РОЛЬ КАЛЬЦИЯ В РЕГУЛЯЦИИ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ ПРОЦЕССОВ У АКТИНОМИЦЕТОВ (ОБЗОР)

© 2005 г. В. Н. Даниленко*, В. А. Миронов*, С. М. Елизаров**
*Государственный научно-исследовательский институт биосинтеза белковых веществ,
Москва, 109004;

e-mail: danilenk@rutenia.ru

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

Рассматриваются данные о влиянии ионов кальция на процессы морфологической и физиологической дифференцировки в культурах актиномицетов, главным образом у рода Streptomyces. Приводятся имеющиеся к настоящему времени сведения о регуляторной роли серин-треониновых протеинкиназ в дифференцировке и о возможном участии Ca^{2+} -зависимых протеинкиназ во вторичном метаболизме, включая биосинтез антибиотиков. Обсуждается возможность функционирования у актиномицетов регуляторных элементов апоптоза, в том числе Ca^{2+} -зависимых. Выдвигается предположение о ключевой роли детерминант устойчивости к антибиотикам в сети сигнал-трансдуцирующих систем актиномицетов.

ИНГИБИРОВАНИЕ ПЕРОКСИДАЗНОГО ОКИСЛЕНИЯ ХРОМОГЕННЫХ СУБСТРАТОВ ПРОПИЛГАЛЛАТОМ И ЕГО ПОЛИДИСУЛЬФИДОМ

© 2005 г. И. В. Наумчик, Е. И. Карасёва, Д. И. Метелица Институт биоорганической химии НАН Беларуси, 220141 Минск; e-mail: metelitza@iboch.bas-net.by

Пероксидазное окисление 2,2'-азино-ди-(3-этил-2,3-дигидробензтиазолин-6-сульфоновой кислоты) (АБТС) по конкурентному механизму ингибировали пропилгаллат (ПГ) и его полидисульфид (поли(ДСПГ)) при 20°С в 0.015 М фосфат-цитратном буфере, рН 6.0. Константы ингибирования, K_i , в этих условиях равны 62.0 и 5.6 мкМ для ПГ и поли(ДСПГ) соответственно. Стехиометрический коэффициент ингибирования f, означающий число радикалов, гибнущих на одной молекуле ингибитора, равен 2.0 и 14.7 для ПГ и поли(ДСПГ) соответственно. Пероксидазное окисление о-фенилендиамина слабо замедляется в присутствии ПГ и поли(ДСПГ). Поли(ДСПГ) может быть использован как стоп-реагент пероксидазного окисления АБТС, а ПГ как ингибитор-калибратор в тест-системах общего антиоксидантного статуса биологических жидкостей человека, природных биопрепаратов, соков, вин и других объектов.

ПОЛИМЕРИЗАЦИЯ ПЕРОКСИДАЗЫ ХРЕНА В ПРИСУТСТВИИ НЕОРГАНИЧЕСКИХ АДСОРБЕНТОВ

© 2005 г. А. Н. Еремин, М. В. Макаренко, Л. П. Будникова Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск. 220141; e-mail: eryomin@iboch.bas-net.by

Изучена эффективность связывания пероксидазы хрена (ПХ) и ее полимерных продуктов (ппПХ) с неорганическими осажденными и соосажденными адсорбентами. В водном

растворе ПХ эффективно адсорбировалась на оксид алюминия и соосажденный сорбент, включающий ортофосфат кальция и гидроксиды магния и алюминия. В 25.0 мМ бикарбонатном буфере, рН 9.0, ПХ хорошо связывалась с гидроксидом цинка, но не с $A1_2O_3$. Проведено сравнение разных вариантов полимеризации ПХ и модификации ппПХ диаминами в присутствии $A1_2O_3$ и $Zn(OH)_2$. Наиболее эффективным является синтез ппПХ по схеме, включающей активирование ПХ в растворе с последующей полимеризацией ее в присутствии $Zn(OH)_2$. ПХ и ппПХ, связанные с $Zn(OH)_2$, проявили высокую каталитическую активность в присутствии больших концентраций H_2O_2 .

