

УЛЬТРАЗВУКОВАЯ И ТЕРМИЧЕСКАЯ ИНАКТИВАЦИЯ КАТАЛАЗЫ ПЕЧЕНИ БЫКА, МЕТИЛОТРОФНЫХ ДРОЖЖЕЙ *Pichia pastoris* И ГРИБОВ *Penicillium piceum*

© 2005 г. М.В.Потапович, А.Н.Еремин, Д.И.Метелица
Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск; 220141
[e-mail: metelitza@iboch.bas-net.by](mailto:metelitza@iboch.bas-net.by)

В фосфатном буфере, рН 5.5 или 7.4, изучена кинетика инактивации каталазы из печени быка (КАТ), грибов *Penicillium piceum* (КАТ1) и метилотрофных дрожжей *Pichia pastoris* (КАТ2) при 45 и 50°C и воздействии низкочастотного ультразвука (НЧ УЗ, 27 кГц, 60 Вт/см²). Процессы охарактеризованы эффективными константами скорости первого порядка в с⁻¹: $k_{ин}$ - суммарная, $k_{ин}^*$ - термическая и $k_{ин(уз)}$ - ультразвуковая инаktivация. Величины $k_{ин}$ и $k_{ин}^*$ возрастают в последовательности КАТ1 < КАТ < КАТ2. В процессе инактивации каталаз при 45 и 50°C и действии НЧ УЗ измерены спектры КД растворов фермента и вычислены доли вторичных структур. Термо- и УЗ-инаktivация каталаз сопровождается уменьшением содержания α -спиралей, возрастанием доли антипараллельных β -структур и нерегулярных участков в последовательности КАТ1 < КАТ < КАТ2. Сделан вывод о возрастании устойчивости ферментов в ряду КАТ1 > КАТ > КАТ2. По совокупности характеристик КАТ1 - оптимальный компонент ферментных антиоксидантных комплексов.

ТРИПСИНОПОДОБНЫЕ ПРОТЕИНАЗЫ И ИНГИБИТОРЫ ТРИПСИНА В ПЛОДОВЫХ ТЕЛАХ ВЫСШИХ ГРИБОВ

© 2005 г. Л.А.Гзогян*, М.Т.Проскураков*, Е.В.Иевлева**, Т.А.Валуева**
*Кубанский государственный университет, Краснодар. 350040;

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

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

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

Изучена активность трипсиноподобных протеиназ и ингибиторов трипсина в плодовых телах 18 различных видов базидиальных грибов (*Basidiomycetes*). Показано, что плодовые тела всех исследованных грибов содержат эти ферменты, за исключением трутовика (*Coriolus versicolor* (Fr.) Karst), принадлежащего к семейству *Polyporaceae*, и ежевика (*Hericium erinaceus* (Fr.) Quel) из семейства *Hericiaceae*, которые характеризовались практически отсутствием их активности. Наиболее высокий уровень активности трипсиноподобных протеиназ был обнаружен в плодовых телах грибов семейств *Boletaceae* и *Agaricaceae*. Плодовые тела всех исследованных грибов содержали ингибиторы трипсина, при этом наиболее высокой активностью ингибиторов трипсина обладали базидиомицеты, принадлежащие семействам *Boletaceae*, *Agaricaceae* и *Pleurotaceae*, а среди них дубовик (*Boletus castanus* (Fr.) Karst), подосиновик (*Leccinum aurantiacum* (Fr.) Sing) и подберезовик (*Leccinum melanum* (Fr.) Karst).

ВЫДЕЛЕНИЕ ХИТИНСПЕЦИФИЧНЫХ ОКСИДОРЕДУКТАЗ ПШЕНИЦЫ

© 2005 г. И.В.Максимов, Е.А.Черепанова, Л.Г.Яруллина, И.Э.Ахметова

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа, 450054

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

С использованием хитина из проростков пшеницы выделены анионная пероксидаза с ИЭТ ~ 3.5 и оксалатоксидаза с ИЭТ ~ 7.0. Прочность связывания ферментов с хитином зависела от степени его ацетилирования и от ионной силы буферной среды. Предполагается, что в сорбции ферментов на хитине участвуют ацетильные группы биополимера. Способность к сорбции на хитине анионной пероксидазы и оксалатоксидазы позволяет использовать биополимер для выделения этих белков из растений. Совместная сорбция на хитине анионной пероксидазы и оксалатоксидазы предполагает кооперативность участия этих ферментов в защитных реакциях растений пшеницы против хитинсодержащих патогенов.

