

НАНОБИОТЕХНОЛОГИЯ И БИОСЕНСОРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© 2008 г. А.Н.Решетилов*, А.М.Безбородов**

* *Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пущино, 142290;*
e-mail: anatol@ibpm.pushchino.ru

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

Нанобиотехнологию определяют, как междисциплинарную науку, изучающую возможности применения биологического материала малых размеров (наноразмеров, 1-100 нм) для разработки устройств и систем таких же размеров, в которых с новыми целями используются необычные, известные или неизвестные ранее эффекты. Анализ показывает, что существует много общего в конечных целях, подходах, методах решения и применения нанобиоструктур и биологических сенсоров. В кратком обзоре предпринята попытка систематизировать ряд имеющихся сведений и выделить органическую связь нового направления исследований с областью биосенсорных разработок, вышедших на уровень устойчивого развития.

ИНТЕНСИФИКАЦИЯ ПРОЦЕССА КОМПСТИРОВАНИЯ ПРИ ПОМОЩИ АЭРОБНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ (ОБЗОР)

© 2008 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 микробиологическим и биотехнологическим особенностям интенсификации процессов аэробной переработки органических отходов с целью выявления взаимосвязи между качеством получаемых компостов и микроорганизмами, принимающими участие в компостировании, а также с физико-химическими показателями и потребительскими свойствами получаемых продуктов.

ВЛИЯНИЕ ГЕРБИЦИДА ТРАЛКОКСИДИМА И 2-АЦИЛЦИКЛОГЕКСАН-1,3-ДИОНОВ НА АКТИВНОСТЬ ПЕРОКСИДАЗЫ

© 2008 г. М.В.Потапович, А.Н.Ерёмин, Д.Б.Рубинов, Д.И.Метелица

Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, 220141; e-mail: eryomin@iboch.bas-net.by

Изучено влияние производных 2-ацилциклогексан-1,3-диона (тралкоксидим и дикетоны, используемые в процессе его синтеза) на пероксидазное окисление 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (ТМБ), о-фенилендиамина (ФДА) и пары фенол - 4-аминоантипирин (4-ААП). Характер влияния дикетонов менялся от инактивации пероксидазы хрена (ПХ) до ее активации при окислении ТМБ, ФДА и, в меньшей степени, пары фенол - 4-ААП. Активация ПХ дикетонами сильно зависит от pH среды, присутствия диметилформамида, структуры тралкоксидима и других дикетонов и природы субстрата. Характер активации при пероксидажном окислении в присутствии тралкоксидима может быть бесконкурентным (ФДА, ТМБ) или смешанным (ТМБ). Уровень максимальной активации ПХ дикетонами зависит от их строения и может достигать в терминах относительной начальной скорости пероксидазного окисления 4000% для ТМБ и ~1000% для ФДА. Предложена аналитическая тест-система для количественного определения тралкоксидима в миллимолярном диапазоне концентраций с использованием ПХ и ТМБ в качестве субстрата и спектрофотометрического мониторинга продукта окисления ТМБ при 655 нм.

**ЭНДОНУКЛЕАЗА РЕСТРИКЦИИ Asi256I, УЗНАЮЩАЯ И РАСЩЕПЛЯЮЩАЯ
ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ НУКЛЕОТИДОВ 5'-GATC-3'**

© 2008 г. Т.А.Ушакова, Л.И.Пучкова, В.В.Гуторов, О.Д.Тотменина, В.Е.Репин
Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии "Вектор", п. Кольцово,
Новосибирская область, 630559; e-mail: repin@online.nsk.su

Из образцов почвы выделен бактериальный штамм - продуцент эндонуклеазы рестрикции, идентифицированный, как *Arthrobacter* sp. Ck256, а фермент назван Asi256I. Описан способ выделения фермента и определены оптимальные условия его действия. Показано, что эндонуклеаза рестрикции Asi256I является истинным изошизомером MboI, имеет температурный оптимум 6°C и может быть использована в молекулярно-биологических и генно-инженерных работах, выполняемых при пониженных температурах.

