

**THE EFFECT OF AmtR ON GROWTH AND AMINO ACIDS  
PRODUCTION IN *Corynebacterium glutamicum***

© 2010 N. Hao, M. Yan\*, H. Zhou, H. M. Liu, P. Cai, P. K. Ouyang

State Key Laboratory of Materials-Oriented Chemical Engineering, College of Life Science and Pharmaceutical Engineering,

Nanjing University of Technology, Nanjing 210009, China

e-mail: [yanming@njut.edu.cn](mailto:yanming@njut.edu.cn)

Received May 11, 2009

AmtR, the master regulator of nitrogen control in *Corynebacterium glutamicum*, plays important roles in nitrogen metabolism. To investigate the influence of AmtR on amino acids production in *C. glutamicum* ATCC 13032, the *amtR* deletion strain *C. glutamicum* Q1 was constructed and cultured in modified CGXII minimal medium for 60 h. The ammonium consumption rates as well as amino acids production of both strains cultured in modified CGXII minimal medium were determined. The *amtR* deletion in *C. glutamicum* caused an obvious growth defect in the exponential growth phase, but both strains had the same biomass in the stationary phases. Maybe the less  $\alpha$ -oxoglutarate was used for the tricarboxylic acid cycle to influence the growth of strains. During 12 h, the rate of ammonium consumption and the concentration of Glu, Pro, Arg and Ser were higher but Asp, Gly, Lle, Leu, Lys were lower in the mutation strain. During 48 h, the Q1 had higher levels of Asp, Lys, Pro, Ala and Val, and lower levels of Glu, Arg, Leu and He, compared to the wild. The more Glu was synthesized by the activated GS/GOGAT pathway in Q1, and then the accumulation of relative amino acids (Pro, Arg and Ser) were up-regulated within 12 h growth. After 48 h growth, the *amtR* deletion obviously influenced accumulation of Ala, Asp and Pro. The *amtR* deletion could influence the growth and amino acids production, which could be useful to the production of amino acids.

**ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ РЕАКТИВИРУЮЩЕГО ФАКТОРА  
*Luteococcus japonicus* subsp. *casei* НА ИНАКТИВИРОВАННЫЕ УФ-  
СВЕТОМ КЛЕТКИ РЕПАРАЦИОННЫХ МУТАНТОВ *Escherichia coli***

© 2010 г. Л. И. Воробьева, А. В. Федотова, Е. Ю. Ходжаев

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

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

Поступила в редакцию 23.12.2009 г.

Реактивирующий фактор (РФ) из *Luteococcus japonicus* subsp. *casei* оказывал протекторное действие на облученные УФ клетки *Escherichia coli* АВ 1157 с неповрежденной системой репарации и на клетки изогенных репарационных мутантов *E. coli* UvrA<sup>-</sup>, RecA<sup>-</sup> и PolA<sup>-</sup>, которое проявлялось в многократном увеличении выживаемости. Защитное действие экзометаболита *L. casei* не связано со стимуляцией репарационных систем *E. coli* и, по-видимому, обусловлено вовлечением его в механизм деления клеток. РФ не вызывал реактивацию инактивированных УФ-светом клеток *E. coli*.

## ХАРАКТЕРИСТИКА БЕЛКОВ, СИНТЕЗИРУЕМЫХ ВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ

© 2010 г. Т. Г. Волова\*, В. А. Барашков\*\*

\*Институт биофизики СО РАН, Красноярск 660036

e-mail: [volova45@mail.ru](mailto:volova45@mail.ru)

\*\* Сибирский федеральный университет, Красноярск

Поступила в редакцию 17.09.2009 г.

Исследованы белки, синтезируемые водородокисляющими микроорганизмами — водородными бактериями *Alcaligenes eutrophus* Z1 и *Ralstonia eutropha* B5786, СО-резистентным штаммом карбоксидобактерий *Seliberia carboxydohydrogena* Z1062. Показано, что белки водородокисляющих микроорганизмов по ряду основных показателей, характеризующих биологическую ценность, занимают промежуточное положение между традиционными белками животного и растительного происхождения. Высокое общее содержание белка в биомассе, полноценный аминокислотный состав и доступность воздействию протеолитическими ферментами позволяют рассматривать водородокисляющие микроорганизмы в качестве потенциального источника белка.

