

ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ ФАКТОРЫ АДАПТАЦИИ БАКТЕРИЙ К НЕБЛАГОПРИЯТНЫМ УСЛОВИЯМ СРЕДЫ

© 2004 г. Ю.А. Николаев

Институт микробиологии РАН, Москва, 117811, e-mail: nikolaevya@mail.ru

Рассмотрены сведения о внеклеточных соединениях бактерий, участвующих в их адаптации к неблагоприятным условиям среды: высоким и низким температурам, рост-ингибирующим и бактерицидным концентрациям токсичных веществ (окислители, фенолы, тяжелые металлы), антибиотиков, неблагоприятным значениям pH и солености. Идентифицированные соединения по химической природе относятся к разным типам, они представлены белками, углеводородами, органическими кислотами, нуклеотидами, аминокислотами, липопептидами, летучими соединениями. Большая часть таких соединений в настоящее время не идентифицирована, а свойства их изучены при использовании биотестов. Предлагается рассматривать внеклеточные факторы адаптации (ВФА), как новую группу биологически активных веществ. По механизму действия внеклеточные факторы адаптации можно разделить на несколько групп; протекторы (стабилизаторы), вещества сигнальной природы, являющиеся индукторами защитных механизмов клетки; регуляторы – не индукторы, (например, регуляторы адгезии); “противоядия” и нейтрализующего действия. Основными направлениями изучения ВФА являются поиск новых соединений (на основе биотестов), их идентификация и исследование механизмов действия. Внеклеточные факторы адаптации могут найти широкое практическое применение в биотехнологии, медицине, сельском хозяйстве и охране окружающей среды.

ИНГИБИРОВАНИЕ УРЕАЗЫ ЦИКЛИЧЕСКИМИ -ТРИКЕТОНАМИ И ФТОРИД-ИОНОМ

© 2004 г. Е.И. Тарун, Д.Б. Рубинов, Д.И. Метелица

*Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, 220141,
e-mail: metelitz@iboch.bas-net.by*

Изучено конкурентное ингибирование уреазы соевых бобов в водном растворе, при 36 °С, pH 7.4,—11 циклическими β-трикетонами и количественно охарактеризовано константой ингибирования K_i , которая сильно зависит от структуры органических хелатирующих агентов атомов никеля уреазы и изменяется в пределах 58.4—847 мкМ. В тех же условиях аналог субстрата — гидроксимочевина является слабым ингибитором уреазы ($K_i = 6.47$ мМ). При 20 °С конкурентное ингибирование уреазы лигандом атомов никеля— фторид-анионом сильно зависит от pH водных растворов в интервале 3.85—6.45 и характеризуется величинами K^i , равными 36.5—4060 мкМ при указанных pH. Наиболее перспективными ингибиторами уреазы являются 3 нетоксичных циклических β-трикетона с величинами K^i при 36 °С, равными 58.4; 71.4 и 88.0 мкМ соответственно, эффективность которых определяется наличием 3 >C=O-групп в молекуле и минимальными стерическими препятствиями при связывании с металлоцентрами уреазы соевых бобов.

ИССЛЕДОВАНИЕ БЕЛКА-ИНАКТИВАТОРА АДГЕЗИВНОГО ГЛИКОПРОТЕИНА ИЗ СЫВОРОТКИ КРОВИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

© 2004 г. В.П. Ямскова*, Е.Ю. Рыбакова*, А.А. Виноградов**, В.В. Вечеркин**,
И.А. Ямсков**

* *Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, 117808*

** *Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН, Москва
117813*

Из сыворотки крови крупного рогатого скота был выделен и очищен до гомогенного состояния белок с молекулярной массой 70 кДа, обратимо инактивирующий адгезивный сывороточный гликопротеин (СГП) с молекулярной массой 12 кДа, который проявлял биологическую активность в сверхмалых дозах. Данные анализа аминокислотного состава белка-инактиватора позволили отнести его к группе преальбуминов сыворотки крови позвоночных. Вторичная структура молекулы белка-инактиватора характеризовалась высоким содержанием α -спиралей. Изучены условия инактивации СГП. Показано, что взаимодействие белка-инактиватора с СГП протекало длительно, в течении 1 сут, причем обязательным условием инактивации СГП являлось присутствие ионов кальция. На основании полученных данных высказано предположение о том, что инактивация СГП происходит в результате образования молекулярного комплекса между инактиватором и СГП, в основе которого лежит углевод-белковое взаимодействие.

