

ВЛИЯНИЕ ВОДНОГО СТРЕССА НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ АППАРАТ РАСТЕНИЙ И ЗАЩИТНАЯ РОЛЬ ЦИТОКИНИНОВ (ОБЗОР)

© 2005 г. И. И. Чернядьев

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

Рассмотрены характеристики фотосинтетического аппарата (пул пигментов и белков, активность фотосистем, интенсивность фотоассимиляции углекислоты *in vivo* и ферментов углеродного метаболизма *in vitro*, структура листа и хлоропласта), которые изменяются под влиянием водного дефицита. Защитная роль цитокининов обусловлена их регуляторным влиянием на обновление нарушенных клеточных структур, состояние устьичного аппарата, новообразование и активацию белков, необходимых для повышения устойчивости к водному стрессу.

АКТИВАЦИЯ ПЕРОКСИДАЗНОГО ОКИСЛЕНИЯ ХРОМОГЕННЫХ СУБСТРАТОВ ТЕТРАЗОЛОМ И ЕГО 5-ЗАМЕЩЕННЫМИ ПРОИЗВОДНЫМИ

© 2005 г. Е. И. Карасёва*, П. Н. Гапоник**, Д. И. Метелица*

* *Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, 220141 Беларусь*

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

** *НИИ физико-химических проблем Белорусского государственного университета, Минск, 220050, Беларусь [e-mail: gaponik@bsu.by](mailto:gaponik@bsu.by)*

Пероксидазное окисление 2,2'-азино-бис-(3-этил-бензтиазолидин-6-сульфоновой кислоты) (АБТС) и 3,3',5,5',-тетраметилбензидина (ТМБ) активируется тетразолом (Т) и его 5-замещенными производными - 5-амино-(АмТ), 5-метил-(МеТ), 5-фенил-(PhТ), и 5-CF₃-(CF₃-Т). Активирующее действие тетразолов на окисление ТМБ при 20°C в фосфат-цитратном или фосфатном буфере (рН 6.4 или 7.2) уменьшается в последовательности АмТ > МеТ > Т > PhТ > CF₃-Т и на окисление АБТС в тех же условиях снижается в ряду Т > АмТ > МеТ > PhТ. Для двух субстратов и всех активаторов определены коэффициенты (степени) активации, α , в М⁻¹, зависящие от типа субстрата, природы буфера и возрастающие с увеличением рН от 6.4 до 7.2. При окислении ТМБ наблюдается удовлетворительная корреляция $\lg \alpha$ с константами Гаммета $\sigma_{\text{мета}}$ для мета-заместителей в бензольном ряду NH₂, CH₃, C₆H₅ и CF₃. АмТ, МеТ и Т могут быть использованы как активаторы пероксидазного окисления ТМБ и АБТС и биосенсорах на основе пероксидаз.

ОЧИСТКА И СВОЙСТВА СЕРИНОВЫХ ПРОТЕИНАЗ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ СОМА ЕВРОПЕЙСКОГО *Silurus glanis* L.

© 2005 г. Н. Н. Улитина, В. В. Хаблюк, М. Т. Проскуряков

Кубанский государственный университет, г. Краснодар, 350040;

[e-mail: ulitina@matl.kubsu.ru](mailto:ulitina@matl.kubsu.ru)

Из поджелудочной железы сома европейского *Silurus glanis* L. методами высаливания (NH₄)₂SO₄, гель-хроматографии на сефадексе G-75 и ионообменной хроматографии на ДЭАЭЦ были выделены 3 изоформы трипсина, обозначенные Т1, Т2 и Т3, 3 изоформы химотрипсина (Х1, Х2, Х3) и 2 изоформы эластазы (Э1 и Э2). Изоточки ферментов,

определенные изоэлектрофокусированием, были равны для: Т1 - 4.42, Т2 - 5.64, Т3 - 6.90; Х1 - 4.93, Х2 - 5.23, Х3 - 6.18; Э1 - 6.17, Э2 - 8.48. Молекулярные массы каждой группы протеиназ были близки и составили величины: у трипсинов - 30100 Да, химотрипсинов - 39800 Да, эластаз - 24000 Да. Выделенные ферменты проявляли максимальную активность при щелочных значениях рН. Ингибиторный анализ показал, что все выделенные из поджелудочной железы сома протеиназы принадлежат к сериновому типу.

