

АЭРОБНАЯ ПЕРЕРАБОТКА ОРГАНИЧЕСКИХ ОТХОДОВ В КОМПОСТЫ

© 2006 г. А.Д.Неклюдов, Г.Н.Федотов, А.Н.Иванкин

*Московский государственный университет леса, г. Мытищи, Московская область,
141001; e-mail: aivankin@mgul.ac.ru*

Обзор посвящен современным достижениям в области аэробной переработки отходов в компосты для улучшения экологического состояния окружающей среды и целенаправленного использования при интенсификации сельского хозяйства. Рассмотрены методы получения и характеристики продуктов микробиологической трансформации бытовых, сельскохозяйственных и промышленных отходов.

МОДИФИКАЦИЯ КАТАЛАЗЫ ГЛУТАРОВЫМ АЛЬДЕГИДОМ

© 2006 г. Р.Н.Мишаева, Л.Р.Гудкин, Н.П.Кузнецова

*Институт высокомолекулярных соединений РАН, г. Санкт-Петербург, 199004;
e-mail: strelka@imc.macro.ru*

Изучена поликонденсация каталазы (КФ 1.11.1.6) с глутаровым альдегидом с целью стабилизации четвертичной структуры фермента, сохранения активности и защиты от термической денатурации. В результате синтеза обнаружено сверхэквивалентное расходование альдегидных групп по сравнению с аминными группами каталазы вследствие образования олигомеров глутарового альдегида, присоединенных к ферменту.

ВЛИЯНИЕ СТРУКТУРЫ БИОСОРБЕНТА НА РАВНОВЕСНЫЕ И КИНЕТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ СОРБЦИИ ЭРИТРОМИЦИНА А

© 2006 г. И.С.Гаркушина, Н.М.Ежова, О.А.Писарев

*Институт высокомолекулярных соединений РАН, г. Санкт-Петербург, 199004;
e-mail: pisarev@imc.macro.ru*

Использование специально синтезированных сорбентов с поверхностным расположением карбоксильных групп увеличивало значение эффективного коэффициента диффузии эритромицина в 4 раза, а максимальную сорбционную емкость по антибиотику в 2 раза по сравнению с характеристиками, полученными при использовании макропористого сульфокатионита MN-500. Полная обратимость сорбции антибиотика наблюдалась при применении комбинированного элюента способного к конкурентному взаимодействию с сорбентом и не разрушающего структуру эритромицина.

УГЛЕВОДНАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ ЛЕКТИНОВ СВЕЯЩИХСЯ БАКТЕРИЙ

© 2006 г. Г.А.Выдрякова

Институт биофизики СО РАН, Красноярск, 660036; e-mail: vg@ibp.ru

В реакциях гемагглютинации для 70 культур четырех видов светящихся бактерий показано наличие лектинов на поверхности клеток. Установлено ингибирование гемагглютинации светящихся бактерий глюкозой, мальтозой, фруктозой, маннозой и N-ацетил-D-глюкозамином, а также различия в ингибировании гемагглютинации светящихся и несветящихся (спонтанные мутанты) культур-симбионтов N-ацетил-D-галактозамином. Ингибирование гемагглютинации симбиотических светящихся бактерий N-ацетил-D-галактозамином и отсутствие ингибирования N-ацетил-D-галактозамином в случае симбиотических культур, утративших свечение, свидетельствует о возможном участии лектинов с N-ацетил-D-галактозаминной специфичностью в формировании и функционировании симбиоза светящихся бактерий с морскими животными, обладающими световыми органами.

PHYSIOLOGICAL CHANGES INDUCED IN FOUR BACTERIAL STRAINS FOLLOWING OXIDATIVE STRESS

© 2006 г. S.Baatout, P.De Boever, M.Mergeay

Laboratory of Microbiology and Radiobiology SCK•CEN, Belgian Nuclear Research Centre, B-2400 Mol, Belgium, e-mail: sbaatout@sckcen.be