ИНГИБИРОВАНИЕ АКТИВНОСТИ ЛИПАЗ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫМ ХИТОЗАНОМ

© 2008 г. Е.С.Останина*, В.П.Варламов*, Г.И.Яковлев**
* Центр "Биоинженерия" РАН, Москва, 117312; e-mail: varlamov@blengi.ac.ru
** Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва, 119991 e-mail:
yakovlev@imbi.ru

Изучено ингибирование ферментативной активности липазы (КФ 3.1.1.3) гриба *Candida rugosa* и проростков пшеницы (*Triticum aestivum* L.) низкомолекулярным хитозаном со средним значением молекулярной массы 5.7 кДа в реакциях расщепления паранитрофенил пальмитата. Используя преинкубацию липаз с хитозаном, до введения в раствор субстрата показано, что равновесие при комплексообразовании липаза-ингибитор достигалось в течение 30 мин. Константа ингибирования липазы *C. rugosa* и проростков пшеницы составляла 1.4 и 0.9 мМ соответственно. Обнаружено, что вклад зарядовых взаимодействий в комплексообразование хитозана с липазами незначителен.

**ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ БЕЛКОВОГО ЭКЗОМЕТАБОЛИТА *Luteococcus japonicus* subsp.
casei НА КЛЕТКИ, ПОДВЕРГНУТЫЕ НАГРЕВАНИЮ И УФ-ОБЛУЧЕНИЮ**

© 2008 г. Л.И.Воробьева, Е.Ю.Ходжаев, Г.М.Пономарёва
Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва, 119899; e-mail:
nvvorobjeva@mail.ru

Белковый экзометаболит, выделенный из культуральной жидкости *Luteococcus japonicus* subsp. *casei*, оказывал реактивирующее и протекторное действие на УФ-облученные и нагретые клетки. Экзометаболит образовывался клетками в логарифмической фазе роста и содержался в культуральной жидкости в ничтожных количествах. На основании масс-спектрального анализа показано, что наряду с главным компонентом с молекулярной массой 7.6 кДа, в препарате в незначительных количествах присутствовали 3 минорных белка. Вероятно, биологическая активность экзометаболита связана с участием главного полипептидного компонента.

ВНЕКЛЕТОЧНАЯ ГЛИКОЗИЛГИДРОЛАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ КЛОСТРИДИЙ, ОБРАЗУЮЩИХ АЦЕТОН, БУТАНОЛ И ЭТАНОЛ

© 2008 г. О.В.Березина**, С.П.Синеокий**, Г.А.Великодворская*, В.Шварц***, В.В.Зверлов*
* *Институт молекулярной генетики РАН, Москва, 123182*

** *Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов, Москва, 117545; e-mail: mashchenko@yandex.ru*

*** *Институт микробиологии Технического университета г. Мюнхена, 85350, Фрайзинг-Вайнштефан, Германия*

Исследовано образование ацетона, бутанола, этанола, уксусной и масляной кислот тремя штаммами анаэробных бактерий, идентифицированных нами как *Clostridium acetobutylicum*. Выход ацетона и спиртов на 6%-ной мучной среде составил 12.7-15 г/л, из них доля бутанола-51.0-55.6%. Изучена активность штаммов на ксилане, β -глюкане, карбоксиметилцеллюлозе, кристаллической и аморфной целлюлозе. Конечная концентрация ацетона и спиртов, целлюлазная и гемицеллюлазная активность *C. acetobutylicum* 6, *C. acetobutylicum* 7 и *C. acetobutylicum* VKPM В-4786 была выше, чем у типового штамма *C. acetobutylicum* ATCC 824. Показана возможность частичной замены в среде крахмала на растительную биомассу.

ПРЕВРАЩЕНИЕ ФИТОСТЕРИНОВ В АНДРОСТЕНДИОН С ПОМОЩЬЮ *Mycobacterium neoaurum*

© 2008 г. Н.В.Родина, М.А.Молчанова, Н.Е.Войшвилло, В.А.Андрюшина, Т.С.Стыценко
Центр "Биоинженерия" РАН, Москва, 117312; e-mail: ndryushina@biengi.ac.ru.ru

Оптимальные условия трансформации фитостерина с помощью *Mycobacterium neoaurum*, необходимые для селективного расщепления их боковой цепи до андростендиона, существенно отличались от определенных ранее условий трансформации стерина животного происхождения - холестерина. Полная конверсия фитостерина в андростендион при нагрузке субстрата не менее 20 г/л достигнута при увеличении дозы посевного материала в 2 и концентрации глюкозы соответственно 4 раза по сравнению с холестерином, и проведении ферментации в режиме турбулентного перемешивания. В указанных условиях трансформация протекала с высокой скоростью и высоким выходом продукта реакции благодаря насыщению культуральной жидкости гидрокарбонатным ионом, при участии которого согласно литературным данным происходит расщепление разветвленной при С-24 боковой цепи.