ТЕРМОСТАБИЛЬНОСТЬ РАСТИТЕЛЬНЫХ ФЕНОЛОКСИДАЗЫ И ПЕРОКСИДАЗЫ, ОПРЕДЕЛЯЮЩАЯ ТЕХНОЛОГИЮ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

© 2005 г. Н. И. Мчедlishvili*, Н. Т. Омиадзе*, Л. К. Гулуа*, Т. А. Садунишвили*, Р. К. Замтарадзе*, М. О. Абутидзе*, Е. Г. Бенделиани**, Г. И. Квеситадзе*

*Институт биохимии и биотехнологии им. С. Дурмишидзе АН Грузии, 1059, Тбилиси;
[e-mail: chai@gol.ge](mailto:chai@gol.ge)

**Грузинский государственный университет субтропического хозяйства, 4600, Кутаиси

Изучена стабильность фенолоксидазы и пероксидазы из листьев чайного растения (*Camellia sinensis* L.) клона Колхида, плодов яблони (*Mallus domestica* L.) сорта Кехура, зеленого околоплодника грецкого ореха (*Juglans regia* L.) и корней хрена (*Armoracia lapathifolia* Gilib) при различных температурных режимах и длительности хранения. Показано, что при 20-минутной инкубации при 80°C оба фермента сохраняли остаточную активностью (~ 10%). Фенолоксидаза из чая, грецкого ореха и особенно яблони, а также пероксидаза из чая и хрена были стабильными при хранении. С использованием природного ингибитора этих ферментов, выделенного из чайного листа, предложена биотехнология обработки растительных оксидаз, устраняющая проблемы остаточной активности фенолоксидазы и пероксидазы, возникающие при пастеризации и хранении напитков и соков. Показано, что потемнение яблочного сока во время пастеризации и помутнение пива при хранении можно эффективно предотвратить применением природного ингибитора этих ферментов.

ПЕРЕКРЕСТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ФАКТОРОВ АДАПТАЦИИ К СТРЕССУ У *Luteococcus casei* И *Saccharomyces cerevisiae*

© 2005 г. Л. И. Воробьева, Е. Ю. Ходжаев, Г. М. Пономарева

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, 1199899;
[e-mail: NVVorobjeva@mail.ru](mailto:NVVorobjeva@mail.ru)

Показано образование белкового экзометаболита с реактивирующей активностью представителем низших эукариот - дрожжами *Saccharomyces cerevisiae* и перекрестное действие внеклеточных белковых факторов адаптации дрожжей и бактерии *Luteococcus casei* к стрессовым воздействиям (нагревание и УФ-облучение). Аналогичный способ выделения и частичной очистки белковых экзометаболитов из культуральной жидкости дрожжей и бактерий и сходство профилей элюции активных белков при использовании

ВЭЖХ позволяет сделать предположение о гомологичности белков или их фрагментов у исследованных организмов.

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ ГЕНОСИСТЕМАТИКИ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КУЛЬТУР, УТИЛИЗИРУЮЩИХ ЛЕТАЧИЕ ОРГАНИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ

© 2005 г. В. Г. Хоменков, А. Б. Шевелев, В. Г. Жуков, А. Е. Курлович, Н. А. Загустина,
В. О. Попов