In order to study the behaviour and resistance of bacteria under extreme conditions, physiological changes associated with oxidative stress were monitored using flow cytometry. The study was conducted to assess the maintenance of membrane integrity and potential as well as the esterase activity, the intracellular pH and the production of superoxide anions in four bacterial strains (*Ralstonia metallidurans*, *Escherichia coli*, *Shewanella oneidensis* and *Deinococcus radiodurans*). The strains were chosen for their potential usefulness in bioremediation. Suspensions of *R. metallidurans*, *E. coli*, *S. oneidensis* and *D. radiodurans* were submitted to 1 h oxidative stress (H_2O_2 at various concentrations from 0 to 880 mM). Cell membrane permeability (propidium iodide) and potential (rhodamine-123, 3,3'-dihexyloxycarbocyanine iodide), intracellular esterase activity (fluorescein diacetate), intracellular reactive oxygen species concentration (hydroethidine) and intracellular pH (carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester (5(6))) were monitored to evaluate the physiological state and the overall fitness of individual bacterial cells under oxidative stress. The four bacterial strains exhibited varying sensitivities towards H_2O_2 . However, for all bacterial strains, some physiological damage could already be observed from 13.25 mM H_2O_2 onwards, in particular with regard to their membrane permeability. Depending on the bacterial strains, moderate to high physiological damage could be observed between 13.25 mM and 220 mM H_2O_2 . Membrane potential, esterase activity, intracellular pH and production of superoxide anion production were considerably modified at high H_2O_2 concentrations in all four strains. In conclusion, we show that a range of significant physiological alterations occurs when bacteria are challenged with H_2O_2 and fluorescent staining methods coupled with flow cytometry are useful for monitoring the changes induced not only by oxidative stress but also by other stresses like temperature, radiation, pressure, pH, etc...

ПОЛОЖИТЕЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ *Propionibacterium freudenreichii* НА РОСТ *Saccharomyces cerevisiae* ПРИ СОВМЕСТНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ

© 2006 г. И.В.Данилова*, Т.В.Быковченко**, Е.П.Рыжкова*

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, [e-mail: jane-r-iord@mail.ru](mailto:jane-r-iord@mail.ru)

**Государственный научно-исследовательский институт хлебопекарной промышленности, Москва, 107553

Характер роста *Saccharomyces cerevisiae* и *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* (*P. shermanii*, ПКБ) при их совместном культивировании на жидких средах зависел от соотношения количества клеток культур в инокуляте. Ускорение роста *S. cerevisiae* наблюдали при соотношении клеток ПКБ - дрожжи, равном примерно 3:1; его превышение отрицательно сказывалось на росте дрожжей. Культуральная жидкость 18-24-часовой ("молодой") культуры ПКБ стимулировала рост дрожжей. Экзометаболит(ы) ПКБ, стимулирующий рост дрожжей, не являлся высокомолекулярным соединением, но был термолabileм. Антимикробный агент - пропионат натрия вплоть до 1.5% концентрации в среде позволял *S. cerevisiae* расти, но полностью подавлял рост *Bacillus subtilis* при концентрации 0.2%.

STABILITY STUDY ON THE NITRILE HYDRATASE OF *Nocardia* sp. 108: FROM RESTING CELL TO CRUDE ENZYME PREPARATION

© 2006 г. Y.J.Wang, Y.G.Zheng, R.C.Zheng, Y.C.Shen

Institute of Bioengineering, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, P.R. China;
[e-mail: zhengyg@zjut.edu.cn](mailto:zhengyg@zjut.edu.cn)

In recent years, nitrile hydratases (NHases) have drawn increasing attentions due to their critical roles in organic synthesis. In present paper, extensive investigation on the stability and activity of the NHase from *Nocardia* sp. 108, which is succeed in the industrial application in China, were conducted by the bioconversion of acrylonitrile to acrylamide in a batch manner. Cultivation study demonstrated that biosynthesis of NHase changed significantly with culture time, and the optimal NHase biosynthesis phase was 45 h after inoculation with NHase activity of 1209.8 U/g of biomass. Stability study indicated that crude enzyme preparation both exhibit a good stability when exposed to the pH 7.2 tris-HCl buffer at 4 °C for 4 h.

ВЛИЯНИЕ ГЛИНИСТЫХ МИНЕРАЛОВ НА РОСТ ФОСФАТМОБИЛИЗУЮЩИХ БАКТЕРИЙ *Bacillus subtilis*

© 2006 г. И.К.Курдиш, З.Т.Бега

Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины, Киев, 03143; e-mail: Kurdish@serv.imv.kiev.ua

Показано, что глинистые минералы монтмориллонит и палыгорскит в концентрации 0.2-1.0% существенно стимулируют рост фосфатмобилизующих бактерий *Bacillus subtilis* при их культивировании в среде, содержащей в качестве единственного источника фосфорного питания труднорастворимый $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Наиболее заметное влияние этих минералов наблюдалось при их содержании 0.5-1.0%. Глинистые минералы коллоидной дисперсности

оказывали более выраженное стимулирующее влияние на рост бактерий, чем порошкообразные. Повышение концентрации монтмориллонита или палыгорскита в среде до 2% сопровождается ингибированием роста фосфатмобилизующих бактерий. При таком его содержании на минерале сорбируется около 22% глюкозы и 11.3% фосфата, вносимых в питательную среду.