БРОМАЦИАЛЬНЫЕ АНАЛОГИ ФОСФАТИДИЛХОЛИНА С ВНУТРИМОЛЕКУЛЯРНО ПОТУШЕННОЙ ФЛУОРЕСЦЕНЦИЕЙ В КАЧЕСТВЕ СУБСТРАТОВ ДЛЯ НЕПРЕРЫВНОЙ РЕГИСТРАЦИИ АКТИВНОСТИ ФОСФОЛИПАЗЫ A_2

© 2004 г. С.В. Бабицкая, М.А. Кисель, П.А. Киселев

*Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, 220141,
[e-mail: babitskaya@iboch.bas-net.by](mailto:babitskaya@iboch.bas-net.by)*

Посредством замены ацильных цепей на остатки пиренмасляной и бромсодержащих жирных кислот, получены два новых производных фосфатидилхолина с внутримолекулярно потушенной флуоресценцией. Показана возможность использования обоих соединений для количественной оценки каталитической активности панкреатической фосфолипазы A_2 в кинетическом режиме.

ФОРМИРОВАНИЕ КОМПЛЕКСОВ ДНК С АКТИНОМИЦИНАМИ В ВОДНЫХ РАССТВОРАХ И ПЛЕНКАХ

© 2004 г. И.В. Савинцев, Н.Л. Векшин

*Институт биофизики клетки РАН, г. Пущино, Московская область, 142290,
[e-mail: savintsev@inbi.ras.ru](mailto:savintsev@inbi.ras.ru)*

Изучен механизм взаимодействия ДНК с актиномицином D (AMD), 7-амино-актиномицином D (7-AAMD), а также этидием бромидом (EtBr) в водных растворах и конденсированном состоянии в пленках на пластинах. Использование методов

абсорбционной (в УФ-, ИК- и видимой области) и флуоресцентной спектроскопии (стационарной, поляризационной и фазово-модуляционной) показало, что образование комплекса 7-ААМД с ДНК в растворе не сопровождалось переносом энергии с фотовозбужденных нуклеотидов на фенаксозоновый хромофор антибиотика и встраивание лиганда происходило не по типу стэкинга. В пленке комплекса ДНК-7-ААМД, моделирующей нативное состояние в клетке, наблюдалась высокая эффективность переноса энергии, что свидетельствовало об интеркаляции актиномина в ДНК по стэкинговому типу. В больших концентрациях 7-ААМД в пленке индуцировал денатурацию ДНК, нарушая двуспиральную структуру. В комплексе с АМД молекула ДНК сохранялась в нативной В-форме как в пленках, так и в растворе.

ГИДРОЛИЗ ГЕПАРИНА ИММОБИЛИЗОВАННЫМ ФЕРМЕНТНЫМ КОМПЛЕКСОМ ИЗ *Streptomyces kurssanovii*

© 2004 г. Г.Е. Банникова*, П.П. Столбушкина**, Н.Н. Дрозд***, Г.А. Вихорева**, В.П. Варламов*, В.А.Макаров***, А.В. Панов****

*Центр “Биоинженерия” РАН, Москва, 117312, [e-mail: varlamov@biengi.ac.ru](mailto:varlamov@biengi.ac.ru)

**Московский Государственный Текстильный Университет, Москва, 119991

***Гематологический Научный Центр РАМН, Москва, 125167

**** Российский химико-технологический университет, Москва, 125820

Показана возможность получения низкомолекулярных гепаринов с использованием иммобилизованного на силихроме ферментного хитинолитического комплекса из *Streptomyces kurssanovii*. Определены оптимальные условия процесса: Na-ацетатный буфер, pH 7—7,5, температура 40—45 °C, продолжительность гидролиза 3 ч. В зависимости от соотношения гепарин/иммобилизованный ферментный комплекс были получены образцы с молекулярной массой от 1,7 до 4,7 кДа, обладающие ингибирующей фактор Ха активностью в 2,0—3,7 раз большей, чем у исходного гепарина.