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

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

Методами геносистематики с использованием генов 16S-rПНК проведено исследование видового состава 4 смешанных бактериальных культур, адаптированных к утилизации в условиях миниреакторов следующих летучих органических соединений (ЛОС): этилбензол, м-ксилол, стирол, о-ксилол. Для каждой смешанной культуры получена выборка из 30 плазмидных клонов рДНК, проведен их ПДРФ-анализ по двум сайтам рестрикции, выявлены доминантные варианты последовательностей 16S-рДНК, соответствующие наиболее массовым видам для каждой популяции. В результате секвенирования 4 клонов доминантных 16S-рДНК установлено, что в культуре, утилизирующей этилбензол, доминировал *Pseudomonas fluorescens*, о-ксилол - *Achromobacter xylosoxydans*, стирол - *Pseudomonas veronii*, м-ксилол - *Delftia acidovorans*. Минорные компоненты всех четырех смешанных культур в основном совпадали и были представлены видами родов *Sphingobacter*, *Rhizobium*, *Mesorhizobium*, *Pedobacter* и *Paenibacillus*. Метод выборочного секвенирования генов 16S-рПНК, клонированных из суммарной геномной ДНК, позволил количественно оценить состав реальных бактериальных консорциумов, утилизирующих ЛОС в условиях миниреакторов.

ХАРАКТЕРИСТИКА ПОЧВЕННЫХ БАКТЕРИЙ, ТРАНСФОРМИРУЮЩИХ АЗОБЕНЗОЛ

© 2005 г. Н. Д. Ваккерв-Коузова

*Агрофизический научно-исследовательский институт РАСХН, г. Санкт-Петербург,
195220; e-mail: wknd@list.ru*

Из почвы и со стекол обрастания выделены гетеротрофные бактерии, которые на основании таксономического анализа были отнесены к *Bacillus cereus* SNK12, *Paenibacillus polymyxa* SNK2, *Azotobacter chroococcum* ANKII и *Ochrobactrum intermedium* ANKI. Показана способность выделенных культур к деградации азобензола в условиях кометаболизма. Предложена методика экспресс-тестирования бактерий для оценки их способности трансформировать азобензолы.

УВЕЛИЧЕНИЕ ПРОДУКЦИИ ТИЛОЗИНА У ПРОИЗВОДСТВЕННОГО ШТАММА

Streptomyces fradiae

© 2005 г. Д. Г. Люцканова, М. М. Стоилова-Дишева, В. Т. Пелтекова

Институт микробиологии БАН, София 1113, Болгария; [e-mail: dimil@microbio.bas.bg](mailto:dimil@microbio.bas.bg)

Использовались методы традиционного мутагенеза (облучение УФ и нитрозогуанидин), получения протопластов и их регенерации для повышения антибиотической активности штамма - продуцента тилозина *Streptomyces fradiae*. Получены варианты, превосходящие по активности исходный штамм на 0.5-28.3%. Наиболее активные варианты получены в результате комбинированного воздействия УФ и нитрозогуанидина, а также после регенерации протопластов клеток клонов, полученных под воздействием УФ. Показана нестабильность наследования признака повышенной продукции тилозина.

ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ОБРАЗОВАНИЕ ПОЛИСАХАРИДОВ *Ganoderma lucidum*

© 2005 г. В. Г. Бабицкая, В. В. Щерба, Т. А. Пучкова, Д. А. Смирнов

Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, 220141;

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

Оптимизированы условия образования полисахаридов грибом *Ganoderma lucidum*. Наибольший выход эндополисахаридов получен при соотношении С : N ~ 18, экзополисахаридов ~25, температуре 25-30°C, исходном рН среды 4.0-6.0. Наибольший выход мицелия достигался при более высокой, а полисахаридов - при более низкой аэрации. Оптимальное соотношение между ростом гриба и образованием полисахаридов отмечено при аэрации 1.0-1.5 л/л среды мин и перемешивании со скоростью 100 об/мин.

