

**СОРБЕНТЫ С ИММОБИЛИЗОВАННЫМИ ГЛИКОПЕПТИДНЫМИ
АНТИБИОТИКАМИ ДЛЯ РАЗДЕЛЕНИЯ ОПТИЧЕСКИХ ИЗОМЕРОВ МЕТОДОМ
ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ**

© 2006 г. М.А.Кузнецов*, П.Н.Нестеренко*, Г.Г.Васяров**, С.М.Староверов*,**

*Московский государственный университет им.М.В.Ломоносова, Химический
факультет, Москва, 119899; e-mail: kusnetsovm@rambler.ru

**ЗАО "БиоХимМак СТ", Москва, 119899

Синтезированы хиральные сорбенты с закрепленным на поверхности силикагеля гликопептидными антибиотиками - эремомицином и его эремозаминилагликоном, ристомиицином и ванкомицином для разделения оптических изомеров методом ВЭЖХ. Изучены закономерности удерживания и разделения изомеров профенов в зависимости от природы хирального селектора и состава элюента. Показана высокая энантиоселективность сорбентов при разделении изомеров α -амино-, α -окси- и α -метилфенилкарбоновых кислот (профены).

**СОСТАВ И СОДЕРЖАНИЕ ХИТИН-ГЛЮКАНОВОГО КОМПЛЕКСА В
ОНТОГЕНЕЗЕ ГРИБА *Aspergillus niger***

© 2006 г. Е.П.Феофилова, Д.В.Немцев, В.М.Терёшина, А.С.Меморская

Институт микробиологии им.С.Н.Виноградского РАН, Москва, 117312; e-mail:
feofilov@inmi.host.ru

В процессе онтогенеза аскомицетного гриба *Aspergillus niger* изменялось содержание и состав хитин-глюканового комплекса (ХГК). В глубинном мицелии содержалось больше глюкана, а у спороносец и спор преобладал хитин. Наибольшее содержание ХГК отмечено в спороносцах в терминальной фазе и в глубинном мицелии в идиофазе, т.е. перед образованием покоящихся клеток. На основании корреляции состава и содержания липидов, протекторных углеводов и ХГК высказано предположение о защитной функции структурных полисахаридов клеточной стенки в биохимической адаптации к стрессовым воздействиям.

**СОЗДАНИЕ НОВОЙ СИСТЕМЫ ФЕРМЕНТ-РЕДОКС-МЕДИАТОР НА ОСНОВЕ
ГРИБНОЙ ЛАККАЗЫ И КООРДИНАЦИОННЫХ КОМПЛЕКСОВ РУТЕНИЯ**

© 2006 г. Т.В.Фёдорова*, А.С.Вилесов*, С.А.Курзеев**, Е.В.Степанова*,

Е.О.Ландесман*, О.В.Королёва*

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

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

Проведена модификация лакказы, продуцируемой грибом *Coriolus hirsutus*, рутениевыми комплексами $[\text{Ru}(\text{phry})(\text{phen})(\text{MeCN})_2]\text{PF}_6$ и $\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{CO}_3$ в аэробных и анаэробных условиях. Количество координационно связанных комплексов на молекулу фермента не зависело от содержания кислорода в среде и составляло в случае $[\text{Ru}(\text{phry})(\text{phen})(\text{MeCN})_2]\text{PF}_6$ - 5 молекул, а $\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{CO}_3$ - 3 молекулы. Исследованы рН-профиль ферментативной активности, термостабильность, каталитические и биоэлектрокаталитические характеристики модифицированной лакказы. Показано, что при

координационной модификации хотя бы одна молекула рутениевого комплекса координировалась вблизи активного центра Г1 лакказы и принимала непосредственное участие в катализе, увеличивая его эффективность.

ДИНАМИКА ОКСИДАЗНОЙ АКТИВНОСТИ В ПРОЦЕССЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ РОДА *Trametes* Fr.

© 2006 г. Е.С.Горшина*, Т.В.Русинова*, В.В.Бирюков*, О.В.Морозова**, С.В.Шлеев**,
А.И.Ярополов**

*Московский государственный университет инженерной экологии, Москва, 105066;

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

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

На основании изменения оксидазной активности в глубинной культуре был проведен скрининг 20 штаммов дереворазрушающих грибов рода *Trametes* Fr., обладающих способностью синтезировать лакказы. Установлен диапазон максимальной продуктивности по экстрацеллюлярной оксидазной активности для различных видов. Показано отсутствие корреляции между оксидазной активностью в глубинной культуре и величиной зоны окрашивания на агаризованных средах (реакция Бавендамма). Из наиболее продуктивных штаммов *T.hirsuta* 56 и *T.ochracea* 92-78 получены лакказы, гомогенные по данным ДДС-электрофореза. Определены некоторые биохимические показатели, характеризующие данные ферменты.

