

## ПЕРСПЕКТИВЫ ПРАКТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ СУБСТРАТСВЯЗЫВАЮЩИХ МОДУЛЕЙ ГЛИКОЗИЛГИДРОЛАЗ (ОБЗОР)

© 2004 г. И.Ю. Волков, Н.А. Лунина, Г.А. Великодворская

Институт молекулярной генетики РАН, Москва, 123182, [e-mail: velik@img.ras.ru](mailto:velik@img.ras.ru)

В обзоре рассмотрены свойства субстратсвязывающих модулей гликозилгидролаз. Благодаря вариабельности свойств использование модулей в составе химерных белков – перспективная и быстро развивающаяся область биотехнологии. Описаны примеры использования субстратсвязывающих модулей гликозилгидролаз для иммобилизации белков и целых клеток на полисахаридах, очистки белков. Кратко изложены также перспективные методы детекции соединений с помощью гибридов субстратсвязывающих модулей с антителами, определения локализации полисахаридов в живых тканях и другие.

## ОСАЖДЕННЫЕ, СООСАЖДЕННЫЕ И УГЛЕМИНЕРАЛЬНЫЕ АДСОРБЕНТЫ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ КАТАЛАЗЫ *Penicillium piceum* F-648

© 2004 г. А.Н. Еремин\*, М.В. Макаренко\*, А.П. Дрожденюк\*, И.В. Мороз\*\*,  
Р.В. Михайлова\*\*

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

\*\*Институт микробиологии НАН Белоруссии, Минск, 220141;  
[e-mail: enzyme@mbio.bas-net.by](mailto:enzyme@mbio.bas-net.by)

Проведено сравнение эффективности связывания каталазы (КАТ, КФ 1.11.1.6) из фильтрата культуральной жидкости (ФКЖ) гриба *Penicillium piceum* F-648 с использованием различных адсорбентов. Фосфат кальция, гидроксипатит (ГАП), соосажденные адсорбенты, содержавшие гидроксиды магния и алюминия, и углеминеральные адсорбенты, включавшие фосфат кальция или гидроксид магния, более эффективно связывали внеклеточную КАТ, чем оксид и фосфат алюминия, кварцевый песок. Фермент выделен из ФКЖ гриба *P. piceum* с использованием ГАП и двухкомпонентного соосажденного адсорбента ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + \text{Mg}(\text{OH})_2$ , 1:1) (СМ). Образец КАТ(СМ) содержал минимальное количество примесных белков, характеризовался максимумами в спектре поглощения при 279.6; 406.8 (полоса Core), 540, 585, 636 и 703 нм и минимумами отрицательной молярной эллиптичности при 207 и 210-214 нм. Кинетические характеристики образцов ( $K_m$ ,  $V_{\text{max}}/K_m$ , удельная активность) сложным образом зависели от концентрации белка в среде реакции. В разбавленных растворах  $K_m$  и удельная активность КАТ(СМ) и КАТ(ГАП) равны 667 и 137 мМ,  $309.9 \cdot 10^4$  и  $30.0 \cdot 10^4$  МЕ/мг белка соответственно. Эффективные константы скорости инактивации КАТ(ГАП), КАТ(СМ) и ФКЖ в ходе разложения  $\text{H}_2\text{O}_2$  резко возрастали при разведении образцов и в бесконечно разбавленном растворе составляли  $4.30 \cdot 10^{-2}$ ,  $6.46 \cdot 10^{-2}$  и  $1.12 \cdot 10^{-2}$  с<sup>-1</sup> соответственно.

## ВЛИЯНИЕ ПАСТЕРИЗАЦИИ НА АКТИВНОСТЬ ПРОТЕИНАЗ ИКРЫ ЛОСОСЕВЫХ РЫБ

© 2004 г. Л.Р. Копыленко, Т.Е. Рубцова

Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии,  
Москва, 107140, [e-mail: vniretest@ru](mailto:vniretest@ru)

Исследована зависимость активности и стабильности протеолитических ферментов икры лососевых рыб от рН и температуры. Наибольшая протеолитическая активность ферментов икры обусловлена протеиназами, активными в кислой зоне рН с оптимумом при 3.6. Результаты исследований подклассовой принадлежности протеолитических ферментов в икре лососевых рыб и имеющиеся литературные сведения позволяют предположить, что активность протеиназ может быть связана с присутствием аспартильных протеиназ типа катепсина D. В икре не обнаружены сериновые протеиназы и металлоферменты, выявлена незначительная активность цистеиновых протеиназ. Разработанный режим пастеризации обеспечивал полную инактивацию протеиназ икры лососевых рыб при рН 6.0-6.4.

## ХИТИНОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ

© 2004 г. А.А. Шубаков, П.С. Кучерявых

Институт физиологии Коми научного центра УрО РАН, Сыктывкар, 167982,  
[e-mail: shubakov@physiol.komisc.ru](mailto:shubakov@physiol.komisc.ru)

Исследована хитинолитическая активность 9 видов мицелиальных грибов, принадлежащих к 7 родам: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Paecilomyces*, *Sporotrichum*, *Beauveria* и *Mucor*. Показано, что все они при культивировании в жидкой среде с кристаллическим хитином (1%) образуют внеклеточные хитиназы с активностью от 0.2 ед./мг белка (*Sporotrichum olivaceum*, *Mucor* sp.) до 4.0-4.2 ед./мг белка (*Trichoderma lignorum*, *Aspergillus niger*).

## СЕКРЕТИРУЕМАЯ N-АЦЕТИЛ-β-D-ГЕКСОЗАМИНИДАЗА МОРСКОГО ГРИБА *Phoma glomerata*

© 2004 г. Н.В. Журавлева, П.А. Лукьянов, М.В. Пивкин

Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВЛ РАН, Владивосток, 690022,  
[e-mail: paluk@mail.ru](mailto:paluk@mail.ru)

Из 10 штаммов морских грибов отобран перспективный продуцент N-ацетил-β-D-гексозаминидазы мицелиальный гриб *Phoma glomerata*. Подобраны условия выращивания штамма и биосинтеза фермента. Из культуральной жидкости *Phoma glomerata* с помощью ионообменной хроматографии на ДЭАЭ-целлюлозе, DEAE-Sephacell и гель-фильтрации на Toyopearl HW-55 выделена N-ацетил-β-D-гексозаминидаза с выходом 35% и степенью очистки 36.4 раза и молекулярной массой 20 кДа. Фермент гомогенен по данным гель-фильтрации и электрофореза с ДДС-Na. Фермент катализировал реакцию трансгликозилирования, выход синтезируемых с его помощью N-ацетил-D-глюкозамина и N-ацетил-D-галактозамина 38 и 46% соответственно.

## **ВЛИЯНИЕ УГЛЕВОДНОГО СОСТАВА ЦИТОЗОЛЯ КОНИДИЙ *Aspergillus niger* НА ИХ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ В ПРОЦЕССЕ ХРАНЕНИЯ**

© 2004 г. © 2004 г. В.М. Терешина, А.В. Ковтуненко, А.С. Меморская, Е.П. Феофилова  
Институт микробиологии РАН, Москва, 117312, [e-mail: V.M.Tereshina@mail.ru](mailto:V.M.Tereshina@mail.ru),  
[e-mail: feofilov@inmi.host.ru](mailto:feofilov@inmi.host.ru)

Установлено, что на жизнеспособность конидий *Aspergillus niger* в процессе хранения отрицательно влияли интенсивность спорогенеза, появление в их составе низкомолекулярных полиолов и глюкозы, активация синтеза углеводов. Напротив, сохранению всхожести конидий способствовало преобладание в исходном составе углеводов трегалозы над маннитом и отсутствие глицерина, эритрита и глюкозы. Обсуждается значение полученных данных в связи с биохимическими критериями, которые могут быть использованы для характеристики состояния покоя у грибов и сохранения всхожести посевного материала.

## **ПОИСК ДРОЖЖЕЙ – ПРОДУЦЕНТОВ БРАССИЛОВОЙ И СЕБАЦИНОВОЙ ЖИРНЫХ КИСЛОТ**

© 2004 г. И.В. Улезло, И.С. Рогожин  
Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва, 119071, [e-mail: inbi@inbi.ras.ru](mailto:inbi@inbi.ras.ru)

Проведен скрининг культур дрожжей, относящихся к родам *Candida*, *Torulopsis*, *Saccharomyces*, *Debarymyces*, *Hansenula*, *Pichia* и *Yarrowia*, способных образовывать брассиловую и себациновую жирные кислоты. Испытано около 200 культур при выращивании на средах с деканом или тридеканом в качестве единственных источников углерода. При культивировании на среде с тридеканом дрожжи синтезировали незначительное количество брассиловой кислоты. На среде с н-деканом более интенсивно образовывалась себациновая кислота. Отобрана культура *Candida tropicalis*, синтезирующая себациновую кислоту.