## ВНЕКЛЕТОЧНАЯ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ СОДОВО-СОЛЕННЫХ ОЗЕР ЗАБАЙКАЛЬЯ

© 2010 г. Е. В. Лаврентьева\*, Я. Е. Дунаевский\*\*, Л. П. Козырева\*, А. А. Раднагуруева\*, Б. Б. Намсараев\*

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

e-mail: [lena\\_l@mail.ru](mailto:lena_l@mail.ru) \*\*Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А. Н. Белозерского МГУ,

Москва, 119991

e-mail: [dun@belozersky.msu.ru](mailto:dun@belozersky.msu.ru)

Поступила в редакцию 08.10.2009 г.

Исследовано влияние источника азота на синтез протеиназ у аэробных алкалолентных и галотолерантных бактерий, выделенных из содово-соленых озер Забайкалья. Максимальное накопление протеиназ обнаружено на среде с пептоном. Введение различных источников азота в состав среды не приводило к повышению активности фермента в культуральной жидкости. Показано, что секретируемые протеиназы изученных штаммов бактерий обладают узкой субстратной специфичностью, гидролизуют белки и *n*-нитроанилидные субстраты, проявляя максимальную активность при гидролизе GlpAALpNA. Данные ингибиторного анализа и субстратной специфичности изученных внеклеточных ферментов указывают на их принадлежность к классу сериновых протеиназ субтилизиноподобного типа.

## ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ БИОТРАНСФОРМАЦИЯ ТИОАНИЗОЛА КЛЕТКАМИ *Rhodococcus rhodochrous* ИЭГМ 66

© 2010 г. А. А. Елькин\*, В. В. Гришко\*\*, И. Б. Ившина\*

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

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

\*\*Институт технической химии УрО РАН, Пермь, 614013

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

Поступила в редакцию 03.03.2010 г.

Проведено сравнительное исследование сульфидоокисляющей активности свободных и иммобилизованных клеток *Rhodococcus rhodochrous* ИЭГМ 66. Установлено, что максимальную окислительную активность в отношении прохирального органического сульфида тиаоанизола (0.5 г/л) свободные клетки родококков (в присутствии 0.1 об. % н-гексадекана) проявляли при добавлении сульфида через 2 сут роста. Использование более высоких концентраций сульфида приводит к подавлению сульфидоокисляющей активности родококков. Применение иммобилизованных бактериальных клеток исключает двухдневную стадию подготовки биокатализатора и позволяет достичь полной биоконверсии тиаоанизола в течение 24 ч при условии одновременного введения биокатализатора и 0.5 г/л тиаоанизола. Полученная иммобилизованная в гелевом носителе форма биокатализатора обеспечивает полную конверсию тиаоанизола в (S)-сульфоксид тиаоанизола (оптическая чистота 82.1 %) при использовании высоких (1.0—1.5 г/л) концентраций сульфидного субстрата.

## РАЗЛОЖЕНИЕ ХЛОРИРОВАННЫХ БИФЕНИЛОВ И ПРОДУКТОВ ИХ БИОКОНВЕРСИИ ШТАММОМ *Rhodococcus* sp. В7а

© 2010 г. Д. О. Егорова, Е. С. Шумкова, В. А. Демаков, Е. Г. Плотникова

Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь 614081

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

Поступила в редакцию 18.08.2009 г.

Штамм *Rhodococcus* sp. В7а, выделенный из техногеннозагрязненной почвы, осуществляет разложение моно- и дизамещенных орто- и(или) пара-хлорированных бифенилов с последующей утилизацией образующихся хлорированных бензойных кислот; проявляет высокую деградирующую активность в отношении трихлорированных бифенилов. Показано, что основными продуктами катаболизма п-хлорбензойной кислоты являются п-гидроксibenзойная и протокатеховая кислоты.

## ИНТЕНСИФИКАЦИЯ СИНТЕЗА ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ *Rhodococcus erythropolis* ЭК-1 НА ГЕКСАДЕКАНЕ

© 2010 г. Т. П. Пирог, Т. А. Шевчук, Ю. А. Клименко

Институт микробиологии и вирусологии НАН Украины, Киев 03680

e-mail: [tapirog@usuft.kiev.ua](mailto:tapirog@usuft.kiev.ua)

Поступила в редакцию 04.12.2009 г.