ИНГИБИТОРЫ ПРОТЕИНАЗ КАК АНТИСТРЕССОВЫЕ БЕЛКИ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

© 2005 г. Я. Е. Дунаевский*, Т. А. Цыбина**, Г. А. Белякова*, В. И. Домаш***, Т. П. Шарпио***, С. А. Забрейко***, М. А. Белозерский*

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, 119992; e-mail: dun@belozersky.msu.ru

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

***Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси, Минск, 220072

Исследовали физико-химические и функциональные характеристики белковых ингибиторов протеиназ растительного происхождения как антистрессовых биополимеров с целью выяснения механизмов устойчивости растений к фитопатогенам и получения толерантных к болезням злаковых и бобовых культур. Установлена вариация уровня активности ингибиторов трипсина, химотрипсина и субтилизина в семенах однодольных и двудольных культур. Получены данные о присутствии в исследованных сортах бобовых и злаковых культур эндогенных ингибиторов, специфичных к протеиназам фитопатогенных грибов рода Fusarium, Colletotrichum, Helminthosporium и Botrytis. Установлена видо- и сортоспецифичность указанных ингибиторов. Показана способность ингибиторов протеаз из семян гречихи ингибировать секретируемые протеазы грибных патогенов и подавлять прорастание спор и рост мицелия этих грибов. Представленные результаты указывают на возможное участие белковых ингибиторов протеиназ в защитных реакциях растительного организма при стрессовых условиях.

PURIFICATION OF BOVINE MILK LACTOPEROXIDASE AND INVESTIGATION OF ANTIBACTERIAL PROPERTIES AT DIFFERENT THIOCYANATE MEDIATED

© 2005 г. M. T. Uguz*, H. Özdemir**

*Ataturk University Medical Faculty Department of Microbiology, Erzurum-TURKEY;

**Ataturk University Faculty of Sciences and Arts Department of Chemistry, Erzurum-TURKEY e-mail: hozdemir@atauni.edu.tr

Bovine lactoperoxidase (LPO) was purified with amberlite CG 50 H⁺ resin, CM sephadex C-50 ion-exchange chromatography, and sephadex G-100 gel filtration chromatography from skim milk. The activity of lactoperoxidase was measured by using 2.2-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6 sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) as a choromogenic substrate at pH 6.0. Purification

degree for the purified enzyme was controlled with SDS-PAGE and Rz value (A₄₁₂/A₂₈₀). Rz value for the purified LPO was 0.8. K_m value at pH 6.0 at 20°C for the LPO was 0.20 mM. V_{max} value was 7.87 μmol/ml min at pH 6.0 at 20°C. Bovine LPO showed high antibacterial activity in 100 mM thiocyanate - 100 mM H₂O₂ medium for some pathogenic bacteria, such as Aeromonas hydrophila ATCC 7966, Micrococcus luteus LA 2971, Mycobacterium smegmatis RUT, Bacillus subtilis IMG 22, Pseudomonas pyocyanea, Bacillus subtilis var. niger ATCC 10, Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853, Enterococcus faecalis ATCC 15753, Bacillus brevis FMC3, Klebsiella pneumoniae FMC 5, Corynebacterium xerosis UC 9165, Bacillus cereus EU, Bacillus megaterium NRS, Yersinia enterocolytica, Listeria monocytogenes scoot A, Bacillus megaterium EÜ, Bacillus megaterium DSM32, Klebsiella oxytocica, Staphylococcus aerogenes, Streptococcus faecalis, Mycobacterium smegmatis CCM 2067 and compared with well known antibacterial substances such as penicilline, ampicilline, amoxicillin-clavulanate and ceftriaxon. The LPO — 100 mM thiocyanate - 100 mM H₂O₂ system was purposed as an effective agent against many of the diseases causing organisms in human and animals.

МЕТАБОЛИТЫ МОРСКИХ ОРГАНИЗМОВ КАК РЕГУЛЯТОРЫ О-ГЛИКОЗИЛГИДРОЛАЗ

© 2005 г. Н. С. Веригина*, Ю. В. Бурцева**, С. П. Ермакова**, В. В. Сова**, М. В. Пивкин**, Т. Н. Звягинцева**

*Дальневосточный государственный университет, Владивосток, 690950
**Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН, Владивосток. 690022;
e-mail: burtseva@piboc.dvo.ru

Изучена способность метаболитов, содержащихся в культуральной жидкости 62 штаммов морских грибов, влиять на активность двух пищеварительных ферментов морских моллюсков: эндо-1,3-β-D-глюканазы Spisula sachalinensis и β-D-глюкозидазы Littorina kurila. Установлено, что 66% и 71% исследованных образцов активировали, 18% и 7% ингибировали, а 16% и 22% не влияли на активность эндо-1,3-β-D-глюканазы и β-D-глюкозидазы соответственно. Показана возможность использования метаболитов бурых водорослей и морских губок для направленного регулирования процессов биосинтеза ферментов морскими грибами. Белковый ингибитор эндо-1,3-β-D-глюканаз, выделенный из бурой водоросли Laminaria cichorioides, блокировал биосинтез практически всех О-гликозилгидролаз у 5 исследованных штаммов морских грибов. Присутствие в культуральной среде халистанол сульфата из морской губки семейства Halichondriidae либо не оказывало влияния на биосинтез ферментов углеводного обмена морскими грибами, либо вызывало его активацию.