ГИДРОЛИЗ ПЕПТИДОВ ИММОБИЛИЗОВАННЫМИ БАКТЕРИАЛЬНЫМИ ПЕПТИД-ГИДРОЛАЗАМИ

© 2004 г. А.Д. Неклюдов, Е.К. Денякина

Московский государственный университет леса, г. Мытищи, Московская область, 141001, [e-mail: aivankin@mgul.ac.ru](mailto:aivankin@mgul.ac.ru)

Изучена возможность использования для гидролиза смеси пептидов фермента из бактерий *Xanthomonas rubrilineans* с пептидазной активностью, иммобилизованного на оксиде алюминия. Представлены кинетические схемы и уравнения, позволяющие приблизиться к количественному описанию процесса гидролиза пептидов в сложных смесях, содержащих свободные аминокислоты и пептиды. Показано, что в результате гидролиза удастся увеличить в 2,5-3 раза содержание свободных аминокислот в гидролизатах и уменьшить в 2 раза молекулярную массу входящих в их состав пептидов.

ВЛИЯНИЕ ГИДРООКИСИ ЖЕЛЕЗА НА УДАЛЕНИЕ ФОСФАТА ПРИ АНАЭРОБНОМ СБРАЖИВАНИИ АКТИВНОГО ИЛА

© 2004 г. В.П. Стабников*, С.Т.-Л. Тэй**, Д.-Х. Тэй**, В.Н. Иванов***

*Национальный университет пищевых технологий, Киев, 01017,

[e-mail: stab@svitonline.com](mailto:stab@svitonline.com)

**Наньянгский технологический университет, Сингапур

***Украинское отделение Международного центра научной культуры, Киев

Добавление гидроокиси Fe(III) при метаногенном сбраживании активного ила анаэробным илом, обладающим железовосстанавливающей активностью, ведет к микробному восстановлению Fe(III) и образованию ионов Fe(II), которые осаждают фосфаты. Показана возможность удаления от 66.6 до 99.6% растворенного фосфата при его начальной концентрации от 1000 до 3500 мг PO₄³⁻/л путем добавления 6420 мг/л гидроокиси Fe(III) в реактор анаэробного сбраживания активного ила. Оптимальным соотношением мг добавленного Fe(III)/мг удаленного растворенного фосфата, при котором достигалось не менее 95% удаления растворенного фосфата, было 2. Эти результаты могут быть использованы в новой технологии анаэробной очистки сточных вод с одновременным удалением фосфата.

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА РОСТ, АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ МЕТАБОЛИЗМА СЕРЫ И КАРБОКСИЛАЗ У *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* subsp. *asporogenes*, ШТАММ 41

© 2004 г. М.А. Егорова*, И.А. Цаплина**, Л.М. Захарчук*, Т.И. Богданова**, Е.Н. Красильникова*

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, 119992, [e-mail: egorovamasha@yahoo.com](mailto:egorovamasha@yahoo.com)

**Институт микробиологии РАН, Москва, 117811

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, 119992, [e-mail: tsaplina@inmi.host.ru](mailto:tsaplina@inmi.host.ru)

Умеренно термофильная ацидофильная бактерия *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* subsp. *asporogenes*, штамм 41 способна в качестве источника энергии использовать сульфиды золото-мышьякового концентрата и элементную серу. В присутствии S₀ в авто- и миксотрофных условиях рост менее стабилен, чем на средах, содержащих закисное железо. В клетках сульфобацилл, выращенных на минеральной среде с 0,02% дрожжевого экстракта с добавлением серы или закисного железа и тиосульфата, обнаружены ферменты, участвующие в окислении неорганических соединений серы: тиосульфатокисляющий фермент, тетратионатгидролаза, роданаза, аденилилсульфатредуктаза, сульфитоксидаза и серадиоксигеназа. В бесклеточных экстрактах культуры, выросшей на среде с серой в авто- или миксотрофных условиях, выявлена активность ключевого фермента цикла Кальвина — рибулозобисфосфаткарбоксилазы, а также некоторых ферментов гетеротрофной фиксации углекислоты. Активность карбоксилирующих ферментов зависела от состава среды культивирования бактерии.