СОДЕРЖАНИЕ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА И АКТИВНОСТЬ КАТАЛАЗЫ ПРИ ИНОКУЛЯЦИИ КЛУБЕНЬКОВЫМИ БАКТЕРИЯМИ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА С РАЗНОЙ СПОСОБНОСТЬЮ К НОДУЛЯЦИИ

© 2005 г. Г.Г.Васильева, А.К.Глянько, Н.В.Миронова

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск; 664033

[e-mail: ustaft@sifibr.irk.ru](mailto:ustaft@sifibr.irk.ru)

Исследовано содержание пероксида водорода (H_2O_2) и активность каталазы в проростках гороха (*Pisum sativum* L.) с нормальным (сорт Марат) и нарушенным (мутанты гороха) процессом образования клубеньков при инокуляции их азотфиксирующими бактериями (*Rhizobium leguminosarum*) штамм CIAM 1026. Установлены различия в содержании пероксида водорода и активности каталазы в проростках, обладающих разной способностью к клубенькообразованию при инокуляции их ризобиями. Предполагается, что H_2O_2 и каталаза вовлечены в защитные и регуляторные механизмы растения-хозяина.

БИОТРАНСФОРМАЦИЯ β -СИТОСТЕРОЛА И ЕГО СЛОЖНЫХ ЭФИРОВ АКТИНОБАКТЕРИЯМИ РОДА *Rhodococcus*

© 2005 г. И.Б.Ившина*, В.В.Гришко**, Е.М.Ноговицина*, Т.П.Кукина***,
Г.А.Толстикова***

* *Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь 614081*

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

***Институт технической химии УрО РАН, Пермь, 614990;*

****Институт органической химии СО РАН. Новосибирск 630090*

Исследована способность чистых культур актинобактерий рода *Rhodococcus* из Уральской профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (акроним ИЭГМ, номер во Всемирной федерации коллекций культур 768, <http://www.ecology.psu.ru/iegmcol>) к биотрансформации β -ситостерола и его -3β -ацилпроизводных. Отобраны штаммы родококков с выраженной холестеролоксидазной активностью, осуществляющие процесс

конверсии β -ситостерола в стигмаст-4-ен-3-он в условиях соокисления с н-гексадеканом. Установлена зависимость холестеролоксидазной активности родококков от длины ацильного фрагмента в молекуле сложного эфира стерина. Подобраны условия, при которых клетки родококков в присутствии глюкозы и ингибитора 2,2'-дипиридила трансформируют β -ситостерол в 17 β -гидроксиандрост-4-ен-3-он (тестостерон), широко востребуемый в фармацевтической практике.

ПОЛУЧЕНИЕ НЕФТЕОКИСЛЯЮЩЕГО БИОПРЕПАРАТА ПУТЕМ СТИМУЛЯЦИИ АБОРИГЕННОЙ УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩЕЙ МИКРОФЛОРЫ

© 2005 г. Е.В.Плешакова, Н.Н.Позднякова, О.В.Турковская

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов, 410049;
[e-mail: ecbio@ibppm.sgu.ru](mailto:ecbio@ibppm.sgu.ru)

Разработан способ стимуляции аборигенных углеводородоокисляющих микроорганизмов для очистки почвенных и водных объектов, загрязненных нефтепродуктами. Подобрана оптимальная комбинация стимулирующих добавок: минеральные компоненты (10.0 г/л), нефть (5.0 г/л) и синтетическое моющее средство (0.2 г/л). Полученные "биопрепараты" при внесении их в почву или воду в количестве 107 кл./г(мл) повышали степень очистки в 4—8 раз в почвенной и в 18—24 раза в жидкой среде.

ИНГИБИТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ ФЕНОЛЬНЫХ ЭКОТОКСИКАНТОВ НА ФОТОБАКТЕРИИ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ЗНАЧЕНИЯХ рН

© 2005 г. В.В.Куц, Ю.М.Ильина, А.Д.Исмаилов, А.И.Нетрусов

*Биологический факультет Московского государственного университета им. М.В.
Ломоносова, Москва, 119899;*
[e-mail: anetrusov@mail.ru](mailto:anetrusov@mail.ru)

Исследованы кинетические характеристики эмиссии света интактными клетками фотобактерий *Photobacterium phosphoreum* и *Vibrio harveyi* при рН 5.5, 7.0, 8.0 и особенности ингибиторного действия на свечение фотобактерий 2,4-ди- и 2,4,5-три-феноксисукусных кислот (2,4-Д и 2,4,5-Т), пентахлорфенола (ПХФ) и 2,6-диметилфенола (2,6-ДМФ) при тех же рН. При всех исследованных рН выявлена нестационарность кинетики эмиссии. При рН 5.5 наблюдается экспоненциальное затухание свечения в 60 с диапазоне, при рН 7.0 и 8.0-5 мин активация свечения. Дыхательная активность клеток снижается более, чем на порядок при рН 5.5 по сравнению с активностью при рН 7.0 и 8.0. Ингибиторный эффект 2,4-Д, 2,4,5-Т и ПХФ, в зависимости от рН различается на 1-2 порядка. Наибольшая чувствительность клеток к этим соединениям проявляется при рН 5.5, наименьшая - при рН 8.0. Действие 2,6-ДМФ от рН не зависит. Показано, что ингибиторный эффект определяется гидрофобностью молекулы и величиной рК токсикантов. Источенные по субстратам клетки фотобактерий характеризуются большей чувствительностью к хлорфенольным соединениям, чем высокоэнергизованные при всех значениях рН.

ИЗУЧЕНИЕ КЛЕТОЧНОЙ АГРЕГАЦИИ В КУЛЬТУРАХ *Micrococcus luteus* МЕТОДОМ ДИНАМИЧЕСКОГО СВЕТОРАССЕИВАНИЯ

© 2005 г. С.А.Волошин, А.С.Капрельянц
Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва, 119071;
[e-mail: klarius@yandex.ru](mailto:klarius@yandex.ru)

Агрегация клеток бактерии *Micrococcus luteus* при росте культуры в жидкой среде исследовалась методом динамического светорассеивания, который позволяет определять размер частиц в образце от 0.5 до 1000 мкм при концентрации клеток не более 105 кл./мл. Показано, что клетки *M. luteus* при росте в жидких средах в лаг-фазе на 80% представлены агрегатами размером от 10 до 1000 мкм и лишь незначительным количеством одиночных клеток. Начало экспоненциального роста сопровождалось распадом агрегатов и накоплением отдельных клеток, что подтверждает значение агрегации клеток в лаг-фазе для инициации роста бактерий. Метод может быть использован для мониторинга состояния бактериальной культуры в биотехнологии.

THE CHANGES OF CATECHINS DURING THE FERMENTATION OF GREEN TEA

© 2005 г. Y.Y.Tu*,***, H.L.Xia**, N.Watanabe***

*Department of Tea Science, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China;

[e-mail: tuyying@mail.hz.zj.cn](mailto:tuyying@mail.hz.zj.cn)

**College of Food Science, Biotechnology & Environmental Engineering, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310035, China

***Department of Applied Biological Chemistry, Shizuoka University, 836 Ohya, Shizuoka 422-8529, Japan

The dynamics of tea catechins and organic acids in fermented fluid and yeast cells were studied. The concentration of eight kinds of catechins solution decreased by from 29.6% to 47.6%, respectively, some catechins were absorbed and accumulated by yeast cells, but the amount in the cells was very low during the fermentation process. The investigation of catechins resolved in four citrate buffers with a pH range of 2.6-5.6 for 18 h showed that most catechins were stable in buffer solutions of pH 4.6 and 5.6, and significant losses took place in solutions of pH 2.6 and 3.6. However, most catechins were released and recovered by adjusting the pH value to 5.6, which suggested that catechins in extremely acidic buffer solutions might reversibly combine each other or with other compounds.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ХЕРЕСНЫХ ДРОЖЖЕЙ *Saccharomyces cerevisiae*

