

СТРУКТУРНЫЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ НАДФН-ОКСИДАЗЫ РАСТЕНИЙ (ОБЗОР)

©2010г. А. К. Глянько, А. А. Ищенко

Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения РАН, Иркутск, 664033

e-mail: akglyanko@sifibr.irk.ru

Поступила в редакцию 19.10.2009 г.

Обобщены сведения о структурных и функциональных особенностях НАДФН-оксидазы (Rboh) растений. В растениях найдены гомологи фермента, идентичные субъединице gp91^{phox} ферментного комплекса животных клеток. Активация Rboh зависит от притока ионов Ca²⁺ в цитоплазму и фосфорилирования N-концевой области фермента при участии Ca²⁺-зависимой протеинкиназы. Обсуждается возможность участия в активации Rboh цитозольного компонента Rop ГТФазы. Констатируется локализация Rboh на плазматической мембране клеток растений. Увеличение активности Rboh происходит под влиянием как биотических, так и абиотических факторов, что связывается с потоками Ca²⁺, активными формами кислорода, азота и передачей информации на ядерный геном.

INTRA- AND EXTRA-CELLULAR FLUX DISTRIBUTIONS OF TCA AND GLYOXALATE CYCLE AND VANCOMYCIN PRODUCTION OF *Amycolatopsis orientalis* GROWN IN DIFFERENT GLYCEROL CONCENTRATION

© 2010 H. Ayar-Kayali and L. Tarhan

University of Dokuz Eylul, Faculty of Science and Art, Department of Chemistry, Biochemistry Division,

35150 Buca, Izmir- Turkey

e-mail: leman.tarhan@deu.edu.tr

Received June 19, 2009

The relationship between tricarboxylic acid (TCA) and glyoxalate cycle and the effect of their metabolites levels on the vancomycin production of *Amycolatopsis orientalis* were investigated in different concentration of glycerol (2.5—20 g/l). Intracellular glycerol levels increased with respect to increases in glycerol concentrations of the growth medium. Extracellular glycerol levels decreased slowly up to 24 h while uptake rates were increased during 36—48 h for 10 and 15 g/l and during 36—60 h at 20 g/l of glycerol. Intracellular citrate, α -ketoglutarate, fumarate levels increased up to 10 g/l glycerol concentration. However, intracellular succinate and malate levels were increased up to 15 g/l glycerol. Extracellular citrate, α -ketoglutarate, succinate and malate levels increased with respect to increases in glycerol concentration. The highest α -ketoglutarate dehydrogenase activity was determined at 15 g/l glycerol. Isocitrate lyase activity showed a positive correlation with the increases in glycerol concentration of the growth medium. Vancomycin production increased with the increases in glycerol concentration from 5 to 10 g/l. These results showed that *A. orientalis* grown in glycerol containing medium used glyoxalate shunt actively instead of TCA cycle which supports precursors of many amino acid which are effective on the antibiotic production.

COMPLETE GLUTATHIONE SYSTEM IN PROBIOTIC *Lactobacillus fermentum* ME-3

© 2010 T. Kullisaar*, E. Songisepp**, M. Aunapuu***, K. Kilk*, A. Arend***, M. Mikelsaar****, A. Rehema*, and M. Zilmer*

*Department of Biochemistry of Tartu University, Tartu, 50411 Estonia

e-mail: tiiu.kullisaar@ut.ee

**Bio-Competence Centre of Healthy Dairy Products, Tartu 51014, Estonia

***Department of Anatomy and Histology of Tartu University, Tartu 50411, Estonia

****Department of Microbiology of Tartu University, Tartu 50411, Estonia

Received July 10, 2009

There is much information about glutathione (GSH) in eukaryotic cells, but relatively little is known about GSH in prokaryotes. Without GSH and glutathione redox cycle lactic acid bacteria (LAB) cannot protect themselves against reactive oxygen species. Previously we have shown the presence of GSH in *Lactobacillus fermentum* ME-3 (DSM14241). Results of this study show that probiotic *L. fermentum* ME-3 contains both glutathione peroxidase and glutathione reductase. We also present that *L. fermentum* ME-3 can transport GSH from environment and synthesize GSH. This means that it is characterized by a complete glutathione system: synthesis, uptake and redox turnover ability that makes *L. fermentum* ME-3 a perfect protector against oxidative stress. To our best knowledge studies on existence of the complete glutathione system in probiotic LAB strains are still absent and glutathione synthesis in them has not been demonstrated.