## **ТРАНСФОРМАЦИЯ АНДРОСТЕНДИОНА И АНДРОСТАДИЕНДИОНА БАКТЕРИЯМИ, ДЕГРАДИРУЮЩИМИ СТЕРИНЫ.**

© 2004 г. Н.Е. Войшвилло, В.А. Андрюшина, Т.С. Савинова, Т.С. Стыщенко  
Центр “Биоинженерия” РАН, Москва, 117312, [e-mail: voishvillo@rambler.ru](mailto:voishvillo@rambler.ru)

Изучен состав стероидных метаболитов, образующихся при трансформации андростендиона и андростадиендиона – продуктов микробиологического расщепления боковой цепи стеринов – почвенными и мутантными штаммами бактерий *Mycobacterium* и *Protaminobacter*. Установлено, что среди продуктов трансформации отсутствует тестололактон. Его отсутствие свидетельствует в пользу предположения о различных путях расщепления стероидного кольца D бактериями и грибами. При трансформации андростендиона почвенными штаммами выделены в очень незначительном количестве два новых 14 $\alpha$ -гидроксипродукта с расщепленным кольцом В. Показано, что мутантный штамм *Mycobacterium smegmatis*, также как дикие штаммы, способен к 14 $\alpha$ -гидроксилированию стероидной молекулы. Предполагается, что расщепление стероидного ядра со стороны колец D и C начинается с введения 14 $\alpha$ -гидроксигруппы и последующей дегидратации.

**ОБРАЗОВАНИЕ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ПРИ РОСТЕ  
ШТАММА *Rhodococcus erythropolis* ЭК-1 НА ГИДРОФИЛЬНЫХ И  
ГИДРОФОБНЫХ СУБСТРАТАХ**

© 2004 г. Т.П. Пирог\*, Т.А. Шевчук\*\*, И.Н. Волошина\*, Е.В. Карпенко\*\*\*

\**Национальный университет пищевых технологий, Киев, 01033, e-mail:  
[tapirog@usuft.kiev.ua](mailto:tapirog@usuft.kiev.ua)* \*\**Институт микробиологии и вирусологии НАН Украины, Киев,  
03143*

\*\*\**Отделение физико-химии и технологии горючих ископаемых Института физической  
химии НАН Украины, Львов, 79053*

Изучена способность к образованию поверхностно-активных веществ (ПАВ) при росте штамма *Rhodococcus erythropolis* ЭК-1 на гидрофильных (этанол, глюкоза) и гидрофобных (жидкие парафины, гексадекан) субстратах. Установлено, что штамм синтезирует как свободные, так и ассоциированные с клетками ПАВ, обладающие эмульгирующими и поверхностно-активными свойствами. Показана зависимость синтеза ПАВ от состава питательной среды, природы и концентрации углеродного и азотного источников питания, длительности процесса культивирования. По химической природе ПАВ, синтезируемые при росте *Rhodococcus erythropolis* ЭК-1 на этаноле, представляют комплекс липидов с соединениями полисахаридно-белковой природы. В составе липидов выявлены гликолипиды (трегалозомоно- и трегалозодикориномиколаты) и общие липиды (цетиловый спирт, пальмитиновая кислота, метиловый спирт н-пентадекановой кислоты, триглицерид, миколовые кислоты).

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ФОСФАТМОБИЛИЗУЮЩЕГО ШТАММА  
*Bacillus subtilis* ИМВ В-7023**

© 2004 г. А.А. Рой, О.Н. Рева, И.К. Курдиш, В.В. Смирнов

*Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины, Киев,  
03143, e-mail: [kurdish@serv.imv.kiev.ua](mailto:kurdish@serv.imv.kiev.ua)*

Представлены биологические характеристики нового фосфатмобилизующего штамма бацилл. Видовая идентификация штамма проводилась по морфолого-культуральным и биохимическим признакам, а также по сиквенсу гена 16S рРНК. Штамм определен как *Bacillus subtilis* ИМВ В-7023 и характеризовался высокой активностью мобилизации фосфора из его труднорастворимых неорганических и органических соединений, синтезом биологически активных веществ, существенно угнетал рост фитопатогенных бактерий и микромицетов, возбудителей болезней овощных, злаковых, бобовых и др. растений. Штамм *Bacillus subtilis* ИМВ В-7023 перспективен для создания бактериальных препаратов для растениеводства.