© 2005 г. Е.С.Наумова, Ю.В.Иванникова, Г.И.Наумов

Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции
промышленных микроорганизмов, Москва, 117545;

[e-mail: gnaumov@yahoo.com](mailto:gnaumov@yahoo.com)

Молекулярно-генетическое изучение дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, выделенных на разных стадиях хересного виноделия (молодое вино, криадера, солера) в различных винодельческих районах Испании, показало, что хересные дрожжи дивергировали от дрожжей первичного виноделия по ряду физиологических и молекулярных маркеров. Все хересные штаммы, независимо от места и времени их выделения, характеризуются

наличием делеции в 24 пары нуклеотидов в районе ITS 1 рибосомальной ДНК, которая отсутствует у дрожжей первичного виноделия. Обнаружено большое сходство молекулярных кариотипов хересных дрожжей из разных популяций.

DECOLORIZATION OF ALCOHOL DISTILLERY WASTEWATER BY THERMOTOLERANT WHITE-ROT FUNGI

© 2005 г. P.Chairattananakorn*, T.Imai*, R.Kondo**, M.Sekine*, T.Higuchi*, M.Ukita*
**Department of Civil and Environmental Engineering, Yamaguchi University, Yamaguchi, 755-8611, Japan;*

[e-mail: imai@yamaguchi-u.ac.jp](mailto:imai@yamaguchi-u.ac.jp)

***Department of Forest and Forest Products Sciences, Faculty of Agriculture, Kyushu University, Fukuoka, 812-8581, Japan*

To detect thermotolerant fungus strain for decolorization of alcohol distillery wastewater (WAD), 38 fungus strains were studied. Ability of ligninolytic enzyme production was examined at 35 and 43°C on agar media containing 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) and MnCl₂. At 43°C, four of *Pycnoporus coccineus* strains showed their higher potential for WAD decolorization both on agar media and in liquid media. Immobilized mycelia on polyurethane foam removed total phenol about threefold higher than free mycelia did in shaking condition at 43°C. Moreover, color removed by immobilized mycelia nearly 50% higher than free mycelia did.

ИММУНОФЕРМЕНТНЫЙ АНАЛИЗ АМПИЦИЛЛИНА В МОЛОКЕ

© 2005 г. Ж.В.Самсонова, О.С.Щелокова, Н.Л.Иванова, М.Ю.Рубцова, А.М.Егоров
Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, химический факультет, Москва, 119992;

[e-mail: jvs@enz.chem.msu.ru](mailto:jvs@enz.chem.msu.ru)

Разработан непрямой иммуноферментный анализ для количественного определения ампициллина в диапазоне концентраций 10-1000 нг/мл в буфере и молоке. Поликлональные антитела получали на конъюгат ампициллина с бычьим сывороточным альбумином, синтезированным методом прямой конденсации с использованием карбодиимида. Антитела характеризовались специфичностью к ампициллину и невысокой перекрестной реактивностью к другим пенициллинам: азлоциллин 17%, пенициллин G 10%, пиперациллин 5%, карбенициллин 4%. Совместное использование буфера, содержащего 1% казеина, и разведение образцов позволило свести к минимуму матричный эффект. Предел обнаружения ампициллина - 5.0 нг/мл для молока, разведенного в 10 раз или 50 нг/мл в пересчете на исходный образец.

КОНЬЮГАЦИЯ ФЕНОЛА С ПЕПТИДАМИ И КОНЕЧНЫЕ ПРЕВРАЩЕНИЯ КОНЬЮГАТОВ В ПРОРОСТКАХ РАЙГРАСА

© 2005 г. Д.И.Чрикишвили*, Э.П.Ломидзе*, Т.И.Митаишвили**

*Институт биохимии и биотехнологии им. С. В. Дурмишидзе АН Грузии, Тбилиси, 0159

**Аграрный университет Грузии, Тбилиси, 0131;

[e-mail: sadunishvili@hotmail.com](mailto:sadunishvili@hotmail.com)

