

БИОДИЗЕЛЬНОЕ ТОПЛИВО: СОСТАВ, ПОЛУЧЕНИЕ, ПРОДУЦЕНТЫ, СОВРЕМЕННАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ (ОБЗОР)

© 2010 г. **Е. П. Феофилова, Я. Э. Сергеева, А. А. Ивашечкин**

Институт микробиологии им. С. Н. Виноградского РАН, Москва, 117312

e-mail: feofilov@inmi.host.ru

Поступила в редакцию 09.06.2009 г.

В обзоре рассматривается необходимость расширения исследований по созданию возобновляемого биотоплива. Особое внимание уделяется биодизелю, истории его создания, преимуществам и недостаткам по сравнению с дизельным топливом. Основная часть обзора посвящена анализу видов дизельного биотоплива на основе липидов бактерий, мицелиальных грибов, дрожжей, растений, фото- и гетеротрофных водорослей. Подробно рассматривается биодизель на основе мицелиальных грибов и обосновывается возможность создания наиболее перспективных биотехнологий с использованием этих продуцентов. Обсуждается современное состояние биотехнологии в России в связи с развитием энергетики, основанной на возобновляемых биотопливах.

КАТАЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НИТРИЛГИДРАТАЗЫ, ИММОБИЛИЗОВАННОЙ НА ОКСИДАХ АЛЮМИНИЯ И УГЛЕРОДСОДЕРЖАЩИХ АДСОРБЕНТАХ

© 2010 г. **Ю. Г. Максимова*, В. А. Демаков*, А. Ю. Максимов*, Г. В. Овечкина*, Г. А. Коваленко****

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

e-mail: maks@iegm.ru

***Институт катализа СО РАН, Новосибирск, 630090*

Поступила в редакцию 12.01.2009 г.

Нитрилгидратаза, выделенная из штамма *Rhodococcus ruber* gt1, обладающего высокой нитрилгидратазной активностью, иммобилизована на немодифицированных оксидах алюминия и углеродсодержащих адсорбентах, в том числе на углеродном носителе Сибуните. Изучена активность и операционная стабильность адсорбированной нитрилгидратазы в реакции трансформации акрилонитрила в акриламид. Показано, что повышение содержания углерода в составе носителя приводило к возрастанию количества адсорбированного фермента и, в то же время, к снижению его активности. Наибольшей операционной стабильностью в процессе гидратации акрилонитрила обладала нитрилгидратаза, иммобилизованная на Сибуните и углеродсодержащем α -оксиде алюминия, имеющем коровое строение. Обнаружено, что при адсорбции термостабильность нитрилгидратазы повышалась на порядок.

ТЕРМИЧЕСКАЯ ИНАКТИВАЦИЯ СВОБОДНОЙ И ИММОБИЛИЗОВАННОЙ ИНУЛИНАЗЫ

© 2010 г. **В. Г. Артюхов, Т. А. Ковалёва, М. Г. Холявка, Л. А. Битюцкая, М. В. Гречкина**

Воронежский государственный университет, Воронеж, 394006

e-mail: Tamara_Kovaleva@inbox.ru

Поступила в редакцию 11.01.2009 г.

Исследован процесс термической инактивации инулиназы из *Kluyveromyces marxianus* Y-303 в

свободном состоянии и после адсорбционной иммобилизации на катионообменном волокне ВИОН КН-1. Методом атомно-силовой микроскопии выявлено, что данный фермент имеет олигомерную структуру и состоит из 2 различных по размеру субъединиц. При 60°C, вероятно, происходит разрушение межсубъединичных контактов и диссоциация молекулы инулиназы на 2 мономера, располагающиеся отдельно друг от друга.

ДИНАМИКА АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ - ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ МАРКЕРОВ ЦИТОПЛАЗМЫ И ПЕРИПЛАЗМЫ БАКТЕРИЙ *Serratia marcescens*

© 2010 г. Л. М. Богомольная, М. Н. Филимонова

Казанский государственный университет им. В. И. Ульянова-Ленина, Казань, 420008

e-mail: maria.filimonova@ksu.ru

Поступила в редакцию 09.06.2009 г.

Исследована динамика активности глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы, щелочной фосфатазы, β-галактозидазы и β-лактамазы в ходе роста и развития грамотрицательных бактерий *Serratia marcescens*. Глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназа может служить маркером цитоплазмы и также использоваться в качестве маркера целостности цитоплазматической мембраны. Маркером периплазмы служит щелочная фосфатаза. Дополнительно глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназа, β-лактамаза и β-галактозидаза могут использоваться как маркеры целостности наружной мембраны микробных клеток.