## **ЛИЗОЦИМ МОЛЛЮСКА *Unio pictorum* И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К НЕМУ АЛКАНОТРОФНЫХ РОДОКОККОВ**

© 2004 г. Г.Н. Соловых\*, В.П. Коробов\*\*, И.В. Карнаухова\*, Л.М. Лемкина\*\*,  
И.Е. Ушакова\*, Г.М. Устинова\*, В.В. Минакова\*

\*Оренбургская государственная медицинская академия, Оренбург, 460000,  
[e-mail: kopylov@ocma.ru](mailto:kopylov@ocma.ru)

\*\*Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО, РАН, Пермь, 614081,  
[e-mail: korobov@ecolodgy.psu.ru](mailto:korobov@ecolodgy.psu.ru)

Методом сорбции на хитине получен препарат лизоцима пресноводного двустворчатого моллюска *Unio pictorum*. Изучены его физико-химические свойства. Проведена оценка чувствительности к лизоциму моллюсков *Unio pictorum* 48 штаммов родококков из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов ИЭГМ УрО РАН, выделенных из разных природных водных источников, относящихся к 3 видам: *Rhodococcus rubber*, *R. luteus*, *R. erythropolis*. Обнаружена неодинаковая чувствительность всех трех видов к лизоциму моллюсков. Выявленная высокая резистентность родококков к лизоциму свидетельствует об их широких возможностях к сохранению в гидробиоценозе и соответственно к поддержанию способности микробиоценоза к самоочищению от углеводов.

## **РОЛЬ ЭКЗОМЕТАБОЛИТОВ В ПРОЦЕССЕ ФОРМИРОВАНИЯ И ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ СОЕВО-РИЗОБИАЛЬНОГО СИМБИОЗА**

© 2004 г. Е.В. Кириченко, Л.В. Титова, С.Я. Коць

Институт физиологии растений и генетики НАН Украины, г. Киев, 03022,  
[e-mail: tlv@uninet.ua](mailto:tlv@uninet.ua)

Исследовано влияние различного инокулята специфичного для сои штамма клубеньковых бактерий *Bradyrhizobium japonicum* 634б (клетки неотмытые, отмытые от экзогликан-белкового комплекса и в композиции с ним) на формирование и функционирование соево-ризобиального симбиоза. Показано, что добавление к штамму экзополисахарид-белкового комплекса вдвое увеличивало способность микросимбионта к образованию клубеньков, массу клубеньков и их нитрогеназную активность. Клетки *B. japonicum* 634б, отмытые от экзосимбиотических метаболитов, характеризовались сниженными показателями симбиотической активности по сравнению с исходными.

## **ЭКСТРАКЛЕТОЧНЫЕ ПОЛИМЕРЫ В КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУРАХ *Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn. С РАЗНОЙ МОРФОГЕННОЙ АКТИВНОСТЬЮ: ДИНАМИКА В ХОДЕ КУЛЬТУРАЛЬНОГО ЦИКЛА.**

© 2004 г. Н.И. Румянцева, А.Н. Акулов, А.Р. Мухитов

Казанский институт биохимии и биофизики КНЦ, Казань, 420111,  
[e-mail: rumyantseva@mail.knc.ru](mailto:rumyantseva@mail.knc.ru)

Изучена динамика содержания экстраклеточных полимеров (ЭКП) в среде культивирования морфогенного (МК) и неморфогенного (НК) каллусов гречиши татарской *Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn. в ходе культурального цикла. Выявлено, что МК

секретировал В среду культивирования значительно больше ЭКП по сравнению с НК. В ходе пассажа в МК наблюдалось два выброса ЭКП, которые предшествовали формированию новых проэмбриональных клеточных комплексов (ПЭКК). Предполагается, что секретируемые молекулы могли участвовать в циклической реинициации ПЭКК в МК. В НК максимальное содержание ЭКП наблюдалось к концу стационарной фазы роста культуры, что, вероятно, связано с изменением состава клеточных стенок при старении каллуса.

### **ВЛИЯНИЕ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ У ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ ЗАСОЛЕНИЯ**

© 2004 г. А.Р. Сахабутдинова, Д.Р. Фатхутдинова, Ф.М. Шакирова  
*Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, г. Уфа, 450054,*  
[e-mail: shakirova@anrb.ru](mailto:shakirova@anrb.ru)

Исследовано влияние предобработки 0.05 мМ салициловой кислотой (СК) на активность супероксиддисмутазы (СОД) и пероксидазы в корнях 4 сут проростков пшеницы (*Triticum aestivum* L.) в условиях засоления. Показано, что предобработанные СК проростки характеризовались значительно меньшим уровнем стресс-индуцированного накопления активных форм кислорода и соответственно, активности СОД и пероксидазы по сравнению с необработанными, что указывает на вовлечение этих ферментов в спектр защитного действия СК на растения при засолении.