ВЛИЯНИЕ СОСТАВА СРЕДЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА АКТИВНОСТЬ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ЛЕКТИНОВ *Lentinus edodes*

© 2005 г. О. М. Цивилева*, В. Е. Никитина*, Л. В. Гарибова*

*Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов, 410015;

[e-mail: tsivileva@bppm.sgu.ru](mailto:tsivileva@bppm.sgu.ru)

**Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва, 119899;

[e-mail: garibova@herba.msu.ru](mailto:garibova@herba.msu.ru)

Изучена динамика образования лектинов в культуральной жидкости (КЖ) базидиального гриба *Lentinus edodes*, штамм F-249 на различных средах в условиях глубинного культивирования. Активность выявленных агглютининов зависела от соотношения источников углерода и азота, значения рН среды. Наиболее высокая лектиновая активность в КЖ наблюдалась при выращивании гриба на среде с L- арабинозой в качестве источника углерода и L- аспарагином в качестве источника азота при соотношении С : N (9.5-12): 1 на 15-18 сут культивирования при рН 8.0-9.0.

СЕЛЕКЦИЯ И СВОЙСТВА МУТАНТОВ ДРОЖЖЕЙ *Pichia guilliermondii*, РЕЗИСТЕНТНЫХ К Cr(VI)

© 2005 г. Л. Я. Бабяк*, Г. П. Кшеминская*, М. В. Гончар*, Д. В. Янович**,
Д. В. Федорович*

* Институт биологии клетки НАН Украины, 79005, Львов;

[e-mail: fedorovych@biochem.lviv.ua](mailto:fedorovych@biochem.lviv.ua)

**Государственный научно-исследовательский контрольный институт ветеринарных препаратов и кормовых добавок, Львов, 79019

С помощью УФ-мутагенеза из штаммов *Pichia guilliermondii* L3 и L2 получено более 80 мутантов, обладающих способностью к росту на средах, содержащих 1.5 мМ бихромат (Cr(VI)). Мутации, вызывающие резистентность полученных штаммов к Cr(VI), были доминантными или полудоминантными. Мутанты различались между собой по резистентности к Cr(VI), уровню аккумуляции хрома в клетках (от 0.1 до 11.6 мг/г сухих клеток), степени редукции Cr(VI) (от 50% до полного исчезновения хромата в культуральной жидкости). Аккумуляция хрома в клетках мутантов зависела от состава среды, концентрации Cr(VI), времени контакта с хроматом. Резистентность к бихромату может быть вызвана различными причинами: снижением поглощения хрома, измененной способностью к редукции Cr(VI), повреждением системы транспорта сульфата.

ГИДРОЛИТИЧЕСКАЯ СПОСОБНОСТЬ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ ИЗ ГРИБОВ РОДОВ *Penicillium* И *Trichoderma*

© 2005 г. А. А. Скомаровский*, А. В. Гусаков*, О. Н. Окунев**, И. В. Соловьева**,
Т. В. Бубнова**, Е. Г. Кондратьева*, А. П. Синицын*

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119899, Москва;

[e-mail: askomarovsky@enzyme.chem.msu.ru](mailto:askomarovsky@enzyme.chem.msu.ru)

** Институт биохимии и физиологии микроорганизмов РАН, 142292, Пущино

Методом ступенчатой обработки УФ-лучами получено 5 мутантных штаммов продуцента целлюлазы *Penicillium verruculosum* и ферментные препараты из культуральной жидкости грибов. Проведено сравнение осахаривающей способности полученных препаратов и коммерческих из *Trichoderma reesei* (*T. longibrachiatum*) с использованием в качестве субстрата небеленой эвкалиптовой целлюлозы. Показано, что в большинстве случаев ферменты *P. verruculosum* обеспечивали более высокий выход восстанавливающих сахаров (ВС) и глюкозы. Найдена корреляция между авицелазной активностью препаратов в реакционной смеси и выходом ВС.