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ СИНТЕЗА ДЕКСТРАНА ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ БАКТЕРИИ Leuconostoc mesenteroides НА СРЕДЕ С МЕЛАССОЙ

© 2005 г. Т. А. Ведяшкина*, В. В. Ревин*, И. Н. Гоготов**
*Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, Саранск, 430019
**Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, 142290
e-mail: gogotov@ibbp.psn.ru

Показано, что максимальное образование декстрана бактерией Leuconostoc mesenteroides, штамм В-2317Д, на средах с мелассой достигало 54—55 г/л и происходило при содержании в среде 17.5% сахарозы и р $H_{\text{исх}}$ 6.75. Начало образования декстрана зависело от количества вносимого инокулята, и выход был наибольшим при скорости перемешивания 200 об./мин. Образуемый при росте L mesenteroides на среде с мелассой декстран состоял из трех фракций, различающихся молекулярной массой и составом - высокомолекулярной (\sim 27.9%) и низкомолекулярной (\sim 2.85%) фракций.

ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ Pseudomonas fluorescens

© 2005 г. С. Н. Веремейченко*, М.А. Водяник**, Г. М. Здоровенко*** * Научно-производственная компания "ДИАПРОФ-МЕД", Киев, 04123; e-mail: stas@diapr.kiev.ua

Институт педиатрии, акушерства и гинекологии АМН Украины, Киев, 04050; *Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины, Киев, 02143;

Приводятся данные о строении и биологических свойствах *in vitro* липополисахаридов (ЛПС) бактерий *Pseudomonas fluorescens* (биовар I), штаммы ИМВ 4125 = ATCC 13525 и ИМВ 7769. ЛПС характеризовались близким компонентным составом липида A и корового олигосахарида, а также отличающимся строением О-специфических полисахаридных цепей, что подтверждалось отсутствием серологических взаимосвязей между ними. Токсичность (LD50) ЛПС *P. fluorescens* по отношению к сенсибилизированным D-галактозамином мышам была в 40-50 раз ниже токсичности классических эндотоксинов ЛПС *E. coli*. Исследуемые ЛПС стимулировали перитонеальные макрофаги мышей к образованию фактора некроза опухолей (ФНО) и оксида азота (NO). Индуцируемая ими активность синтеза ФНО была в 8-9 раз ниже таковой для использованных в качестве контроля ЛПС бактерий E. coli 055:В6 и 026:В6. Стимуляция синтеза NO была соответственно ниже в 3-5 раз. Препараты ЛПС исследуемых штаммов индуцировали также синтез ФНО моноцитами в препаратах цельной крови человека. Выявлены некоторые штаммовые различия по биологическим свойствам, которые могут объясняться особенностями состава и строения ЛПС у различных культур.

АНАЭРОБНЫЕ МИКРОБНЫЕ СООБЩЕСТВА, РАЗЛАГАЮЩИЕ АМИНОАРОМАТИЧЕСКИЕ КИСЛОТЫ

© 2005 г. И. Б. Котова*, О. В. Савельева*, А. Т. Дьяконова*, В. И. Скляр**, С. В. Калюжный**, А. Стамс***, А. И. Нетрусов*

*Биологический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Москва,119992;

e-mail: anetrusov@mail.ru

**Химический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Москва, 119992

***Университет г. Вагенинген, 6703 СТ, Вагенинген, Нидерланды

Выделены сообщества анаэробных микроорганизмов с высокой скоростью и эффективностью разлагающие аминоароматические кислоты до метана и углекислого газа. Показаны существенные различия морфологических, цитологических и физиологических признаков культур из образцов адаптированного и неадаптированного ила. Изучено влияние температуры культивирования, освещенности, наличия в среде минерального азота и бикарбоната на процесс адаптации накопительных культур к субстратам и последующее функционирование анаэробных сообществ. Определены промежуточные и конечные продукты биодеградации аминоароматических субстратов и последовательность их образования у таких культур. Изучено влияние экзогенных акцепторов электронов и дополнительных источников углерода на деструкцию аминоароматических субстратов.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНЫМ МЕТОДОМ МИНИМАЛЬНЫХ ИНГИБИРУЮЩИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ВЕЩЕСТВ ПО ОТНОШЕНИЮ К БАКТЕРИЯМ, УЧАСТВУЮЩИМ В БИОКОРРОЗИИ