### **ИЗМЕНЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА, СТРУКТУРЫ И ФУНКЦИИ ХЛОРОПЛАСТОВ В ЛИСТЬЯХ ГОРОХА ПРИ ДЕФИЦИТЕ ЖЕЛЕЗА И АНАЭРОБИОЗЕ КОРНЕЙ**

© 2004 г. В.Г. Ладыгин  
*Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пушкино, Московская область,*  
*142290, e-mail: ladygin@issp.serpukhov.su*

Установлено, что при дефиците железа хлороз верхушечных листьев обусловлен редукцией светособирающих комплексов I и II. В условиях анаэробноза корней в первую очередь нарушаются комплексы реакционных центров ФС-I и ФС-II. При совместном действии двух факторов даже у желтых и белых листьев сохраняется слабая функциональная активность. Ультраструктура хлоропластов листьев постепенно разрушается. Вначале редуцируются межграницы участки тилакоидов и нарушается продольная ориентация гран, но у желтых и белых листьев сохраняются небольшие тилакоиды и мелкие граны. Делается вывод, что в силу автономных механизмов действия дефицита железа и анаэробноза корней на состав комплексов, структуру и функционирование хлоропластов листьев их деструктивные эффекты суммируются.

## **ВЫДЕЛЕНИЕ ГАЛАКТОМАННАНОВ СЕМЯН СОФОРЫ ЯПОНСКОЙ (*Styphnolobium japonicum*) И ИЗУЧЕНИЕ ИХ СТРУКТУРЫ**

© 2004 г. Н.И. Смирнова, Н.М. Местечкина, В.Д. Щербухин

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

Из холодного и горячего водных экстрактов семян софоры японской (*Styphnolobium japonicum* (L.) Schott) изолированы фракции (1 и 2) галактоманнана с общим выходом 12.88 %, которые отличались соотношением мономеров манноза (Ман) : галактоза (Гал) 4.8:1 и 5.3:1 и молекулярной массой 1190 и 1400 кДа. Их водные растворы были оптически активны:  $[\alpha]_D^{20}=+4.80$  и  $[\alpha]_D^{20}=-3.36$  и обладали высокой вязкостью  $[\eta]=1028.8$  и  $1211.2$  мл/г.  $^{13}\text{C}$ -ЯМР спектры обеих фракций были идентичны по числу и положению сигналов, что свидетельствует об их одинаковой первичной структуре. Химическими и спектральными методами установлено, что макромолекула галактоманнана имеет главную цепь, состоящую из 1,4- $\beta$ -D-остатков маннопиранозы, часть которых (17% во фракции 1 и 16% во фракции 2)  $\alpha$ -галактозилирована в положении С-6. Встречаемость разноразмещенных маннобиозных звеньев в цепи, рассчитанная по ЯМР-спектру фракции 1, составляет для двузамещенного звена Гал(Манн-Ман)Галл – 0.13, для суммы однозамещенных звеньев Гал(Манн-Ман) и (Ман-Ман)Галл – 0.37 и для незамещенного блока Манн-Ман – 0.50.

## **ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ОРГАНИЗМА С УСЛОВНО ПАТОГЕННОЙ САПРОТРОФНОЙ МИКРОФЛОРОЙ И ВОЗМОЖНОЕ СОПРЯЖЕНИЕ ЭТОГО ПРОЦЕССА С МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СТАТУСОМ ЧЕЛОВЕКА**

© 2004 г. Л.А. Пирузян, Е.М. Михайловский

*Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН,*

*Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва, 117977,*

*[e-mail: rla2001@mail.ru](mailto:rla2001@mail.ru)*

Изложена концепция естественной биосферной иммунизации макроорганизма условно патогенной сапротрофной микрофлорой. Иммунная защита может обеспечиваться посредством иммунизации условно патогенной микрофлорой, а также “микробного управления” метаболическим статусом, сопряженным с иммунным статусом организма. Для эффективной иммунизации необходимы: паспортизация нормальной микрофлоры и фенотипирование пациентов по виду и скорости реакции биотрансформации ксенобиотиков (окисления, ацетилирования). Представлен анализ данных литературы, являющихся предпосылкой для предполагаемых мероприятий по стимулированию иммунной защиты организма.