ВЫДЕЛЕНИЕ ВОДОРОДА РЕКОМБИНАНТНЫМИ ШТАММАМИ *Rhodobacter sphaeroides* С МОДИФИЦИРОВАННЫМ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИМ АППАРАТОМ

© 2010 г. З. А. Ельцова, Л. Г. Васильева, А. А. Цыганков

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, Московская обл., 142290

e-mail: z.eltsova@gmail.com

Поступила в редакцию 27.02.2010 г.

Изучено выделение водорода рекомбинантными штаммами *Rhodobacter sphaeroides* pRK puf DD13, не имеющими периферийного светособирающего антенного комплекса, и pRK puf ΔLM1, способного к синтезу обоих антенных комплексов, выросшими в условиях недостатка азота. Скорость выделения H₂ зависела от интенсивности света. Для pRK puf DD13 при высокой концентрации клеток (0.91 г л⁻¹) она была наибольшей при 2270 Вт м⁻² и составляла 144.7 мл л⁻¹ ч⁻¹, что свидетельствовало о возможности увеличения объемной скорости выделения H₂ путем применения штаммов с пониженным содержанием пигментов.

ОСОБЕННОСТИ РОСТА ДИССОЦИАНТОВ УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИХ РОДОКОККОВ И ПСЕВДОМОНАД В МОНО- И СМЕШАННЫХ КУЛЬТУРАХ

© 2010 г. Е. С. Милько, М. О. Максимович, Л. И. Лопатина, Е. В. Породенко

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова 119991, Москва,

e-mail: esmilko@mail.ru Поступила в редакцию 24.04.2009 г.

Изучали рост R-, S- и M-диссоциантов *Rhodococcus rubropertinctus* с R-, S- или M-диссоциантами *Pseudomonas aeruginosa* в смешанной культуре по сравнению с монокультурой родококка на минеральной

среде с гексадеканом. Количество клеток в стационарной фазе роста увеличивалось в 10—15 раз в ассоциациях М-диссоцианта *R. rubropertinctus* с любым диссоциантом *P. aeruginosa* или двух S-диссоциантов исследованных видов бактерий по сравнению с монокультурой, при этом в популяции доминировали псевдомонады. Основное влияние на рост бактерий на среде с углеводородом у родококков оказывала эмульгирующая способность клеток (максимальная у R-диссоцианта), у псевдомонад — синтез поверхностно активных веществ, максимальный у М-диссоцианта.

ВИДОВОЙ И ШТАММОВЫЙ СОСТАВ АССОЦИАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ ПРИ ОКИСЛЕНИИ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ ЗОЛОТОСОДЕРЖАЩИХ КОНЦЕНТРАТОВ

© 2010 г. Т. А. Пивоварова*, В. С. Меламуд*, Е. Е. Савари**, Г. В. Седельникова**,
Т. Ф. Кондратьева*

*Институт микробиологии РАН, Москва, 117312

e-mail: kondr@inmi.host.ru

**Центральный научно-исследовательский геологоразведочный институт цветных и благородных металлов, Москва, 117545

e-mail: tsnigri@tsnigri.ru

Поступила в редакцию 20.04.2009 г.

На число микроорганизмов разных видов, входящих в состав ассоциаций, влияла характеристика энергетического субстрата и температура процесса окисления сульфидных минералов. Плотность популяции изменялась в зависимости от порядка расположения реактора в цепи, т.е. от стадии окисления энергетического субстрата. Ассоциации микроорганизмов окисляли энергетический субстрат активнее, чем каждый из ее представителей отдельно. Повышение плотности пульпы до соотношения твердой и жидкой фаз как 1 : 2.5 неблагоприятно сказывалось на микроорганизмах, входящих в состав ассоциаций.

НОВЫЕ БИОСЕНСОРЫ ДЛЯ МОНИТОРИНГА ТОКСИЧНОСТИ СРЕДЫ НА ОСНОВЕ МОРСКИХ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ БАКТЕРИЙ

© 2010 г. И. Е. Цыбульский*, М. А. Сазыкина**

*Азовский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства, Ростов-на-Дону, 344002

e-mail: riasfp@aanet.ru; igor.aznirh@mail.ru

**Научно-исследовательский институт биологии Южного Федерального университета, Ростов-на-Дону, 344104

e-mail: niib@sfedu.ru

Поступила в редакцию 04.08.2009 г.