© 2005 г. Е. Н. Ефременко, Р. Э. Азизов, Т. А. Махлис, В. М. Аббасов, С. Д. Варфоломеев Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Химический факультет, Москва, 119992;

e-mail: efremenko@enzyme.chem.msu.ru

С помощью биолюминесцентного метода определения АТФ установлены значения минимальных ингибирующих концентраций ряда ингибиторов коррозии (Катона, Хазара, ВФИКС-82, Нитро-1, Каспия-2 и Каспия-4) по отношению к представителям разных групп микроорганизмов: Desulfovibrio desulfuricans, Desulfovibrio vulgaris, Pseudomonas putida, Pseudomonas fluorescens и Acidithiobacillus ferrooxidans — наиболее распространенных участников процессов биокоррозии. Данные по численности бактерий, полученные биолюминесцентным методом, учитывающим присутствие в образце не только делящихся, но и находящихся в состоянии покоя жизнеспособных клеток, были в 2-6 раз выше значений, определенных микробиологическим методом. Показана возможность использования биолюминесцентного метода для анализа численности клеток в пробах промысловых сточных вод в присутствии ионов железа (до 260 мМ) и сульфида железа (до 186 мг/л), а также в отсутствие и присутствии ингибиторов коррозии, проявляющих биоцидную активность.

МОНИТОРИНГ МИКРООРГАНИЗМОВ-ДЕСТРУКТОРОВ НА ПИЛОТИРУЕМЫХ ОРБИТАЛЬНЫХ КОМПЛЕКСАХ

© 2005 г. Т. А. Алехова*, А. А. Александрова,* Т. Ю. Новожилова,* Л. В. Лысак**, Н. А. Загустина***, А. М. Безбородов***

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

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

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

Исследованы образцы микрофлоры с поверхности конструкционных материалов орбитальной станции "Мир" (ОС "Мир") на 14-ый год ее эксплуатации. Из проб выделено и определено 12 видов грибов, принадлежащих к родам Penicillium, Aspergillus, Cladosporium, Aureobasidium, 3 вида дрожжей, принадлежащих к родам Debaryomyces, Candida, Rhodotorula и 4 вида бактерий, принадлежащих к родам Bacillus, Myxococcus, Rhodococcus. Доминирующим видом в пробах оказался Penicillium chrisogenum. Показана способность выделенных грибов вызывать повреждение полимерных материалов, коррозию алюминий-магниевых сплавов. Начато исследование микроорганизмовдеструкторов на конструкционных поверхностях Российского сегмента Международной космической станции (РС МКС). В трех сериях проб, взятых в различные сроки, обнаружено и идентифицировано 26 видов грибов, бактерий, дрожжей, актиномицетов, которые известны как активные биодеструкторы. Создана коллекция микроорганизмов, выживающих длительное время в условиях космического полета, которые могут применяться для исследования материалов, используемых в изделиях космической техники на устойчивость к биоповреждениям.

ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ ШТАММА Azospirillum brasilense Sp7 И РЕГУЛИРОВАНИЕ ИХ АКТИВНОСТИ ГОМОЛОГИЧНЫМ ЛЕКТИНОМ

© 2005 г. М. П. Чернышева, С. А. Аленькина, В. Е. Никитина, В. В. Игнатов Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов, 410049; e-mail: chernysh@ibppm.sgu.ru

Обнаружена способность *Azospirillum brasilense* Sp7 продуцировать внеклеточные протеолитические ферменты. Ферменты были активны в широком интервале pH, характеризовались 2 максимумами активности в кислой и щелочной областях, нуждались в присутствии ионов кальция и проявляли субстратную специфичность по отношению к азожелатине. Методом зимографии в культуральной жидкости *A. brasilense* Sp7 выявлено не менее 4 протеолитических ферментов с молекулярными массами 32, 45, 52 и 174 кДа. Показана способность лектина *A. brasilense* Sp7 ингибировать активность протеолитических ферментов.