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ УЛУЧШЕНИЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ЗАКВАСОК КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

© 2010 г. Г. Г. Оганесян*, А. А. Барсегян*, Н. Г. Григорян*, А. В. Топчян**

*Институт микробиологии НАН Армении, Абовян, Армения, 2201

**Ереванский государственный медицинский университет им. М. Гераци, Ереван, Армения, 0025

e-mail: hhov@sci.am

Поступила в редакцию 23.02.2009 г.

Изучена возможность улучшения технологических характеристик молочнокислых бактерий с помощью мутаций, связанных с устойчивостью к рифампицину (*rif^r*) и стрептомицину (*str^r*). На модели закваски армянского диетического кисломолочного продукта "Нарине" *Lactobacillus acidophilus* ИНМИА-9602 показано, что среди *Rif^r* и *Str^r* мутантов, полученных в результате индуцированного нитрозогуанидином мутагенеза, вероятность отбора штаммов, обладающих высокой скоростью ферментации молока и кислотообразования, значительно выше, чем среди чувствительных к антибиотикам культур. Полученные с применением в качестве заквасок штаммов *Rif^r* и *Str^r* кисломолочные продукты отличались высокой вязкостью, улучшенной текстурой, высоким содержанием живых клеток и высокими органолептическими свойствами.

ОСОБЕННОСТИ КОНСТИТУТИВНОГО БИОСИНТЕЗА КСИЛОЗОИЗОМЕРАЗЫ У *Arthrobacter nicotianaе*

© 2010 г. Л. И. Сапунова, И. О. Тамкович, А. Г. Лобанок

Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, 220141

e-mail: leonida@mbio.bas-net.by

Поступила в редакцию 29.07.2009 г.

Исследованы особенности биосинтеза актинобактериями *Arthrobacter nicotianaе* БИМ В-5 клеточносвязанной ксилозоизомеразы. Установлено, что конститутивный не подверженный катаболитной репрессии синтез фермента у исследуемых бактерий угнетался ксилулозой — промежуточным продуктом утилизации ксилозы и конечным продуктом ее ферментативной изомеризации. В кратковременных опытах показано, что ксилулоза в количестве 0.005% практически полностью репрессировала синтез ксилозоизомеразы *A. nicotianaе*. Эффект не зависел от времени добавления репрессора в среду культивирования и не связан с его влиянием на каталитическую активность ферментного белка.

ОСОБЕННОСТИ БИОСИНТЕЗА ХИТИНОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ КУЛЬТУРОЙ *Streptomyces griseus var. streptomycini*

© 2010 г. С. В. Авраменко, В. А. Галынкин

Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия, Санкт-Петербург, 191186

e-mail: jorga-81@yandex.ru

Поступила в редакцию 11.02.2009 г.

Отобранный ранее штамм *Streptomyces griseus var. streptomycini* способен к активному гидролизу как коллоидной, так и кристаллической форм хитина. При глубинном культивировании на среде с кристаллическим хитином активность хитиназы достигала максимального значения на 46—50 ч культивирования. Использование в качестве индуктора коллоидного хитина позволяло увеличить хитинолитическую активность на 33%. Внесение в среду маннозы (1.0%) вместе с кристаллическим хитином увеличивало хитиназную активность продуцента в 2 раза. Показано, что биосинтез хитиназ носит индуцибельный характер.

СИНТЕЗ ГЕТЕРОЛОГИЧНЫХ ИНТЕРФЕРОНОВ В КЛЕТКАХ ДРОЖЖЕЙ *Pichia pastoris*

© 2010 г. М. В. Падкина, Л. В. Парфёнова, А. Е. Градобоева, Е. В. Самбук

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, 199034

e-mail: mpadkina@mail.ru

Поступила в редакцию 02.02.2009 г.

Гены *HuIFNA16*, *HuIFNB1*, *BovFNG*, кодирующие структуру α16- и β-интерферонов человека, γ-интерферона быка, клонированы под контролем промотора гена *AOX1* дрожжей *Pichia pastoris*. Созданы штаммы дрожжей, синтезирующие цитоплазматическую и секреторную формы гетерологичных интерферонов. Высокий уровень синтеза чужеродных белков не приводил к снижению скорости роста дрожжей *P. pastoris* в отличие от дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Показано, что значительная часть синтезированных интерферонов находится во фракции растворимых белков, а не в "тельцах включения".

Обработка рекомбинантного β -интерферона человека эндогликозидазой Н показала, что белок синтезируется в гликозилированной и негликозилированной форме. На основании полученных данных предложена гипотеза, объясняющая более эффективную экспрессию гетерологичных генов в дрожжах *P. pastoris* и повышенную устойчивость метилотрофных дрожжей к негативным воздействиям рекомбинантных белков особенностями их метаболизма.

