксусной кислоты и 0.5 мг/л 6-бензиламинопурина (БАП), получена длительно пассируемая каллусная культура. Установлено, что для каллусогенеза необходимо использовать изолированные зародыши в восковой фазе

развития эндосперма. Оптимальная комбинация фитогормонов для роста каллусной ткани - 1 мг/л 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты и 0.5 мг/л БАП. Исследован пигментный состав каллусной культуры *I. ensata*. Показано, что в субкультивируемой каллусной ткани содержатся красные пигменты флавоноидной природы. В стрессовых условиях культивирования образуются желтые пигменты, а содержание красных пигментов в ткани возрастает.

**ВОЗДЕЙСТВИЕ СИСТЕМНЫХ СИГНАЛЬНЫХ МОЛЕКУЛ НА СКОРОСТЬ
РАСПРОСТРАНЕНИЯ ПО ТКАНЯМ КАРТОФЕЛЯ ИММУНИЗИРУЮЩЕГО
ЭФФЕКТА ЭЛИСИТРОВ.**

© 2004 г. О.Л. Озерецковская*, В.П. Варламов**, Н.И. Васюкова*, Г.И. Чаленко*, Н.Г. Герасимова*, Я.С. Панина*

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

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

**Центр "Биоинженерия" РАН, Москва, 119312

Мобильные системные сигнальные молекулы (салициловая и жасмоновая кислоты) усиливают и ускоряют распространение по тканям клубня картофеля (*Solanum tuberosum* L.) системного иммунизирующего эффекта элиситоров (арахидоновой кислоты и хитозана).