В клетках штамма—продуцента поверхностно-активных веществ (ПАВ) *Rhodococcus erythropolis* ЭК-1, выращенного на н-гексадекане, определена активность ключевых ферментов метаболизма н-алканов. Установлено, что катионы калия являются ингибиторами алкангидроксилазы и НАДФ<sup>+</sup>-зависимой альдегиддегидрогеназы, а катионы натрия — активаторами этих ферментов. Снижение в среде культивирования концентрации катионов калия до 1 мМ, повышение содержания катионов натрия до 35

мМ, внесение 36 мкмоль/л ионов железа (II), необходимого для функционирования алкангидроксилазы, сопровождалось увеличением активности ферментов метаболизма н-гексадекана, а также повышением в 4 раза количества синтезированных ПАВ. Увеличение в 1.5—1.7 раза концентрации ПАВ при внесении в среду с н-гексадеканом 0.2% фумарата (предшественник глюконеогенеза) и 0.1% цитрата (регулятор синтеза липидов) обусловлено интенсификацией синтеза трегалозомиколатов, о чем свидетельствовало повышение в 3—5 раз фосфоенолпируватсинтетазы и трегалозофосфатсинтазы соответственно.

## КОМПОЗИЦИОННЫЕ БИОДЕГРАДАБЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ НА ОСНОВЕ ПОЛИГИДРОКСИАЛКАНОАТА

© 2010 г. И. Н. Гоготов\*, В. А. Герасин\*\*, Я. В. Князев\*\*, Е. М. Антипов\*\*, С. Х. Баразов\*\*\*

\*Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пуцино 142290

\*\*Институт нефтехимического синтеза им. В. А. Топчиева РАН, Москва 119991

\*\*\*ООО НПП "Нефтехимия", Москва 109429

e-mail: [gerasin@ips.ac.ru](mailto:gerasin@ips.ac.ru)

Поступила в редакцию 01.09.2009 г.

Найдены условия получения материалов, позволяющие перерабатывать и смешивать биodeградирующие полимеры на стандартном оборудовании при температурах, меньших их термодеструкции (130—150°C). Определена структура сополимеров полигидроксибутирата/валерата (ПГБ/В) и изучены особенности формирования кристаллических фаз при различном соотношении мономеров. Показано, что чистый ПГБ с молекулярной массой 180—270 кДа имеет модуль упругости около 1.2 ГПа, прочность около 25 МПа и удлинение при разрыве примерно 10%. Подобраны наиболее активные биодеструкторы ПГБ, ПГБ/В и их композиционных материалов (*Aspergillus caespitosus*) и впервые показана способность базидиомицета *Panus tigrinus* к биоразложению полиалканоатов. Показано, что наряду с ПГБ *A. caespitosus* деградирует пленки из ПГБ/В и Биопола, скорость деструкции которых зависит от технологии приготовления пленок, молекулярной массы и степени кристалличности полимера.

## ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ КЛЕТОЧНЫХ СТЕНОК *Acremonium chrysogenum* - ПРОДУЦЕНТА ЦЕФАЛОСПОРИНА С

© 2010 г. Т. С. Калебина\*, И. О. Селях\*, А. А. Горковский\*\*, Е. Е. Безсонов\*, М. А. Эльдаров\*\*\*, М. И. Новак\*\*\*, А. Г. Домрачева\*\*\*, Ю. Э. Бартошевич\*\*\*

\*Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, биологический факультет,

Москва, 119991

e-mail: [kalebina@genebee.msu.ru](mailto:kalebina@genebee.msu.ru)

\*\*Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г. К. Скрыбина РАН,

Пуцино, Московская область, 142290

\*\*\*Центр "Биоинженерия" РАН, Москва, 117312

Поступила в редакцию 13.11.2009 г.

Исследованы изменения в клеточной стенке *Acremonium chrysogenum* при интенсивном образовании цефалоспорина С. С помощью электронной микроскопии показано, что клеточная стенка клеток штамма АТСС 11550 ("дикий" тип) в процессе роста становилась более рыхлой и утолщалась. Клеточная стенка клеток штамма 26/8 (суперпродуцент цефалоспорина С) к стационарной фазе в значительной степени деградировала. Биохимический анализ показал, что указанные изменения сопровождались снижением содержания белков как ковалентно, так и нековалентно связанных с полисахаридами клеточных стенок обоих штаммов. В процессе роста наблюдалось увеличение чувствительности клеточных стенок штамма-суперпродуцента к действию литических ферментов хитиназы, ламинариказы, протеиназы К, трипсина и

препарата литиказы; в случае "дикого" типа подобного увеличения выявлено не было. Полученные результаты свидетельствуют о нарушении структуры клеточных стенок *A. chrysogenum*, сопровождающем интенсивное образование антибиотика.