АЛКАНОТРОФНЫЕ РОДОКОККИ КАК КАТАЛИЗАТОРЫ ПРОЦЕССА БИОДЕСТРУКЦИИ НЕПРИГОДНЫХ К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

© 2006 г. И.Б.Ившина*, М.И.Рычкова*, Е.В.Вихарева**, Л.А.Чекрышкина**,
И.И.Мишенина**

* *Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, 614081;*
[e-mail: ivshina@iegm.ru](mailto:ivshina@iegm.ru)

***Пермская государственная фармацевтическая академия, Пермь, 614990;*
[e-mail: perm@pfa.ru](mailto:perm@pfa.ru)

Изучена возможность биологической деструкции непригодных к медицинскому использованию лекарственных веществ, содержащих в своей структуре фенольный гидроксил, с использованием актинобактерий рода *Rhodococcus* (6 видов, 64 штамма). Установлено, что родококки обладают способностью трансформировать парацетамол, при этом отдельные штаммы *R. ruber* демонстрируют высокий уровень конверсии исследуемого субстрата. Разработан эффективный способ идентификации и количественного определения парацетамола и продуктов его трансформации (п-аминофенола, пирокатехина, гидрохинона) непосредственно в культуральной жидкости. Подобраны оптимальные условия для полной биоконверсии парацетамола в виде готовой лекарственной формы (таблеток). Полученные экспериментальные данные могут быть использованы при разработке биотехнологических способов утилизации лекарственных средств - фальсифицированных, бракованных и с истекшим сроком годности.

ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОЦЕССА ДЕГРАДАЦИИ ФЛУОРЕНА ШТАММОМ *Rhodococcus rhodochrous* 172

© 2006 г. Г.Е.Рубашко**, М.П.Коломыцева*, Л.А.Головлёва*

**Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, г. Пущино,
Московская область, 192290; e-mail: golovleva@ibpm.pushchino.ru*

**Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, г. Пущино,
Московская область, 192290; e-mail: golovleva@ibpm.pushchino.ru*

***Пущинский государственный университет, г. Пущино, Московская область, 192290*

Для повышения способности штамма *Rhodococcus rhodochrous* 172 утилизировать флуорен в качестве единственного источника углерода и энергии в жидкой среде успешно использовали: внесение поликапрамидного волокна в среду и предварительную адаптацию клеток на агаризованной среде с флуореном. Показано, что совмещение обоих подходов позволило осуществить полную деградацию флуорена без накопления промежуточных продуктов.

СООКИСЛЕНИЕ ФЕНОЛА И 4-АМИНОАНТИПИРИНА, КАТАЛИЗИРУЕМОЕ ПОЛИМЕРАМИ И СОПОЛИМЕРАМИ ПЕРОКСИДАЗЫ КОРНЯ ХРЕНА И ГЛЮКОЗООКСИДАЗЫ *Penicillium funiculosum* 46.1

© 2006 г. А.Н.Ерёмин*, Т.В.Семашко**, Р.В.Михайлова**

*Институт биоорганической химии НАН Белоруссии, Минск, 220141;

[e-mail: yan47@mail.ru](mailto:yan47@mail.ru)

**Институт микробиологии НАН Белоруссии, Минск, 220141;

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

Синтезированы полимеры и сополимеры пероксидазы корня хрена (ПХ) и глюкозооксидазы (ГО) *Penicillium funiculosum* 46.1 и охарактеризованы их каталитические свойства в свободном и иммобилизованном состояниях. Реакция соокисления фенола и 4-аминоантипирина (4-ААП) в водной среде в присутствии эквимольных концентраций ГО и ПХ характеризовалась эффективными константами K_m и $k_{кат}$ 0.58 мМ и 20.9 с⁻¹ (по фенолу) и 14.6 мМ и 18.4 с⁻¹ (по глюкозе). Каталитическая эффективность полимерных продуктов (пп) ГО (ппГО) зависела от степени их агрегирования. Перспективными для практического использования в ферментных аналитических системах являются сочетания "ГО + ппПХ", "ПХ + ппГО", а также сополимер ПХ*-ппГО. Полимерные продукты ГО, адсорбированные на геле гидроксида алюминия, характеризовались более высокой каталитической активностью по сравнению с неполимерным ферментом. В наибольшей степени активность ппГО на неорганическом носителе сохранялась при их сополимеризации с активированной ПХ. Полимеризация ПХ в присутствии геля гидроксида цинка с параллельной иммобилизацией ппПХ на геле благоприятно отражалась на активности и операционной стабильности фермента.