ПОЛИСАХАРИДЫ ДИАТОМОВЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ ОЗЕРА БАЙКАЛ

© 2005 г. Р.А. С. А. Алексеева*, Н. М. Шевченко*, М. И. Кусайкин*,
Л. П. Пономоренко*, В. В. Исаков*, Т. Н. Звягинцева*, Е. В. Лихошвай**

*Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН, Владивосток; 690022

[e-mail: zvyag@piboc.dvo.ru](mailto:zvyag@piboc.dvo.ru)

**Лимнологический институт СО РАН, Иркутск; 664033, [e-mail: yel@lin.irk.ru](mailto:yel@lin.irk.ru)

Исследован полисахаридный состав нейтральных, кислото- и щелочерастворимых фракций диатомовых водорослей озера Байкал *Stephanodiscus meyerii* Genkal et Popovsk и *Aulacoseira*

baicalensis (K.Meyer) Simonsen. Нейтральные полисахариды представлены хризоламинаранами (1—>3; 1—>6-β-D-глюканами). Хризоламинаран из *S. meyerii* состоит из высоко- (40 кДа) и низкомолекулярной (2-5 кДа) фракций и содержит значительное количество β-1—>6-связанных остатков глюкозы. Хризоламинаран из *A. baicalensis* представляет собой низкомолекулярный 1—>3; 1—>6-β-D-глюкан с небольшим содержанием β-1—>6-связей, к редуцирующему звену цепи которого присоединен маннит. В *S. meyerii* практически отсутствуют кислото- и щелочерастворимые фракции полисахаридов. Щелочерастворимая фракция из *A. baicalensis* является низкомолекулярным гликопротеином (2 кДа), углеводная часть которого представлена гетерополисахаридом.

МЕТАБОЛИЗМ ЛИПИДОВ ВОДНЫХ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ СОЛЕЙ АЛЮМИНИЯ И ЖЕЛЕЗА

© 2005 г. Т. И. Регеранд*, З. А. Нефедова**, Н. Н. Немова**, Т. Р. Руоколайнен**,
Л. В. Тойвонен**, Л. В. Дубровина*, К. -М. Вуори***, Л. В. Маркова**

*Институт водных проблем Севера Карельского научного Центра РАН, Петрозаводск
185003, e-mail: regerand@nwpi.krc.karelia.ru

**Институт биологии Карельского научного Центра РАН, Петрозаводск 185610

***Центр окружающей среды Северная Карелия, 80101, Финляндия, Йоэнсуу

Исследовано влияние солей алюминия и железа в различных концентрациях на содержание фосфолипидов, холестерина и жирных кислот у водных беспозвоночных *Hydropsyche contubernalis* L. (Trichoptera). Использовали методы тонкослойной, газожидкостной и жидкостной хроматографии. Установлено, что влияние исследуемых солей металлов на содержание липидов в организмах зависит от состава водной среды и концентрации солей металла. Определено, что алюминий и железо вызывают изменение соотношения содержания холестерина и фосфолипидов, что при отсутствии летального эффекта свидетельствует о попытках включения адаптационных биохимических процессов, направленных на стабилизацию клеточных структур.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЛИПОСОМ ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ ПОВЕРХНОСТНОГО ЛИПОПОЛИСАХАРИДНОГО АНТИГЕНА, КЛЕТОК ХОЛЕРНОГО ВИБРИОНА И АНТИТЕЛ К НИМ

© 2005 г. С. Н. Скопинская, С. П. Ярков, Е. Н. Храмов

Государственный научно-исследовательский институт биологического
приборостроения, Москва, 125424; e-mail: niibp@dol.ru

На основе комплементзависимого лизиса липосом, сенсibilизированных липополисахаридным (ЛПС) антигеном из *Vibrio cholerae* Inaba 569B, разработана тест-система, позволяющая определять клетки холерного вибриона, поверхностный О-антиген и антитела к ним. Исследованы факторы, влияющие на параметры работы лизосомного реагента, проведена оптимизация условий выявления антител и антигенного материала. Тест-система обладает высокой специфичностью и чувствительностью определения антихолерных антител, превышающая агглютинационные тесты в 30-50 раз, ЛПС-антигена

(100 нг/мл, что соответствует 3.0 нг ЛПС в исследуемом образце) и клеток (3.3×10^7 м.т./мл, соответствующее 10^6 м.т. в пробе) холерного вибриона. Время анализа составляет 30-40 мин при обнаружении ЛПС-антигена и антител и 90 мин при выявлении клеток холерного вибриона.