## РЕГУЛЯТОРНАЯ РОЛЬ НЕЙРОМЕДИАТОРНЫХ АМИНОВ В КЛЕТКАХ *Saccharomyces cerevisiae*

© 2010 г. К. Д. Маликина\*, В. А. Шишов\*, Д. И. Чувелёв\*, В. С. Кудрин\*\*, А. В. Олескин\*

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

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

\*\*Институт фармакологии РАМН, Москва, 125015

Поступила в редакцию 09.03.2010 г.

Рост клеток *Saccharomyces cerevisiae* 230 на плотной питательной среде Сабуро стимулировался добавлением нейромедиаторных моноаминов: наиболее эффективным из них оказался дофамин (~8-кратная стимуляция в концентрации 1 мкМ), действие которого частично воспроизводилось агонистом дофаминовых рецепторов апоморфином. Менее выраженный (1.5—2-кратный) эффект вызывали серотонин и гистамин, норадреналин не стимулировал рост культуры. Полученные данные указывают на специфический, вероятно рецептор-зависимый, характер действия испытанных аминов на клетки *S. cerevisiae*. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии показано, что серотонин, катехоламины (дофамин, норадреналин), предшественник катехоламинов диоксифенилаланин и продукты окислительного дезаминирования нейромедиаторных аминов гомованилиновая кислота, дигидроксифенилуксусная кислота и 5-гидроксииндолилуксусная кислота накапливались в дрожжевых клетках в микромолярных концентрациях, но практически не выделялись в среду. Полученные данные указывают на то, что нейромедиаторные амины не выполняют функции ауторегуляторов в популяциях *S. cerevisiae*, но могут участвовать в регуляции развития дрожжевых клеток со стороны других участников биоценоза.

## PURIFICATION AND CHARACTERIZATION OF AN INTRACELLULAR $\beta$ -GLUCOSIDASE FROM THE PROTOPLAST FUSANT OF *Aspergillus* *oryzae* AND *Aspergillus niger*

© 2010 F.-M. Zhu\*, B. Du\*\*, H.-S. Gao\*, C.-J. Liu\*\*\*, J. Li\*

\*College of Food Science and Technology, Hebei Normal University of Science and Technology,

Qinhuangdao, 066600 PR China

e-mail: [trueyeoman@sina.com.cn](mailto:trueyeoman@sina.com.cn), [fmzhu@yahoo.com.cn](mailto:fmzhu@yahoo.com.cn)

\*\*Analysis and Testing Center, Hebei Normal University of Science and Technology, Qinhuangdao, 066600 PR China

\*\*\*Food Science College, Shenyang Agricultural University, Shenyang, 110161 PR China

Received May 29, 2009

Protoplasts of *Aspergillus oryzae* 3.481 and *Aspergillus niger* 3.316 were prepared using cellulose and snail enzyme with 0.6 M NaCl as osmotic stabilizer. Protoplast fusion has been performed using 35% polyethylene glycol 4.000 with 0.01 mM CaCl<sub>2</sub>. The fused protoplasts have been regenerated on regeneration medium and fusants were selected for further studies. An intracellular  $\beta$ -glucosidase (EC 3.2.1.21) was purified from the protoplast fusant of *Aspergillus oryzae* 3.481 and *Aspergillus niger* 3.316 and characterized. The enzyme was purified 138.85-fold by ammonium sulphate precipitation, DE-22 ion exchange and Sephadex G-150 gel filtration chromatography with a specific activity of 297.14 U/mg of protein. The molecular mass of the purified enzyme was determined to be about 125 kDa by sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis. The enzyme

had an optimum pH of 5.4 and temperature of 65°C, respectively. This enzyme showed relatively high stability against pH and temperature and was stable in the pH range of 3.0-6.6. Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> and EDTA completely inhibited the enzyme activity at a concentration of 10 mM. The enzyme activity was accelerated by Fe<sup>3+</sup>. The enzyme activity was strongly inhibited by glucose, the end product of glucoside hydrolysis. The  $K_m$  and  $V_{max}$  values against salicin as substrate were 0.035 mM and 1.7215  $\mu\text{mol min}^{-1}$ , respectively.