ЛАККАЗА ЛИГНИНОЛИТИЧЕСКОГО ГРИБА *Trametes hirsuta*: ОЧИСТКА И ХАРАКТЕРИСТИКА ФЕРМЕНТА, КЛОНИРОВАНИЕ И ПЕРВИЧНАЯ СТРУКТУРА ГЕНА

© 2006 г. Д.Н.Ребриков*, Е.В.Степанова**, О.В.Королёва**, Ж.И.Бударина***,
М.В.Захарова***, Т.В.Юркова***, А.С.Солонин***, О.В.Белова***, З.А.Пожидаева***,
А.А.Леонтьевский***

*ЗАО "НПФ ДНК-Технология", Москва, 115478;

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

***Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им Г.К.Скрябина РАН, Пуцино,
142290

Исследованы основные физико-химические характеристики мажорной изоформы лакказы, секретлируемой грибом *Trametes hirsuta* 072. Фермент относится к группе высокоредокс-потенциальных лакказ (E0T1 790 ± 5) и окисляет различные субстраты фенольной природы с высокой эффективностью. Ген этой изоформы был клонирован и определена его нуклеотидная последовательность. Длина полного гена - 2134 н.п. В его составе выявлены 11 экзонов и 10 интронов. Анализ аминокислотной последовательности лакказы *T.hirsuta* 072 показал высокую гомологию (до 96.9%) с другими лакказами грибов рода *Trametes*.

СВОЙСТВА ГЕМИЦЕЛЛЮЛАЗ ФЕРМЕНТНОГО КОМПЛЕКСА *Trichoderma longibrachiatum*

© 2006 г. А.В.Марков*, А.В.Гусаков*, Е.И.Дзедзюля*, Б.Б.Устинов*, А.А.Антонов*,
О.Н.Окунев**, А.О.Беккаревич**, А.П.Синицын*

*Московский государственный университет им.М.В.Ломоносова, Химический
факультет, Москва, 119899; e-mail: kdz@enzyme.chem.msu.ru

**Институт биохимии и физиологии микроорганизмов РАН, Московская область,
Пушино, 142290; e-mail: oleg@ibpm.serpukhov.su

Из препаратов Целловиридин Г20х и Ксибетен-Ксил, полученных на основе штамма TW-1 *Trichoderma longibrachiatum* (*Trichoderma reesei*) выделены шесть ферментов, гидролизующих ксиланы. К ним относятся четыре ксиланазы (КСИЛ) КСИЛ I 20 кДа, рI 5.5, КСИЛ II 21 кДа, рI 9.5, КСИЛ III 30 кДа, рI 9.1; эндоглюканаза I (ЭГ I) 57 кДа, рI 4.6, с активностью ксиланазы, а также две экзодеполимеразы - β -ксилозидаза (β -КСИЛ) 80 кДа, рI 4.5 и β -L-арабинофуранозидаза I (α -L-АФ I) 55 кДа, рI 7.4. Определена субстратная специфичность выделенных ферментов. Наибольшей удельной ксиланазной активностью обладала КСИЛ II (190 Е/мг). Проведена оценка содержания ферментов в препаратах. Наибольший вклад в суммарную ксиланазную активность препарата Целловиридин Г20х вносила ЭГ I, КсибетенКсил - КСИЛ II. Изучено влияние температуры и рН на активность ферментов, их стабильность в различных условиях, а также кинетика исчерпывающего гидролиза глюкуроноксилана и арабиноксилана. Обнаружен синергизм при совместном действии на арабиноксилан эндодеполимераз (КСИЛ I, КСИЛ II, КСИЛ III, ЭГ I) и экзодеполимераз (α -L-АФ I и β -КСИЛ), а также антагонизм при совместном действии на глюкуроноксилан некоторых эндодеполимераз (КСИЛ I и ЭГ I) и α -L-АФ I.