**ИММУНОФЕРМЕНТНЫЙ АНАЛИЗ ИММУННЫХ КОМПЛЕКСОВ,
СФОРМИРОВАННЫХ *in vitro* ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ СЫВОРОТОЧНЫХ
АНТИТЕЛ С ДИФТЕРИЙНЫМ ТОКСИНОМ**

© 2005 г. Н. Г. Титова, В. В. Свиридов

*Государственное учреждение НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова РАМН.
Москва, 105064,*

[e-mail: vsviridov@mtu-net.ru](mailto:vsviridov@mtu-net.ru)

С помощью иммуноферментного анализа (ИФА) исследовано взаимодействие дифтерийного токсина с сывороточными антитоксическими антителами при их разном исходном количественном соотношении в смесях. При избытке антител в смесях свободный токсин не выявляется, свободные антитела составляют от 68 до 98%; при избытке токсина свободные антитела составляют 2-7%, свободный токсин - 80-100% от исходного уровня. При избытке токсина и при содержании токсина и антител, близком к эквивалентному, в смесях регулярно выявляются сформированные иммунные комплексы, часть эпитопов токсина в составе которых остается свободной от антител. Полученные данные рассмотрены с позиций эпитопной гетерогенности и бивалентности сывороточных антител и моновалентности эпитопов токсина. Предложена новая модель взаимодействия молекул токсина и антител.

**РОСТРЕГУЛИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ N- И O-БЕНЗИЛСОДЕРЖАЩИХ
СОЕДИНЕНИЙ - НОВОЙ ГРУППЫ СИНТЕТИЧЕСКИХ АНАЛОГОВ
ПРИРОДНЫХ АУКСИНОВ**

© 2005 г. Р. Г. Гафуров, А. А. Махмутова

*Институт физиологически активных веществ РАН, Черноголовка, Московская область,
142432; [e-mail: ravig@icp.ac.ru](mailto:ravig@icp.ac.ru)*

Исследовано влияние новой группы синтетических аналогов природных ауксинов - бензиламина бензилового спирта и их производных - на укоренение листовых и стеблевых черенков, на ризогенез и развитие проростков ячменя и рассады из семян томата, на продуктивность томата. Показано, что эти соединения стимулируют укоренение листовых и стеблевых черенков фасоли, вызывают ризогенез и развитие корневой системы у семян ячменя и томатов с активностью на уровне эталонов - 3-индолилуксусной (калиевая соль) и 2-нафтилуксусной кислоты. Установлено, что бензильная группа при атоме кислорода или азота является наименьшим структурным молекулярным фрагментом, который обеспечивает ауксиновую активность соединений на уровне эталонов. Производные бензилового спирта, содержащие четвертичный аммониевый фрагмент, обладают как ауксиновой, так и антигиббереллиновой (ретардантной) активностью. Они отобраны на основе стратегии химического синтеза низкомолекулярных биорегуляторов с заданными свойствами путем объединения в молекуле химических фрагментов со взаимодополняющей физиологической активностью. Показано, что сочетание в

соединениях ауксиновой и антигиббереллиновой (ретардантной) активности дает синергический эффект. При прорастании семян, обработанных этими соединениями, масса и длина корней увеличивается существенно больше, чем при обработке эталонными ауксинами. Обеспечивается 100%-ная приживаемость рассады. При опрыскивании вегетирующих растений растворами этих соединений синхронизируется и ускоряется развитие плодоземента и накопление в них запасных питательных веществ. Указанные синергические эффекты являются физиологической основой существенного повышения массы и качества урожая, например, плодов томата.