Из воды Азовского и Черного морей выделено 16 штаммов светящихся бактерий, относящихся к родам *Vibrio* и *Photobacterium*. Два перспективных для биотестирования штамма идентифицированы генетическими методами до вида (*Vibrio fischeri* ВКПМ В-9579 и *V. fischeri* ВКПМ В-9580) и приняты на национальное патентное депонирование. Выделенные штаммы биолюминесцентных бактерий отличаются высокой индивидуальной чувствительностью (на уровне предельно допустимых концентраций для воды рыбохозяйственных водоемов (ПДК_{рх})) к нефтепродуктам, солям тяжелых металлов, додецилсульфату натрия (ДДС-Na) и фенолу. По величине ЕС₅₀ они на порядок чувствительней к солям тяжелых металлов и бихромату калия, в 2—6 раз — к ДДС-Na и фенолу по сравнению со штаммами *P. phosphoreum* (Cohn) Ford и *Escherichia coli* С600 (pPLS-5). Использование в качестве новых биосенсоров штаммов *Vibrio fischeri* ВКПМ В-9579 и *V. fischeri* ВКПМ В-9580 показало их высокую чувствительность и эффективность при определении токсичности среды морских экосистем.

HYDROLYSIS OF XYLANS BY A THERMOSTABLE HYBRID XYLANASE EXPRESSED IN *Escherichia coli*

© 2010 X. Y. Weng and J. Y. Sun

*Department of Biological Science, College of Life Science, Zhejiang University, Hangzhou, 310058, P. R. China

**Microbiology Division of Feed Science Institute, College of Animal Science,

Zhejiang University, Hangzhou, 310029, P. R. China

e-mail: jysun@zju.edu.cn

Received May 11, 2009

Escherichia coli-expressed a hybrid xylanase, Btx, encoded by a designed hybrid xylanase gene *Btx* was purified. The molecular mass of the enzyme was estimated to be 22 kDa. The K_m and k_{cat} values for Btx were 1.9 mg/ml and 140 s^{-1} , respectively. It hydrolyzed xylan principally to xylobiose and xylotriose, and was functionally similar to family 11 xylanases. As some differences were found in the hydrolytic products between birchwood xylan and wheat bran insoluble xylan, the xylan binding domains in xylanase Btx must have different effects on soluble and insoluble xylan.

β -GLYCOSIDASE OF *Thermus thermophilus* KNOUC202: GENE AND BIOCHEMICAL PROPERTIES OF THE ENZYME EXPRESSED IN *Escherichia coli*

© 2010 E. S. Nam, M. S. Kim, H. B. Lee, and J. K. Ahn

Department of Agricultural Sciences, Korea National Open University, Seoul 110-791, Republic of Korea

e-mail: ajk@knou.ac.kr

Received March 25, 2009

The β -glycosidase gene of *Thermus thermophilus* KNOUC202 was cloned, expressed in *Escherichia coli* JM109(DE3), and the enzyme was purified and characterized. The gene (*KNOUC202 β -gly*) was composed of 1296 bp encoding a β -glycosidase (*KNOUC202 β -glycosidase*) of 431 a.a., belonging to the family 1 of glycosyl hydrolase. The gene was expressed as monomer of 430 a.a. with amino terminal methionine excised in *E. coli* JM109(DE3). The enzyme hydrolyzed β -glycosides whose glycone are galactose, glucose and fucose well, however showed no or very low activity on β -D-glycosides whose glycone are disaccharides and xylose. k_{cat} of the enzyme for the hydrolysis of *p*-Nph- β -D-Glcp was lower than those for *p*-Nph- β -D-Galp and ONPG, however K_m for *p*-Nph- β -D-Glcp was highly lower than those for *p*-Nph- β -D-Galp and ONPG resulting in the catalytic efficiency (k_{cat}/K_m) for the hydrolysis of *p*-Nph- β -D-Glcp much higher than those for *p*-Nph- β -D-Galp and ONPG. Optimum pH and optimum temperature of the enzyme were pH 5.4 and 90°C. The enzyme has high thermostability, not losing its activity at 80°C for 2 h in 0.05 M Na-phosphate buffer of pH 6.8 with T_m of $100.0 \pm 0.031^\circ\text{C}$ in 0.02 M Tris-HCl buffer of pH 8.2. The β -glycosidase produced a disaccharide composed of galactose as transglycosylation byproduct during hydrolysis of lactose.