CO-EXPRESSION OF XYLOSE REDUCTASE GENE FROM *Candida shehatae* AND ENDOGENOUS XYLITOL DEHYDROGENASE GENE IN *Saccharomyces cerevisiae* AND THE EFFECT OF METABOLIZING XYLOSE TO ETHANOL

© 2010 J. Zhang, M. Yang, S. Tian, Y. Zhang, X. Yang

College of Life Science, Capital Normal University, Beijing, 100048, China

e-mail: cnu_xsyang@263.net

Received March 27, 2009

The inability of *Saccharomyces cerevisiae* to utilize xylose is attributed to its inability to convert xylose to xylulose. Low xylose reductase (XR) and xylitol dehydrogenase (XDH) activities in *S. cerevisiae* are regarded as the reason of blocking the pathway from xylose to xylulose. We had found that *Candida shehatae* could also be another source for XR gene except *Pichia stipitis* in the previous study. In this study, we tried to investigate if the expressed XR from *C. shehatae* could work with the over-expressed endogenous XDH together to achieve the same goal of converting xylose to ethanol in *S. cerevisiae*. The XR gene (*XYL1*) from *C. shehatae* and endogenous XDH gene (*XYL2*) were both cloned and over-expressed in host *S. cerevisiae* cell. The specific enzyme activities of XR and XDH were measured and the result of fermentation revealed that the new combination of two enzymes from different sources other than *P. stipitis* could also coordinate and work with each other and confer xylose utilization ability to *S. cerevisiae*.

BIOCONVERSION OF GLYCYRRHIZINIC ACID IN LIQUORICE INTO 18- β -GLYCYRRHETINIC ACID BY *Aspergillus parasiticus* Speare BGB

© 2010 J. Wang, Q. Sun, P. Gao, J. F. Wang, C. Xu, Q. L. Sun

College of Life Sciences, Key Laboratory of Bio-resources and Eco-environment of Ministry of Education, Sichuan University Chengdu 610064, P.R. China

e-mail: qlsun@126.com

Received September 4, 2009

A filamentous fungi strain, *Aspergillus parasiticus* Speare BGB, producing β -glucuronidase was screened to transform glycyrrhizinic acid (GL) in liquorice into 18- β -glycyrrhetinic acid (GA). Under the following cultivate conditions in shake flask, 1% GL (purity 30%), medium capacity 40% of flask, the initial pH value at 4.5, cultivate temperature of 32°C, inoculum size of 5% and culturing time for 96 h the bioconversion ratio of GL into GA could reach 95%. A variety of parameters of submerged state fermentation, including the growth characteristics of *A. parasiticus* Speare BGB, the change amount of GL and GA, and the activity of β -glucuronidase, were monitored simultaneously. GA was separated and purified by macroporous resin, silicagel column chromatography followed by recrystallization with the final purity over 98%. Purified product was identified as GA by the infrared absorption spectrum, molecular weight, and nuclear magnetic resonance. This study provided a new and efficient approach of obtaining GA by microbial transformation.

ПРОТИВОМИКРОБНАЯ И ГЕМОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТИ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕТАБОЛИТОВ БУРОЙ ВОДОРОСЛИ *Laminaria cichorioides* Miyabe

© 2010 г. Н. И. Герасименко, Е. Л. Чайкина, Н. Г. Бусарова, М. М. Анисимов

Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН, Владивосток, 690022

e-mail: anisimov@piboc.dvo.ru

Поступила в редакцию 27.02.2009 г.

Исследовали противомикробную и гемолитическую активности этанольного экстракта бурой водоросли *Laminaria cichorioides* Miyabe, его липофильной фракции, различных классов веществ липофильной фракции, таких, как хлорофиллы, фукоксантин, моногалактозилдиацилглицерины, дигалактозилдиацилглицерины, сульфохиновозилдиацилглицерины, жирные кислоты. Для исследования противомикробной активности использовали дрожжевые клетки *Safale* S04 и *Candida albicans* КММ 455, грибы *Aspergillus niger* КММ 4634 и *Fusarium oxysporum* КММ 4639, бактерии *Staphylococcus aureus* АТСС 21027 (грамположительная) и *Escherichia coli* АТСС 15034 (грамотрицательная), которые показали избирательную чувствительность к исследуемым веществам. Гемолитическую активность исследовали при концентрации веществ в диапазоне 0.2—200 мкг/мл при разных значениях pH суспензии эритроцитов. Гемолиз вызывали все исследованные вещества. Отмечена зависимость гемолитической активности веществ от pH среды.

АКТИВАЦИЯ ЭКСТРАКТЕЛОЧНОЙ ПЕРОКСИДАЗЫ КОРНЕЙ ПШЕНИЦЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ КСЕНОБИТИКОВ

© 2010 г. А. В. Часов, В. Я. Алексеева, О. П. Колесников, Ф. В. Минибаева

Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН, Казань 420111

e-mail: chasov@mail.knc.ru

Поступила в редакцию 03.08.2009 г.