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБОВ БИОРЕМЕДИАЦИИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ НА ХАРАКТЕРИСТИКУ КОМПЛЕКСА МИКРОМИЦЕТОВ

© 2008 г. Н.А.Киреева*, М.Д.Бакаева*, Н.Ф.Галимзянова**

* *Башкирский государственный университет, Уфа, 450074;*

** *Институт биологии УНЦ РАН. Уфа, 450054 e-mail: vodop@yandex.ru.ru*

Исследовано влияние рекультивации нефтезагрязненной серой лесной, темно-серой лесной почвы и чернозема биопрепаратами Бациспектин, Деворойл и Белвитамил на содержание оппортунистических и фитотоксичных микромицетов. Обнаружено увеличение их обилия после загрязнения почв нефтью и уменьшение через три месяца рекультивации. Последнее является одним из признаков постепенной нормализации почвенной микробиоты.

БИОРЕМЕДИАЦИЯ НЕФТЕЗАГРЯЗНЁННОЙ ПОЧВЫ КОМПЛЕКСОМ ГРИБ *Pleurotus ostreatus* - ПОЧВЕННАЯ МИКРОФЛОРА

© 2008 г. Н.Н.Позднякова, В.Е.Никитина, О.В.Турковская

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

Исследована возможность использования комплекса грибов *Pleurotus ostreatus* D1 - почвенная микрофлора для биоремедиации нефтезагрязненных почв. Обнаружено, что грибок метаболизирует в основном ароматическую фракцию, тогда как почвенная микрофлора активно разрушает парафино-нафтеновые углеводороды нефти. Интродукция гриба *Pleurotus ostreatus* D1 в почву способствует деградации более широкого спектра углеводородов нефти. Представляется целесообразным дальнейшее изучение выявленного эффекта с целью активизации процесса биоремедиации нефтезагрязненных почв.

АКТИВНОСТЬ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ ЛЕКТИНОВ *Lentinus edodes* НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ РАЗВИТИЯ ГРИБА

© 2008 г. Е.П.Ветчинкина*, В.Е.Никитина*, О.М.Цивилева*, Л.В.Гарибова**

* *Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов, 410049; e-mail: tsivileva@ibppm.sgu.ru*

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

Исследована гемагглютинирующая активность внутриклеточных лектинов базидиального гриба *Lentinus edodes* (шиитаке) на различных стадиях морфогенетического развития гриба в зависимости от типа эритроцитов, среды выращивания и степени очистки препаратов. Удельная лектиновая активность на стадии коричневой мицелиальной пленки при определенных условиях эксперимента в 3-4 раза превышала соответствующую величину для непигментированного мицелия. Чувствительность лектинов к трипсинизированным эритроцитам кролика была не менее чем в 100 раз выше в сравнении с любым другим изученным типом эритроцитов. Общие закономерности изменения удельной активности были одинаковы на средах разного состава. По мере очистки внутриклеточных лектинов шиитаке наблюдалось снижение их чувствительности к эритроцитам человека в 70 раз и более при таком же повышении чувствительности к эритроцитам кролика.

НОВЫЕ ЭФФЕКТИВНЫЕ ПРОДУЦЕНТЫ ГРИБНЫХ ЛАККАЗ

© 2008 г. Н.М.Мясоедова*, А.М.Черных*, Н.В.Псурцева**, Н.В.Белова**, Л.А.Головлёва*

* *Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пушchino, 142290; e-mail: golovleva@ibpm.pushchino.ru*

** *Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, 197376*

В результате скрининга среди базидиальных грибов отобраны два перспективных штамма - продуценты лакказы: *Lentinus strigosus* 1566 и *Steccherinum ochraceum* 1833. Подобраны условия культивирования, позволившие повысить выход фермента. Максимальная лакказная активность наблюдалась при глубинном культивировании иммобилизованного на поликапроамидном волокне мицелия на богатых средах в присутствии 2 мМ CuSO₄ в комбинации с оптимальным индуктором - 2,6-диметилфенолом для *L. strigosus* и 2,4-диметилфенолом для *S. ochraceum*. В этих условиях активность лакказы *S. ochraceum* составляла 33.1 ед./мл, а *L. strigosus* - 186.5 ед./мл. Проведена трансформация антрацена лакказой *S. ochraceum*, методом масс-спектрометрии показано его окисление до антрахинона.