СИНТЕЗ КСИЛАНОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ И ДРУГИХ КАРБОГИДРАЗ В ТРАНСФОРМАНТАХ ГРИБА *Penicillium canescens* С ИЗМЕНЕННЫМ ЧИСЛОМ КОПИЙ ГЕНА ТРАНСКРИПЦИОНАЛЬНОГО АКТИВАТОРА *xlnR*

© 2006 г. В.А.Серебряный*, О.А.Синицына**, Е.А.Фёдорова**, О.Н.Окунев***,
А.О.Беккаревич***, Л.М.Соколова***, Е.А.Вавилова*, Ю.П.Винецкий*, А.П.Синицын**

*Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции
промышленных микроорганизмов, Москва, 113545; e-mail: vsevolod_serebrianyi@agri.ru

**Московский государственный университет им.М.В.Ломоносова, Химический
факультет, Москва, 119899; e-mail: oasinityna@hotmail.com

***Институт физиологии и биохимии микроорганизмов РАН, Московская обл. Пушино,
142290; e-mail: oleg_nokunev@rambler.ru

Выделен фрагмент геномной ДНК *Penicillium canescens*, кодирующий ген *xlnR* активатора транскрипции ксиланолитических генов. Показано, что утрата функции этого гена в генетически модифицированных трансформантах приводила к резкому уменьшению продукции мажорной ксиланазы *P.canescens* и негативно влияла на синтез ряда других внеклеточных гликозидаз. Увеличение дозы гена *xlnR* приводило к возрастанию ксиланолитической активности, а так же других вспомогательных ферментов деградации ксилана. Активности двух мажорных секретлируемых ферментов *P.canescens*, β -галактозидазы и α -L-арабинофуранозидазы, оказались мало зависимы от активатора транскрипции *xlnR*.

НОВЫЕ ЦЕЛЛЮЛАЗЫ ДЛЯ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОГО ГИДРОЛИЗА ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗНОЙ БИОМАССЫ

© 2006 г. А.А.Скомаровский*, А.В.Марков***, А.В.Гусаков*, Е.Г.Кондратьева*,
О.Н.Окунев**, А.О.Беккаревич**, В.Ю.Матыс**, А.П.Синицын*

**Московский государственный университет им.М.В.Ломоносова, Химический
факультет, Москва, 119899; e-mail: askomarovsky@mail.ru*

***Институт биохимии и физиологии микроорганизмов РАН, Пуцино, 142290;
e-mail: askomarovsky@mail.ru*

****ООО НПК "Фермтек", Москва, 117647 e-mail: askomarovsky@mail.ru*

Проведено сравнение гидролитической активности коммерческих и лабораторных ферментных препаратов из грибов рода *Penicillium* и *Trichoderma* с использованием в качестве субстрата хвойной древесины, предобработанной органозольвом. Показано, что в большинстве случаев ферменты из грибов рода *Penicillium* обеспечивали более высокий выход восстанавливающих сахаров и глюкозы, чем препараты из *Trichoderma*, для достижения глубокого гидролиза целлюлозы важна высокая активность β -глюкозидазы.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРЕПАРАТА ГРИБНОЙ ПЕКТИН-ЛИАЗЫ В ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

© 2006 г. М.В.Семёнова*, О.А.Синицына**, В.В.Морозова**, Е.А.Фёдорова**,
А.В.Гусаков**, О.Н.Окунев***, Л.М.Соколова***, А.В.Кошелев***, Т.В.Бубнова***,
Ю.П.Винецкий**, А.П.Синицын**

**ООО НПК "Фермтек", Москва, 117647;*

***Московский государственный университет им.М.В.Ломоносова, Химический
факультет, Москва, 119899; e-mail: margarita@enzyme.chem.msu.ru*

****Институт биохимии и физиологии микроорганизмов РАН, г.Пуцино, Московская обл.,
142290*

Показана возможность использования в пищевой промышленности нового ферментного препарата грибной пектин-лиазы (КФ 4.2.2.10) на примерах получения сока из клюквы, а также осветления яблочного сока. Продемонстрирована конкурентная способность препарата пектин-лиазы при противопоставлении его коммерческим пектиназным препаратам. Выделенная в гомогенном виде пектин-лиаза имела молекулярную массу 38 кДа. Изучены свойства гомогенного фермента и показано его предпочтительное действие на высокоэтерифицированный пектин.