МИКРООРГАНИЗМЫ ОЗЕР БАЙКАЛ И НЬЯСА КАК ИНДИКАТОРЫ АНТРОПОГЕННОГО ВЛИЯНИЯ И ПЕРСПЕКТИВА ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В БИОТЕХНОЛОГИИ

© 2004 г. В.А. Верховина*, Е.В. Верховина**, Д.А. Гончар***, В.С. Дедков***,
С.Х. Дегтярев***, Ю.С. Куснер*

*Институт геохимии им. А.П. Виноградова СО РАН, Иркутск, 664033,
[e-mail: verhval@igc.irk.ru](mailto:verhval@igc.irk.ru)

**Институт эпидемиологии и микробиологии СО РАМН, Иркутск, 664003

***ООО "СибЭнзим", Новосибирск, 630117, [e-mail: gonchar@sibenzyme.ru](mailto:gonchar@sibenzyme.ru)

В 650 штаммах, выделенных из водной толщи и донных осадков глубоких рифтовых озер мира Байкал (Россия) и Ньяса (Юго-Восточная Африка), выявлены эндонуклеазы рестрикции (рестриктазы). Изучение спектра ферментов рестрикции бактериальных штаммов позволило выявить наличие уникальных (Fan I, Aca I, Sse 91), а также весьма редких, не типичных для водных экосистем ферментов (Bsi I, Cci N I). В чистых участках водной толщи, в кернах глубинного бурения и донных отложениях Байкала и Ньясы обнаружены только известные ферменты рестрикции. Полученные результаты дают основания полагать, что в прибрежной части Байкала, находящейся под антропогенным влиянием, могут появляться мутантные штаммы бактерий с неизвестными ранее рестриктазами.

КАРОТИНОИДЫ И ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ В КРАСНЫХ ДРОЖЖАХ

Sporobolomyces roseus И *Rhodotorula glutinis*

© 2004 г. П. Даволи*, В.А. Мирау**, Р.В.С. Вебер**

*Кафедра химии, Университет г. Модены, 183, 41100 Модена, Италия

***Кафедра биотехнологии, Университет г. Кайзерслаутерна, 67663 Кайзерслаутерн,
Германия, [e-mail: rwsweber@rhrk.uni-kl.de](mailto:rwsweber@rhrk.uni-kl.de)

Показано, что изменение режима аэрации при культивировании *Rhodotorula glutinis* и *Sporobolomyces roseus* приводило к изменению состава и количества синтезируемых каротиноидов. При повышенной аэрации концентрация каротиноидов в клетках *R. glutinis* возрастала как в расчете на биомассу так и по отношению к жирным кислотам, но при этом состав оставался без изменения: торулин: > β-каротин > γ-каротин > торулародин. В отличие от *R. glutinis*, *S. roseus* в условиях повышенной аэрации синтезировал больше β-каротина, чем торулина и торулародина, за счет переключения биосинтеза каротиноидов в точку разветвления у γ-каротина. Общий уровень каротиноидов при повышенной аэрации составил 0.55 и 0.50 моль-% по отношению к содержанию жирных кислот, 206 и 412 мкг/г сухой биомассы у *R. glutinis* и *S. roseus* соответственно.

ВЛИЯНИЕ 5-АЗАЦИТИДИНА НА СВЕТОЧУВСТВИТЕЛЬНОЕ ОБРАЗОВАНИЕ ПОЛОВЫХ И БЕСПОЛЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ СТРУКТУР У МУТАНТОВ *ws-1* И *ws-2 Neurospora crassa*

© 2004 г. С.Ю. Филиппович, Г.П. Бачурина, М.С. Крицкий

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

В условиях голода по азоту освещение синим светом *ws-1* и *ws-2* мутантов аскомицета *Neurospora crassa* не приводило к стимуляции образования протоперитециев и ингибированию формирования конидий, наблюдавшихся на мицелии дикого типа гриба. Полученные данные свидетельствуют об участии генов *ws-1* и *ws-2* в светозависимом образовании протоперитециев и конидий *N. crassa*. Учитывая действие ингибитора метилирования ДНК, 5-азацитидина, на процессы развития в этих же условиях, предполагается, что баланс между образованием половых и бесполов репродуктивных структур, поддерживаемый в организме *N. crassa*, зависит от процессов метилирования генома, чувствительных к действию света, опосредованному фоторецепторным комплексом WC-белков.