Изучена трансформация [$1-^{14}\text{C}$]фенола в проростках райграса английского (*Lolium perenne* L.) при усвоении в виде паров. Фенол связывался с низкомолекулярными растительными пептидами с образованием фенол-пептидных конъюгатов. Около 3/5 усвоенного растением фенола конъюгировалось с низкомолекулярными пептидами. После удаления растений из атмосферы, содержащей фенол, количество конъюгатов постепенно снижалось. Процесс сопровождался выделением меченого углекислого газа. Около 1/4 части усвоенного фенола подвергалось окислительному расщеплению ароматического кольца. Полученный алифатический фрагмент вовлекался в общий метаболизм клетки и окислялся до углекислого газа.

ОТВЕТНАЯ РЕАКЦИЯ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ НА ДЕЙСТВИЕ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР: ОБРАЗОВАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И АКТИВНОСТЬ L-ФЕНИЛАЛАНИН-АММИАК-ЛИАЗЫ

© 2005 г. Н.А.Олениченко. Н.В.Загоскина

Институт физиологии растений им.К.А.Тимирязева РАН, Москва 127276;

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

Изучали образование растворимых и полимерных (лигнин) фенольных соединений, активность L-фенилаланин-аммиак-лиазы (ФАЛ, КФ 4.3.1.5) и содержание свободного L-фенилаланина во время холодового закаливания растений озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Показали, что при низкотемпературном воздействии в листьях растений увеличивалось накопление растворимых фенольных соединений, тогда как количество лигнина не менялось. В узлах кущения тенденция была противоположной. Активность ФАЛ во всех случаях была ниже, чем в контроле, что сопровождалось увеличением содержания в тканях свободного L-фенилаланина.

ОКСИДАЗНО-ПЕРОКСИДАЗНЫЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ЭТАНОЛА В СУСЛЕ И ВИНМАТЕРИАЛАХ

© 2005 г. Г.Н.Павлишко*, О.В.Рябина**, Т.А.Жилякова**, И.Ю.Сахаров***,
В.Г.Гержикова**, М.В.Гончар*

*Институт биологии клетки НАН Украины, 79005, г. Львов, Украина;

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

**Институт винограда и вина "Магарач", 98600, Ялта, Украина

*** Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, 119992;

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

Описан новый алкогольоксидазно-пероксидазный метод определения содержания этанола в сбраживаемом сусле и винных продуктах и проведено его сравнение с общепринятыми в

виноделии подходами. Определены чувствительность, точность и надежность предложенного метода. Полученные результаты определения этанола в сбраживаемом сусле и винах хорошо коррелировали с данными рефрактометрического ($R = 0.9595$; $p < 0.0001$) и денситометрического ($R = 0.9384$; $p < 0.0001$) методов. Предложенный метод является более быстрым и менее трудоемким, что позволяет проводить тестирование серии винных образцов.

АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ЭФИРНЫХ МАСЕЛ. АВТООКИСЛЕНИЕ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ ЛАВРА, ФЕНХЕЛЯ И ИХ СМЕСИ С ЭФИРНЫМ МАСЛОМ КОРИАНДРА

© 2005 г. Т.А.Мишарина, А.Н.Полшков

Институт биохимической физики им.Н.М.Эмануэля РАН, Москва 119991;

Методом капиллярной газо-жидкостной хроматографии изучены изменения в составе эфирных масел лавра благородного (*Laurus nobilis* L.), семян фенхеля (*Foeniculum vulgare* Mill., var. *dulce* Thelling) и их смеси с эфирным маслом кориандра (*Coriandrum sativum* L.) в процессе их автоокисления без доступа света и на свету. Найдено, что эфирное масло лавра стабильно при хранении в этих условиях в течение 12 мес. Эфирное масло фенхеля быстро окислялось на свету и медленнее без доступа света. Установлено, что основной компонент этого масла - транс-анетол обладал меньшей антиоксидантной активностью, чем эфирное масло кориандра. Смесь эфирных масел лавра и кориандра обладала антиоксидантными свойствами и эффективно ингибировала окисление компонентов масла фенхеля.