ВЛИЯНИЕ СУПЕРЭКСПРЕССИИ ГЕНА ТАУМАТИНА НА СВОЙСТВА Н⁺-АТФазы ПЛАЗМАЛЕММЫ КЛЕТОК КЛУБНЯ КАРТОФЕЛЯ

© 2006 г. Э.П.Ладыженская, Н.П.Кораблева

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

Введение гена тауматина в растения картофеля сопровождалось снижением активности Н⁺-АТФазы плазмалеммы (ПЛ) клеток клубней. При выходе из покоя происходила активация фермента клеток клубней исходных и трансгенных растений. В опытах *in vitro* установлено, что после окончания покоя чувствительность Н⁺-АТФазы ПЛ из клубней исходных растений к действию амбиола (АМ) и жасмоновой кислоты (ЖК) ниже, а в препаратах из клубней трансгенных растений выше, чем в период глубокого покоя. Обнаружены различия в активности Н⁺-АТФазы ПЛ препаратов, полученных из исходных и трансгенных клубней, прораставших под действием АМ и ЖК. Таким образом, суперэкспрессия гена тауматина в растениях картофеля изменяет свойства Н⁺-АТФазы ПЛ.

ИНДУКЦИЯ БИОСИНТЕЗА ЛАККАЗЫ КАК СПОСОБ УВЕЛИЧЕНИЯ ПОТЕНЦИАЛА ДЕТОКСИФИКАЦИИ БАЗИДИОМИЦЕТАМИ

© 2006 г. О.Н.Горбатова, О.В.Королёва, Е.О.Ландесман, Е.В.Степанова, А.В.Жердев
Институт биохимии им.А.Н.Баха РАН, Москва, 119071 [e-mail: olia77@yandex.ru](mailto:olia77@yandex.ru)

Исследовано влияние гваякола и синингалдазина, индукторов биосинтеза оксидоредуктаз, на способность штаммов *Coriolus hirsutus*, *Corioloopsis fulvocinerea*, *Cerrena maxima* и культуры *Coriolus hirsutus* / *Cerrena maxima* утилизировать гербицид атразин при глубинном культивировании. Все базидиомицеты уменьшали концентрацию атразина как в присутствии синингалдазина и гваякола, так и в их отсутствие, причем для индуцированных культур эффективность убыли была выше (68-94% без индукции, 77-98% с индукцией). Из 4 штаммов наибольшим детоксифицирующим потенциалом обладал *Corioloopsis fulvocinerea* в отсутствие и в присутствии индуктора (с гваяколом убыль достигала 98%), а наименьшим - *Cerrena maxima*. Индукторы по-разному действовали на различные культуры, вызывая большее или меньшее падение концентрации атразина. В присутствии атразина как в индуцированных, так и в неиндуцированных культурах наблюдалась долговременная стимуляция биосинтеза лакказы, тогда как активность Мп-пероксидазы снижалась. Полученные результаты свидетельствуют о том, что лакказа оказывает большее влияние на биodeградацию атразина по сравнению с Мп-пероксидазой.

РОЛЬ ЭЛЕМЕНТОВ В РЕГУЛЯЦИИ ОБРАЗОВАНИЯ И НАКОПЛЕНИЯ АЛКАЛОИДОВ В ПРОРОСТКАХ *Papaver somniferum* L.