ШТАММ *Comamonas testosteroni* T1 КАК ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ ОСНОВА КЛЕТОЧНОГО СЕНСОРА ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

© 2004 г. Л.А. Таранова**, А.П. Фесай**, Г.В. Иващенко**, А.Н. Решетилов*, М. Винтер-Нильсен***, Д. Эмнеус****

*Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, 142292, г. Пушкино **Институт биокolloидной химии им. Ф.Д. Овчаренко НАН Украины, 252680, г. Киев

***Институт водных экосистем, Хоршолм, Дания

****Лундский Университет, Лунд, Швеция

Исследована модель клеточного биосенсора на основе штамма *Comamonas testosteroni* T1, деструктора неионогенного поверхностно-активного вещества (НПАВ) — нонилфенолэтоксилата (ОП-10). Нижний предел обнаружения для биосенсора по отношению к НПАВ составил 0.25 мг/л. Исследована субстратная специфичность биосенсора по отношению к широкому спектру органических соединений — поверхностно-активных веществ (ПАВ), полиароматических углеводов (ПАУ), углеводов, спиртов и других соединений. Показано, что биосенсор на основе штамма *Comamonas testosteroni* T1 характеризовался отсутствием сигнала на глюкозу, что является преимуществом по сравнению с ранее описанным биосенсором на основе штамма *Pseudomonas rathonis* T. Величина сигнала сенсора оставалась стабильной на протяжении 10 сут.

ИММУНОФЕРМЕНТНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТОЛБНЯЧНОГО ТОКСИНА И АНАТОКСИНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ

© 2004 г. М.А. Буркин*, В.В. Свиридов*, О.В. Перелыгина**

*Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова РАМН, Москва, 103064, e-mail: burma@mail.magelan.ru

**Государственный научно-исследовательский институт стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л.А. Тарасевича РАМН, Москва, 123022

Описано получение моноклональных антител ТТ-1, ТТ-2 и ТТ-3 к столбнячному токсину/анатоксину. Показана возможность использования в качестве иммуногена как коммерческой коклюшно-дифтерийно-столбнячной вакцины, так и столбнячного анатоксина, конъюгированного с низкомолекулярным гаптенем. Антитела ТТ-1 и ТТ-2 нейтрализовали столбнячный токсин в тесте *in vivo*. На основе использования полученных моноклональных антител проведены разработка и сравнение нескольких вариантов количественного определения столбнячных анатоксина и токсина в иммуноферментном анализе. Более чувствительный конкурентный ИФА позволял выявлять до 0.01 ЕС/мл анатоксина и до 50 LD₅₀/мл токсина.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ФУКОЛЕКТИНА ОКУНЯ С ЛЬЮИСОВЫМИ АНТИГЕНАМИ

© 2004 г. В.Е. Пискарев*, Т.Л. Бушуева**, И.А. Ямсков*

*Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН, Москва, 119991, e-mail: piskarev@ineos.ac.ru

**Институт экспериментальной кардиологии Кардиологического научного центра России, Москва, 121552

Изучено взаимодействие фуколектина окуня *Perca fluviatilis* (PFL) с серией льюисовых антигенов по изменению его триптофановой флуоресценции. PFL связывался с Le^c (Н тип 1)-пентасахаридом ($K_a = 6.6 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1}$) и Н тип 6-трисахаридом ($K_a = 2.5 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1}$), существенно слабее с Leb-гексасахаридом ($K_a = 4.0 \cdot 10^2 \text{ M}^{-1}$), а Le^a-, Le^x- и Le^d-содержащие олигосахариды с PFL не взаимодействовали. PFL относится к новому типу фуколектинов, узнающих Н-дисахарид Fuc?1-2Gal в составе различных антигенов, в том числе в Н тип 1/2 и Le^b.

ВЛИЯНИЕ АМБИОЛА НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ МИТОХОНДРИЙ В КЛЕТКАХ АПЕКСОВ КЛУБНЕЙ ИСХОДНЫХ И ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ

© 2004 г. Т.А. Платонова, А.С. Евсюнина, Н.П. Кораблева

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

Проведено сравнительное ультраструктурное и морфометрическое изучение митохондриального аппарата клеток апексов клубней исходного и трансформированного по гену дефензина (трансгенного) картофеля в норме и под действием регулятора роста амбиола. Не обнаружено качественных и количественных различий между митохондриями клеток исходных и трансгенных растений картофеля в контроле. Под действием амбиола отмечены лишь количественные различия в числе и объеме митохондрий между клетками исходных и трансгенных форм, что может быть связано как с физиолого- биохимическими

изменениями в трансгенных растениях, вызванными экспрессией гена дефензина (гормональный баланс, функциональная активность цитоплазматической мембраны и др.), так и с влиянием амбиота на эти параметры.