ВЛИЯНИЕ СОСТАВА СРЕДЫ НА БИОСИНТЕЗ АЛКАЛОИДОВ *Penicillium citrinum*

© 2010 г. А. Г. Козловский, В. П. Желифонова, Т. В. Антипова, Н. Ф. Зеленкова

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г. К. Скрыбина РАН, Пушкино, 142290

e-mail: kozlovski@ibpm.pushchino.ru

Поступила в редакцию 30.06.2009 г.

Гриб *Penicillium citrinum* продуцировал вторичные метаболиты — клавиновые эргоалкалоиды (ЭА) и хинолиновые алкалоиды хиноцитринины (ХЦ) на средах с разнообразными источниками углерода, азота и в присутствии добавок железа, меди и цинка. Наиболее благоприятными для биосинтеза ЭА были маннит и сахароза, а для ХЦ — маннит. На мочеvine наблюдалось максимальное алкалоидообразование. Добавки железа и меди в среду, содержащую ионы цинка, стимулировали рост гриба, но оказывали ингибирующее влияние на биосинтез алкалоидов. Продукция этих вторичных метаболитов имела место независимо от физиологического состояния культуры, что можно объяснить конститутивным характером ферментов биосинтеза этих веществ.

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ Ca^{2+} НА МЕТАБОЛИЗМ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В СОВМЕСТНЫХ КУЛЬТУРАХ КАЛЛУСОВ ПШЕНИЦЫ С ГРИБОМ *Tilletia caries*

© 2010 г. И. В. Максимов, Н. Б. Трошина, О. Б. Сурина, Е. А. Черепанова,
Л. Г. Яруллина

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

e-mail: phyto@anrb.ru

Поступила в редакцию 08.10.2009 г.

Исследовано влияние Ca^{2+} на морфофизиологические показатели каллусов пшеницы *Triticum aestivum* L., уровень активных форм кислорода и активность оксалаксоксидазы, пероксидазы и каталазы при инфицировании грибом *Tilletia caries* — возбудителем твердой головни. Обнаружена зависимость концентрации O_2^- , H_2O_2 и активности оксидоредуктаз (оксалаксоксидаза, пероксидаза и каталаза) от содержания ионов Ca^{2+} в среде культивирования каллусов. Увеличение в среде культивирования концентрации ионов Ca^{2+} приводило к усилению структурированности каллусов, индукции активности оксалаксоксидазы и некоторых изоформ пероксидазы, накоплению активных форм кислорода, что способствовало подавлению развития гриба. Обнаружение такой связи согласуется с ролью кальция как посредника в биохимических реакциях, связанных с формированием защитного ответа растительных клеток при инфицировании.

УСЛОВИЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ, СОСТАВ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ МИЦЕЛИЯ *Flammulina velutipes* (Fr.). P. Karst

© 2010 г. Н. В. Кожемякина, Е. П. Ананьева, С. В. Гурина, В. А. Галынкин

Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия, Санкт-Петербург, 197376

e-mail: beilis82@inbox.ru, 7731254@mail.ru

Поступила в редакцию 18.05.2009 г.

Подобраны условия глубинного культивирования базидиомицета *Flammulina velutipes* (Fr.). P. Karst. Из мицелия гриба выделены растворимая и нерастворимая углеводные фракции в соотношении 1 : 12, содержащие 65.3—84.0% редуцирующих веществ, 7.5—10.0% белка и незначительные минеральные примеси. Основной углеводный компонент мицелия и фракций — глюкоза (53.6% в растворимой и 78.8% в

нерастворимой фракции). В растворимой фракции обнаружено высокое содержание маннозы 23.6% и галактозы 18%. Полученные фракции оказывали стимулирующее действие на функциональную активность макрофагов, зрелых клеток системы мононуклеарных фагоцитов — центрального звена клеточного иммунитета, причем растворимая фракция проявляла более выраженный активирующий эффект.

ГАЛАКТОМАННАН СЕМЯН СОЛОДКИ УРАЛЬСКОЙ (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.)