Изучено влияние ксенобиотиков различной химической природы: N,N'-дициклогексилкарбодиимида, диэтилстильбестрола и хлорпромазина на активность пероксидазы — редокс-фермента, участвующего в защитных реакциях растений. Показано, что воздействие исследованных ксенобиотиков на отсеченные корни проростков пшеницы вызывало увеличение проницаемости плазмалеммы для K^+ и H^+ , стимулировало активность экстраклеточной пероксидазы, образующей супероксидный анион-радикал. Предполагается, что экстраклеточная пероксидаза может инициировать трансформацию чужеродных соединений уже на клеточной поверхности до поступления их внутрь клеток.

АКТИВНОСТЬ НАДФН-ОКСИДАЗЫ В КОРНЯХ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА ПРИ РИЗОБИАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ДЕЙСТВИЯ АБИОТИЧЕСКИХ И БИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ

© 2010 г. А. К. Глянько, Г. Г. Васильева, А. А. Ищенко, Н. В. Миронова,
А. Л. Алексеенко

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

e-mail: akglyanko@sifibr.irk.ru

Поступила в редакцию 06.04.2010 г.

Изучали активность НАДФН-оксидазы в корнях 3- и 4-суточных этиолированных проростков гороха (сорт Аксайский усатый) в зависимости от инокуляции растений *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*

(штамм CIAM 1026) и действия неблагоприятных абиотических факторов — низкой температуры, высокой дозы минерального азотного удобрения, химических соединений — нитропрусида Na, метилвиологена (паракват) и биотического фактора — бактерии *Escherichia coli* (штамм XL-1 Blue). Показано, что все экзогенные факторы увеличивали активность микросомальной НАДФН-оксидазы. Ризобияльная инфекция снимала активирующее влияние экзогенных факторов на НАДФН-оксидазу только в случае высокой дозы азота в среде, проявляя антагонистическое действие. В варианте с совместным действием ризобий с паракватом и ризобий с *Escherichia coli* наблюдался синергический эффект. Повышение активности НАДФН-оксидазы в корнях совпадало с угнетением роста корней проростков гороха. Результаты обсуждаются в связи с ролью НАДФН-оксидазы и активных форм кислорода в бобово-ризобияльном симбиозе.

ГАЛАКТОМАННАН СЕМЯН ОСТРОЛОДОЧНИКА ШЕРСТИСТОГО (*Oxytropis lanata* (Pallas) DC)

© 2010 г. Д. Н. Оленников*, А. В. Рохин**

*Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, Улан-Удэ, 670047

e-mail: oldaniil@rambler.ru

**Иркутский государственный университет, Иркутск, 664033

e-mail: rav@irk.ru

Поступила в редакцию 30.01.2009 г.

Из семян остролодочника шерстистого (*Oxytropis lanata* (Pallas) DC) методом горячей водной экстракции выделен галактоманнан (выход 3.68% от массы семян) с молекулярной массой 1976 кДа, растворы которого обладают высокой вязкостью $[\eta]$ 1697.7 мл/г и оптической активностью $[\alpha]_D + 76.8^\circ$. Полисахарид состоит из остатков маннозы и галактозы в молярном соотношении 1.36 : 1. В макромолекуле галактоманнана основная цепь построена из остатков 1,4- β -D-маннопиранозы, 73.5% которых замещены у C-6 единичными остатками α -D-галактопиранозы.

ПОЛУЧЕНИЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МАГНИТНЫХ ЛАТЕКСОВ В МЕТОДАХ ИММУНОАНАЛИЗА АНТИГЕНОВ МИКРООРГАНИЗМОВ

© 2010 г. С. М. Кальной, И. В. Жарникова, А. А. Зайцев, А. И. Бондаренко,
И. Ю. Борздова, В. В. Остапович, А. А. Курилова

Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, 355035,
Ставрополь

e-mail: snipchi@mail.stv.ru

Поступила в редакцию 03.03.2009 г.

Показана возможность экспериментального применения тест-систем на основе магнитных латексов (МЛ) для обнаружения антигенов чумного, туляремийного и бруцеллезного микроорганизмов. МЛ готовили на основе латексов (полиакролеиновые микросферы, $1.2\text{—}1.8 \pm 0.1$ мкм) за счет экспозиции их частиц в течение 0.5 ч в 25—35%-ном растворе сульфата железа(II), затем в течение 0.5 ч в 15—25%-ном водном растворе аммиака на водяной бане при 100°C и обезвоживания после каждой операции. Продемонстрирована возможность иммобилизации лигандов на МЛ и получения магнитных латексных иммуносорбентов (МЛИС) с последующим их использованием в магнитном латексном иммуноферментном анализе (МЛИФА) для выявления антигенов микробов. В МЛИФА предел обнаружения составил $10^2\text{—}10^3$ микробных клеток в 1 мл (кл./мл). Относительная ошибка анализа не превышала 8%.