РОЛЬ ПРЕПАРАТОВ НЕЙТРАЛЬНО-ЩЕЛОЧНЫХ ПЕКТАТЛИАЗ В ПРОЦЕССЕ ОТВАРКИ ХЛОПЧАТОБУМАЖНОЙ ТКАНИ

© 2006 г. В.В.Морозова*, М.В.Семёнова*, Т.Н.Саланович*, О.Н.Окунев**, А.В.Кошелев**, Т.В.Бубнова**, Г.Е.Кричевский***, А.Г.Тиматков***, Н.В.Барышева***, А.П.Синицын*

**Московский государственный университет им.М.В.Ломоносова, Химический факультет, Москва, 119899; e-mail: margarita@enzyme.chem.msu.ru*

***Институт биохимии и физиологии микроорганизмов РАН, г.Пушкино, Московская обл., 142290;*

****Российский заочный институт текстильной и легкой промышленности, Москва, 117571*

Проведен сравнительный анализ свойств коммерческих и лабораторного препаратов пектатлиаз (КФ 4.2.2.2). Выявлено их различие при действии на пектины с разными степенями этерификации (СЭ): активность лабораторного препарата по отношению к субстрату со СЭ 70% была в 10 раз ниже активности к неэтерифицированной полигалактуроновой кислоте; для коммерческих препаратов аналогичное соотношение активностей составило 1.5-2 раза. При равных величинах пектатлиазной активности коммерческие препараты обладали лучшей способностью удалять пектин с поверхности материала в процессе биоотварки суровой хлопчатобумажной ткани. Лабораторный препарат в большей степени увеличивал капиллярность (смачиваемость) ткани благодаря синергетическому действию пектатлиазы, целлюлазы и гемицеллюлазы, присутствующих в препарате.

СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ ПОЛИГАЛАКТУРОНАЗНОГО И β -ГЛЮКОЗИДАЗНОГО ДЕЙСТВИЯ ДЛЯ СТАБИЛИЗАЦИИ ПЛОДОВОГО ВИНМАТЕРИАЛА ИЗ АЛЫЧИ

© 2006 г. Е.В.Степанова, Е.О.Ландесман, Т.В.Фёдорова, К.Э.Яковлева, О.В.Королёва
Институт биохимии им.А.Н.Баха, РАН, Москва, 119071; e-mail: evst@inbi.ras.ru

Ферментные препараты с максимальной полигалактуроназной и β -глюкозидной активностью (Пектофоетидин и Пектинекс) были ковалентно иммобилизованы на ДЕАЕ-целлюлозе и аминсилохромах 10 и 30. После обработки винматериала из плодов алычи (19 ч) растворимыми и иммобилизованными ферментными препаратами наблюдалось увеличение фенольных соединений на 26 и 40% соответственно с одновременным снижением количества белка (до 37%), углеводов (в среднем на 17%) и антиоксидантной активности (5-37%). Наиболее эффективной оказалась обработка иммобилизованным на аминсилохроме 10 Пектофоетидином: чистота винматериала и его антиоксидантная активность увеличивались на 100 и 10% соответственно.

ГИДРОЛИЗ ПШЕНИЧНОЙ МУКИ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ПРЕПАРАТОВ АМИЛАЗЫ И ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ

© 2006 г. И.Н.Зоров*, М.В.Семёнова*, Н.В.Цурикова**, А.П.Синицын*
*Московский государственный университет им.М.В.Ломоносова, Химический факультет,
Москва, 119899; e-mail: zorov@enzyme.chem.msu.ru*

***Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии РАСХН,
Москва, 109033*

Исследовано изменение реологических свойств пшеничной муки в процессах разваривания и осахаривания. Проведено сравнение действия ряда коммерческих α -амилазных препаратов в процессе разваривания муки: все препараты эффективно снижали вязкость зернового замеса. Выделены гомогенные глюкоамилазы из *Aspergillus*, отличающиеся наличием или отсутствием крахмалосвязывающего домена. Показано, что наличие крахмалосвязывающего домена у глюкоамилазы обеспечивает высокую активность к нерастворимому крахмалу, однако не дает преимущества при осахаривании предварительно разваренной пшеничной муки.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ КОРМОВЫХ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ ПРИ РАЗРУШЕНИИ НЕКРАХМАЛЬНЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ ЗЕРНОВЫХ СУБСТРАТОВ

© 2006 г. И.Н.Зоров, А.П.Синицын, Е.Г.Кондратьева
*Московский государственный университет им.М.В.Ломоносова, Химический факультет,
Москва, 119899; e-mail: apsinitsyn@enzyme.chem.msu.ru*

Проведено сравнение ряда коммерческих и лабораторных препаратов при обработке компонентов комбикормов. Отобраны наиболее перспективные препараты для обработки соевой муки, подсолнечника и пшенично-ячменной муки. Показано, что препарат 181-1008 с высокой протеазной активностью обеспечивал максимальный выход белка из соевой муки и подсолнечникового шрота. Препараты с высокими значениями активности пектиназы и α -галактозидазы aGA, AG20X, VR и лабораторный препарат B2000Mix обеспечивали высокий выход сахаров из цельной соевой муки. Препараты с высоким уровнем активности α -галактозидазы были лучшими для гидролиза растворимых углеводов из соевой муки. При обработке пшеничной и ячменной муки препаратами B2000Mix и aGA с невысокой, по сравнению с препаратами 3.130.2 и TG20X активностью ксиланазы, выход восстанавливающих сахаров был максимальный. Последние были лучшими при гидролизе пшеничных отрубей.