© 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 26.08.2009 г.

Проведено выделение и изучение галактоманнанов семян солодки уральской (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.), полученных в результате горячей водной экстракции из свежезрелых (ГСy-1) и перезимовавших (ГСy-2) семян. Установлено, что ГСy-1 и ГСy-2 (выходы 1.98 и 1.99% от массы семян) имели молекулярную массу 1379 и 877 кДа, их растворы обладали высокой вязкостью $[\eta]$ 1193.1 и 765.8 мл/г и оптической активностью $[\alpha]_D$ +64.8° и +65.6°, соотношения галактозы и маннозы 1: 1.52 и 1 : 1.50.

По данным ИК- и ¹³C-ЯМР-спектроскопии и метилирования, полимерные цепи ГСy-1 и ГСy-2 построены из остатков 1,4-β-D-маннопиранозы, замещенной у С-6 единичными остатками α-D-галактопиранозы. Содержание различно замещенных галактозой маннобиозных блоков Ман-Ман, (Гал)Ман-Ман/Ман-Ман(Гал) и (Гал)Ман-Ман(Гал) в макромолекулах ГСy-1 и ГСy-2 составляло 25.2, 18.4 и 55.9% и 26.5, 32.5 и 41.0% соответственно.

ПРОДУЦЕНТЫ МИКОФЕНОЛОВОЙ КИСЛОТЫ В СИЛОСОВАННЫХ И ЗЕРНОВЫХ КОРМАХ

© 2010 г. А. А. Буркин, Г. П. Кононенко

Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии РАСХН,

Москва, 123022

e-mail: kononenkogp@mail.ru

Поступила в редакцию 24.09.2009 г.

Реакцией активированного N-гидроксисукцинимидного эфира микофеноловой кислоты получена серия иммунореактивных конъюгированных антигенов с альбуминами, желатином и глюкозооксидазой. На основе поликлональных кроличьих антител разработана тест-система для непрямого конкурентного иммуноферментного анализа с чувствительностью 0.4 нг/мл. Иммуноанализом подтверждена способность к активному биосинтезу микофеноловой кислоты штаммами *Byssochlamys nivea* (44/44, 4100-68400 нг/мл) и *Penicillium roqueforti* (7/16, 204-25120 нг/мл) из состава микобиоты силосованных кормов. Выявлено соответствие между слабо выраженной продуцирующей способностью большинства преобладающих в зерновых кормах видов грибов родов *Penicillium* и *Aspergillus* и данными по низкой частоте встречаемости этого метаболита в зерне (8.0%) и комбинированных кормах (11.9%). Обсуждается возможная связь отдельных случаев значительного накопления микофеноловой кислоты (от 500 до 1500 мкг/кг) в зерне пшеницы, кукурузы, комбикормах с высокой биосинтетической активностью у редко встречающихся видов *P. puberulum*, *P. stoloniferum* и *P. gladioli*.

АВТООКИСЛЕНИЕ СМЕСИ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ ЛИМОНА, МЕТИЛЛИНОЛЕНАТА И МЕТИЛОЛЕИНАТА

© 2010 г. Т. А. Мишарина, М. Б. Теренина, Н. И. Крикунова, И. Б. Медведева

Институт биохимической физики им. Н. М. Эмануэля РАН, Москва 119334

e-mail: Tmish@rambler.ru

Поступила в редакцию 16.10.2009 г.

Методом капиллярной газо-жидкостной хроматографии исследована стабильность компонентов смеси метиллинолената и метилолеината с двумя эфирными маслами лимона (*Citrus limon* L.) в гексановом растворе в процессе их автоокисления на свету. Эфирные масла лимона различались количественным соотношением компонентов: однократное масло содержало около 90% монотерпеновых углеводородов и 1.47% цитраля, в десятикратном доля углеводородов была около 60%, цитраля — 18.32%. Найдено, что концентрация и состав эфирных масел влияли на скорость окисления жирных кислот и расщепления их пероксидов. Однократное масло лимона ингибировало окисление метиллинолената и метилолеината, десятикратное — ускоряло этот процесс. Определены различия в устойчивости к окислению основных компонентов эфирных масел лимона, обусловленные их составом, а также наличием антиоксидантных свойств у ненасыщенных жирных кислот.