© 2006 г. М.Я.Ловкова*, Г.Н.Бузук**, С.М.Соколова***

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

**Витебский медицинский университет, Витебск, 210026, Беларусь;

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

***Главный ботанический сад им. Н.В.Цицина, РАН, Москва, 127276;

[e-mail: gbs@aix.ru](mailto:gbs@aix.ru)

У проростков мака снотворного (*Papaver somniferum* L.) исследовано влияние 12 элементов на образование и накопление изохинолинов и определены три типа зависимости их действия от концентрации. Установлена роль ряда элементов в качестве активаторов (Со, Мо, W, Cr и Cu), а также в качестве ингибиторов (В, Fe, V, Mn и Са) этих процессов. Рассмотрены молекулярные механизмы действия элементов - регуляторов двух перечисленных типов и предложены оптимальные концентрации Со и Мо при их совместном применении.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ БЕЛКА AGR2 - НОВОГО ПОТЕНЦИАЛЬНОГО МАРКЕРА РАКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПРОТЕОМНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

© 2006 г. Л.И.Ковалёв***, С.С.Шишкин***, П.З.Хасигов***, Н.К.Дзеранов****, А.В.Казаченко****, М.А.Ковалёва*, И.Ю.Торопыгин*****, С.В.Мамыкина**
*Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва, 119071; e-mail: kovalyov@inbi.ras.ru
**НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН, Москва, 125315
***Московская медицинская академия им. И. М. Сеченова, Москва, 119992
****НИИ урологии МЗ РФ, Москва, 105425
*****НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАМН, Москва, 125459

С целью поиска белковых диагностических маркеров проведен сравнительный анализ белков в образцах тканей простаты больных, оперированных по поводу гиперплазии (n=7) или рака (n=5). С помощью двумерного электрофореза по О'Фарреллу обнаружены различия по нескольким минорным белкам, при этом у четырех больных раком наблюдалось появление дополнительного белка с молекулярной массой 19 кДа и ИЭТ 9.0. Методом масс-спектрометрии этот белок идентифицирован как андроген-индуцируемый секретлируемый белок AGR2. Обсуждается возможность использования AGR2 как диагностического маркера рака простаты.

ТОЧНОСТЬ МЕТОДА ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ "В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ" ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ СОДЕРЖАНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ

© 2006 г. Д.Д.Абрамов*, Д.Ю.Трофимов**, Д.В.Ребриков**
*ГНЦ Институт иммунологии Минздрава России, Москва, 115478
**ЗАО "НПФ ДНК-Технология", Москва, 115478; e-mail: 1denis@dna-technology.ru

Для оценки точности определения содержания генетически модифицированных источников (ГМИ) в пищевых продуктах методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) "в реальном времени" использовали две официально утвержденные системы праймеров и проб (система, рекомендованная Федеральным центром Госсанэпиднадзора Минздрава России и система, предложенная Еврокомиссией) и три различные модели детектирующих амплификаторов (АйСайклер АйКью, ("Био-Рад", США), РоторДжин 3000 ("Корбетт Ресеч", Австралия) и ДТ-322 (ЗАО "НПФ ДНК-Технология", Россия)). Полученные результаты показали, что ошибка определения содержания ГМИ в пищевых продуктах для исследуемых образцов с однопроцентным содержанием ГМИ составляла 20-30% независимо от выбранной системы или модели амплификатора.

КОЛЛАГЕНОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ У НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ДЕЙТЕРОМИЦЕТОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДАХ ХРАНЕНИЯ

© 2006 г. М.Б.Яковлева, Т.Л.Хоанг, З.К.Никитина
Научно-исследовательский центр биомедицинских технологий "ВИЛАР", Москва, 123056
e-mail: nic_bmt_vilar@mtu-net.ru

Исследовалась способность дейтеромицетов родов *Penicillium*, *Aspergillus* и *Botrytis* сохранять коллагенолитическую активность через 2 и 10 лет хранения на среде Чапека под

слоем вазелинового масла при 4°С и в гранулах силикагеля при 20° и -60°С. Для сохранения ферментативной активности у одних видов: *Botrytis terrestris*, *Penicillium janthinellum*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium citrinum* - приемлемы оба способа хранения, для *Aspergillus repens* - только под слоем вазелинового масла. Показано влияние температуры хранения на жизнеспособность конидий и коллагенолитическую активность через 10 лет поддержания на силикагеле *B. terrestris*, *P. janthinellum*, *P. chrysogenum* и *P. citrinum*. Лучшая выживаемость установлена в опытах хранения на силикагеле при -60°С для всех исследованных штаммов. Штамм *Aspergillus repens* полностью утрачивал способность растворять коллаген при всех температурах хранения на силикагеле. Обнаружено повышение индекса лизиса по сравнению с исходным после 10-летнего хранения на силикагеле при -60°С у трех исследованных штаммов дейтеромицетов рода *Penicillium*: *P. janthinellum*, *P. chrysogenum* и *P. citrinum*.