ПОЛИСАХАРИДЫ КСИЛОТРОФНЫХ БАЗИДИОМИЦЕТОВ

© 2008 г. В.В.Щерба, В.Г.Бабицкая

Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск 220141; e-mail: micomp@mbio.bas-net.by

Изучены физико-химические свойства, состав и структура полисахаридов, синтезируемых грибами *Lentinus edodes*, *Ganoderma lucidum* и *Crinipellis schevchenkovi* в условиях глубинной культуры. Показано, что экзо- и эндополисахариды глубинного мицелия исследованных грибов близки β-(1→3)-D-глюканам плодовых тел.

ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ И ЭКОЛОГО-ГЕОГРАФИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ КУЛЬТУР ДРОЖЖЕЙ ВСЕРОССИЙСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ (ВКМ)

© 2008 г. В.И.Голубев

Всероссийская коллекция микроорганизмов, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов РАН, Пущино, Московская область, 142290; e-mail: wig@ibpm.pushchino.ru

Всероссийская коллекция микроорганизмов поддерживает около 2500 штаммов дрожжей, которые представляют более 500 видов 100 родов и принадлежат к шести классам аскомицетов и базидиомицетов. Почти для всех видов имеются типовые штаммы. Собраны изоляты со всех континентов, но большинство получено в Европе. Из источников выделения наиболее широко представлены растения, почвы, пищевые продукты, вина и некоторые промышленные процессы.

ВЛИЯНИЕ БЕЛКОВ-ИНГИБИТОРОВ ПРОТЕИНАЗ ИЗ КЛУБНЕЙ КАРТОФЕЛЯ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ ФИТОПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

© 2008 г. Т.А.Ревина, Н.Г.Герасимова, Г.В.Кладницкая, Г.И.Чаленко, Т.А.Валуева

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

Изучали действие двух белков PSPI-21 и PKS1 на рост и развитие фитопатогенных микроорганизмов, оомицета *Phytophthora infestans* и гриба *Fusarium culmorum*. Оба белка были выделены из клубней картофеля (*Solanum tuberosum* L., сорт Истринский) и охарактеризованы как ингибиторы сериновых протеиназ. Показано, что они с различной степенью эффективности угнетали рост как оомицета *P. infestans*, так и гриба *F. culmorum*, при этом белок PSPI-21 эффективнее действовал на рост мицелия оомицета, а PKS1 - гриба. Оказалось, что оба белка вызывали полное разрушение зооспор оомицета, и лишь частичное - макроконидий гриба. Высказано предположение об участии этих белков в защите растения картофеля при его поражении фитопатогенными микроорганизмами.

ФОСФАТАЗЫ И ФОСФОДИЭСТЕРАЗЫ ИЗ ГЕПАТОПАНКРЕАСА КАМЧАТСКОГО КРАБА *Paralithodes camtschatica*

© 2008 г. Н.И.Мензорова, А.Д.Ивлева, Ю.Т.Сибирцев, В.А.Рассказов
Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН, Владивосток, 690022; e-mail:
menzor@piboc.dvo.ru

Из гепатопанкреаса камчатского краба *Paralithodes camtschatica* с использованием ионообменной и гель-хроматографии выделены 5 препаратов ферментов: две кислые и одна щелочная фосфомоноэстеразы (КФМЭ, ЩФМЭ), щелочная и кислая фосфодиэстеразы (ЩФДЭ, КФДЭ). Показано, что ЩФМЭ и ЩФДЭ имеют оптимум pH 7.5, КФМЭ - 5.5, КФДЭ - 5.0; ЩФМЭ и ЩФДЭ активируются ионами Mg²⁺. Молекулярная масса ЩФМЭ равна 80 кДа, двух КФМЭ - 80 и 82 кДа, ЩФДЭ - 51 кДа и КФДЭ - 57 кДа. Установлено, что ферменты обладают сравнительно высокой термостабильностью (ИТ50 от 47 до 62°C). ЩФМЭ ингибируется раствором NaCl (ИК50-0.4 М), активности КФМЭ, КФДЭ и ЩФДЭ устойчивы к высокой ионной силе раствора.