СОСТАВ ЛИПИДОВ КЛЕТОК ГЕТЕРОТАЛЛИЧНЫХ ШТАММОВ В ЦИКЛЕ PA3BИTИЯ Blakeslea trispora

© 2005 г. В. М. Терёшина, А. С. Меморская, Е. П. Феофилова Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН, Москва; 117312; e-mail: V.M.Tereshina@inbox.ru,, e-mail: feofilov@inmi.host.ru

Изучен состав липидов в мицелии и спорах гетероталличных штаммов *Blakeslea trispora*. Показаны различия штаммов в способности синтезировать линоленовую кислоту и температурном оптимуме роста. Штамм (-) рос при более высокой температуре и не синтезировал линоленовую кислоту, тогда как штамм (+) накапливал ее до 20% от суммы жирных кислот. Различия между штаммами сохранялись на различных стадиях развития (мицелий, споры). Большая термотолерантность (-) штамма коррелировала с высоким содержанием стеринов, что характерно для термофильных грибов. В липидном составе гетероталличных штаммов установлены различия в количестве липидов, их фракционном составе, степени ненасыщенности и составе каротиноидов.

ИММОБИЛИЗОВАННЫЕ ДРОЖЖЕВЫЕ МЕМБРАНЫ КАК БИОКАТАЛИЗАТОРЫ ПРОЦЕССА ИНВЕРСИИ САХАРОЗЫ

© 2005 г. Г. А. Коваленко*, Л. В. Перминова*, Г. В. Плаксин**, О. В. Комова,* Т. В. Чуенко*, Н. А. Рудина*

*Институт катализа СО РАН, Новосибирск, 630090;

е-mail: galina@catalysis.nsk.su

**Институт проблем переработки углеводородов СО РАН, Омск, 644040;

е-mail: plaksin@incat.okno.ru

Получены дрожжевые мембраны путем автолиза различных штаммов дрожжей с относительно высокой инвертазной активностью. На основе дрожжевых мембран и гранулированных углеродсодержащих носителей, приготовленных из доступного природного сырья (керамзит, сапропель и лигнин), получены и исследованы гетерогенные биокатализаторы процесса инверсии сахарозы. Показано, что независимо от морфологии углеродного слоя, синтезированного на поверхности керамзита, биокаталитическая активность и стабильность иммобилизованных дрожжевых мембран увеличивались по сравнению с исходным носителем. Гетерогенные биокатализаторы, полученные адсорбцией дрожжевых мембран на сапропеле, проявляли максимальную активность и стабильность, в то время как биокатализаторы на основе лигнина отличались относительно низкой стабильностью.

СТЕРИНЫ ЛИСТЬЕВ ШЕЛКОВИЦЫ И ЗАБОЛЕВАНИЕ "МЕЛКОЛИСТНАЯ КУРЧАВОСТЬ"

© 2005 г. Н. Е. Замбахидзе, К. В. Сулаберидзе, В. В. Мжаванадзе, Г. Ч. Циклаури Институт биохимии и биотехнологии им. С. Дурмишидзе АН Грузии, Тбилиси, 0159; e-mail: kvesitadze@hotmail.com

Исследованы свободные и связанные стерины листьев 5 сортов шелковицы с разной восприимчивостью к болезни "мелколистная курчавость". Общее содержание стеринов во всех образцах было близко и не коррелировало со степенью устойчивости сорта. Качественный состав отдельных стеринов также одинаков, они представлены холестерином, кампестерином, стигмастерином, ситостерином и двумя 4?-метилстеринами. Листья самого восприимчивого сорта отличались высоким содержанием холестерина. Установлено, что величина соотношения ситостерина к стигмастерину уменьшалась по мере увеличения степени резистентности сорта.

СВЯЗЫВАНИЕ КОМПОНЕНТОВ СМЕСИ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ КРИОТЕКСТУРАТАМИ КУКУРУЗНОГО КРАХМАЛА

© 2005 г. М. Б. Теренина, Т. А. Мишарина Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, 119991; e-mail: Tmish@rambler.ru

Методом капиллярной газовой хроматографии изучено связывание компонентов смеси эфирных масел криотекстуратами кукурузного крахмала из водных растворов. Показано, что количество сорбированных криотекстуратом веществ линейно зависело от их концентрации в исходном геле. Связывание компонентов смеси эфирных масел полисахаридами крахмала осуществлялось преимущественно за счет гидрофобных кооперативных взаимодействий, которые приводили к образованию супрамолекулярных ассоциатов и комплексов включения. Структура соединений являлась основным фактором, определяющим степень связывания. В наибольшей степени сорбировались монотерпеновые углеводороды. Обнаружено синергитическое увеличение степени связывания из смеси веществ по сравнению с индивидуальными соединениями.