НОВЫЕ ПОЛИМЕРНЫЕ СИСТЕМЫ ДЛЯ КОНТРОЛИРУЕМОГО ВЫСВОБОЖДЕНИЯ ДИПИРИДАМОЛА И ИНДОМЕТАЦИНА НА ОСНОВЕ ПОЛИ-3-ГИДРОКСИБУТИРАТА

© 2006 г. А.П.Бонарцев***, Г.А.Бонарцева*, Т.К.Махина*, В.Л.Мышкина*,
Е.С.Лучинина*, В.А.Лившиц*, А.П.Босхомджиев*, В.С.Маркин**, А.Л.Иорданский**

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

***Институт химической физики им Н.Н.Семенова РАН, Москва 119991;*

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

Исследованы новые полимерные системы на основе поли-(3-гидроксibuтирата) для контролируемого высвобождения лекарственных веществ противовоспалительного и антитромбогенного действия. Высвобождение реализуется одновременно по диффузионному и деструктивному механизму. Рассмотрена диффузия дипиридамола и индометацина, определяющая скорость высвобождения на начальных временах контакта системы с окружающей средой (первые 6-8 сут). Показано, что коэффициент диффузии высвобождения лекарственных веществ зависит от природы лекарственного вещества, толщины пленок поли-(3-гидроксibuтирата), содержащих лекарственное вещество, от концентрации дипиридамола и индометацина и от молекулярной массы поли-(3-гидроксibuтирата). Изложенные результаты необходимы для разработки систем высвобождения различных лекарственных веществ с целью достижения необходимого физиологического эффекта воздействия на ткани и органы человека.

ПОЛУЧЕНИЕ БИОДЕГРАДИРУЕМЫХ ПОРИСТЫХ ПЛЕНОК ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В КАЧЕСТВЕ РАНЕВЫХ ПОКРЫТИЙ

© 2006 г. Н.Р.Кильдеева*, Г.А.Вихорева*, Л.С.Гальбрайт*, А.В.Миронов*,
Г.А.Бонарцева**, П.А.Перминов*, А.Н.Ромашова*

**Московский государственный текстильный университет им.А.Н.Косыгина, г.Москва, 119071;*

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

Изучен процесс получения полимерных пленок из формовочных композиций на основе смешанных растворов поли-3-гидроксibuтирата и поли-ε-капролактона в хлороформе и метиленхлориде. Исследование морфологии сколов пленок методом электронной микроскопии показало, что в процессе испарения растворителя формируется гетерогенная структура с системой взаимопроникающих пор (1-20 мкм). Предложен метод включения в состав полиэфирных пленок протеолитического фермента совместно с аминополисахаридом хитозаном. Полученные композиционные пленки, кроме некролитической активности, обладают повышенной гидрофильностью. Свойства полученных ферментсодержащих пленок из смеси полимеров (протеолитическая активность, характер пористой структуры, повышенная гидрофильность) являются предпосылкой для создания на их основе биodeградируемых раневых покрытий.

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ ПОЛУЧЕНИЯ БИОСВЯЗУЮЩЕГО ИЗ
ДРЕВЕСИНЫ: МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЦЕССА
ТРАНСФОРМАЦИИ ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗНОГО СУБСТРАТА ГРИБОМ *Panus
tigrinus***

© 2006 г. В.И.Кондращенко*, Н.С.Мануковский**, В.С.Ковалёв**

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

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

Разработана биохимическая схема и соответствующая математическая модель трансформации лигноцеллюлозы древесины при ферментативном гидролизе полисахаридов и деструкции лигнина в реакциях с участием свободных радикалов. Рассмотрен процесс обработки (ферментации) древесных частиц грибом *Panus tigrinus* в погруженной культуре, направленный на получение биосвязующего при производстве древесных композитов - древесностружечных и древесноволокнистых плит. С использованием математической модели изучены технологические параметры, влияющие на продукцию ферментов, биомассы гриба и уровень накопления свободных радикалов в субстрате - показатели, обуславливающие получение биосвязующего, и установлены их оптимальные значения: удельная поверхность древесных частиц 2000 см²/г, продолжительность обработки 56 ч и начальная концентрация биомассы гриба в погруженной культуре 3.0 г/л.