АНТИКОАГУЛЯНТНАЯ АКТИВНОСТЬ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ СУЛЬФАТИРОВАННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ГАЛАКТОМАННАНА СЕМЯН *Cyatopsis* *tetragonoloba* (L.) Taub.

© 2008 г. Н.М.Местечкина*, В.Д.Щербухин*, Г.Е.Банникова**, В.П.Варламов**, Н.Н.Дрозд***,
А.С.Толстенков***, В.А.Макаров***, В.Е.Тихонов****

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

** Центр "Биоинженерия" РАН, Москва, 117312; e-mail: enzyme@biengi.ac.ru

*** Гематологический научный центр РАМН, Москва, 125167

**** Институт элементарной органической химии им. А.Н. Несмеянова РАН, Москва, 117813

Галактоманнан из семян *Cyatopsis tetragonoloba* (L.) Taub. (гуар) деполимеризовали с помощью иммобилизованного ферментного препарата Целловиридин. Получен набор фрагментов с молекулярными массами от 12.6 до 245.6 кДа. Для всех фракций были синтезированы сульфопроизводные, в которых содержание HS⁰⁻-групп составило 48.05±2.31%. Все препараты обладали антикоагулянтной активностью, зарегистрированной *in vitro* в двух тестах aIIa и aXa. Величина антитромбиновой активности (aIIa) была значительна (до 65-87 ед./мг) и не зависела от молекулярной массы сульфопроизводного, во втором тесте (aXa) прослеживалось влияние молекулярной массы. С помощью биоспецифического электрофореза обнаружена способность сульфогалактоманнанов образовывать комплексы с классическим антидотом для гепарина – сульфатом протамина.

ПРОДУЦИРОВАНИЕ ПОЛИСАХАРИДОВ КАЛЛУСНЫМИ КУЛЬТУРАМИ РЯСКИ МАЛОЙ

© 2008 г. Е.А.Гюнтер, О.В.Попейко, Ю.С.Оводов
Институт физиологии Коми научного центра УрО РАН, Сыктывкар, 167982; e-mail: :
gunter@physiol.komisc.ru

Каллусные линии ряски малой продуцировали кислый арабиногалактан и пектин, содержание которых в различных линиях варьировало от 1 до 3% от сухой массы. Образцы арабиногалактана из исследованных клеточных линий имели сходный моносахаридный состав. Выявлены каллусные линии ряски, арабиногалактаны которых содержали остатки апиозы (1-2%). Все образцы пектинов имели близкий качественный моносахаридный состав, но отличались по количественному содержанию моносахаридных остатков. Получены линии с высоким содержанием остатков

галактозы, арабинозы и апиозы в образцах пектинов. Суммарное содержание нейтральных моносахаридных остатков в составе пектинов варьировало от 26 до 50%.

ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗ ХВОЙНЫХ НА АКТИВНОСТЬ L-ФЕНИЛАЛАНИН-АММОНИЙ-ЛИАЗЫ И ПЕРОКСИДАЗЫ В ЛИСТЬЯХ ПШЕНИЦЫ

© 2008 г. Е.В.Евтушенко, В.А.Сапрыкин, М.Ю.Галицын, В.М.Чекуров

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, 630090; e-mail: evt@bionet.nsc.ru

Изучено влияние препаратов, полученных из хвои и древесины различных видов хвойных растений, на активность L-фенилаланин-аммоний-лиазы (ФАЛ, КФ 4.3.1.5) и пероксидазы (ПО, КФ 1.11.1.7)-ферментов, участвующих в развитии защитных реакций растений. Показано, что обработка биопрепаратами из хвойных первичных листьев мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) приводит к временному повышению активности ФАЛ и пероксидазы. Индукция активности ферментов зависит от концентрации препарата и иммунного статуса растений. Полученные результаты позволяют считать, что метаболиты хвойных представляют интерес как источник получения растительных экстрактов - элиситоров, повышающих устойчивость растений к фитопатогенам и неблагоприятным условиям среды.