## **УВЕЛИЧЕНИЕ ПРОДУКТИВНОСТИ ГЛЮКОАМИЛАЗЫ ШТАММА *Aspergillus awamori* КОМБИНАЦИЕЙ МЕТОДОВ РАДИАЦИОННОГО МУТАГЕНЕЗА И ПЛАЗМИДНОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ**

© 2010 г. Ю. П. Винецкий\*, А. М. Рожкова\*, А. С. Середа\*\*, Н. В. Цурикова\*\*, А. К. Нуртаева\*\*\*, М. В. Семенова\*, И. Н. Зоров\*, А. П. Синицын\*\*\*\*

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

\*\*Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии Россельхозакадемии, Москва, 111033

e-mail: [vnipbt@com2com.ru](mailto:vnipbt@com2com.ru)

\*\*\*Казахский институт менеджмента и экономики, Алматы, 050010 Казахстан

e-mail: [anurtaeva@kimep.kz](mailto:anurtaeva@kimep.kz)

\*\*\*\*Химический факультет Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова, Москва, 119992

e-mail: [info@rector.msu.ru](mailto:info@rector.msu.ru) Поступила в редакцию 17.11.2009 г.

Увеличение уровня белка активатора амилолитических генов, кодируемого геном *amyR*, приводило к увеличению продуктивности штамма *Aspergillus awamori* на 30%. Увеличение продуктивности, вызванное умножением числа копий гена *gla*, кодирующего глюкоамилазу, не превышало эффекта от увеличения уровня белка активатора гена *amyR* и также составляло 30%. Сложения полученных эффектов не наблюдалось, что позволило сделать заключение об ограничениях в механизме регуляции амилолитических генов в грибах рода *Aspergillus* при включении добавочных копий генов *amyR* и *gla*.

## **КСИЛАНАЗА МИКРОМИЦЕТА *Rhizopus var. microsporus* 595: ПРЕПАРАТИВНОЕ ПОЛУЧЕНИЕ, СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА, ПРИМЕНЕНИЕ**

© 2010 г. Г. П. Шуваева, М. Г. Сысоева\*

Воронежская государственная технологическая академия, Воронеж., 394000

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

\*Воронежский государственный аграрный университет им. К. Д. Глинки, Воронеж, 394087

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

Поступила в редакцию 30.09.2009 г.

Разработаны способы получения препаратов эндо-1,4-β-ксиланазы: выбран активный продуцент — *Rhizopus var. microsporus* ВКМФ-595; оптимизирован состав питательной среды и условия его культивирования при поверхностном и глубинном способах для максимального синтеза целевого фермента (активность препаратов ксиломикроспорина Пх составила 123 ед./г; ксиломикроспорина Гх — 25 ед./см<sup>3</sup>); получены гомогенные препараты фермента со степенью очистки 59.44 и 72.6. Установлена зависимость каталитической активности эндо-1,4-β-ксиланазы от температуры и кислотности среды (фермент наиболее стабилен в диапазоне pH 5.0—6.0, термостабилен), определен аминокислотный состав,

установлена субъединичная природа фермента, молекулярная масса составила 50 и 56 кДа. Экспериментально доказано, что значительная роль в акте катализа принимают карбоксильные группы аспарагиновой или глутаминовой кислот, входящих в активные центры фермента. Показана целесообразность его применения при производстве пива.

## **РАСПРОСТРАНЕНИЕ О-ГЛИКОЗИЛГИДРОЛАЗ В МОРСКИХ ГРИБАХ ЯПОНСКОГО И ОХОТСКОГО МОРЕЙ: ХАРАКТЕРИСТИКА ВНЕКЛЕТОЧНОЙ N-АЦЕТИЛ- $\beta$ -D-ГЛЮКОЗАМИНИДАЗЫ МОРСКОГО ГРИБА *Penicillium canescens***

© 2010 г. Ю. В. Бурцева, В. В. Сова, М. В. Пивкин, С. Д. Анастюк, В. И. Горбач, Т. Н. Звягинцева

*Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН, Владивосток, 690022*

*e-mail:* [burtseva@piboc.dvo.ru](mailto:burtseva@piboc.dvo.ru)

Поступила в редакцию 09.04.2009 г.

Изучен состав внеклеточных О-гликозилгидролаз 92 штаммов морских грибов из различных мест обитания в Охотском (78 штаммов) и Японском морях (14 штаммов). Обнаружены штаммы, продуцирующие высоко активные гликаназы и гликозидазы. Синтез О-гликозилгидролаз стимулировался при наличии в культуральной среде ламинарана. Из морского гриба *Penicillium canescens* в индивидуальном состоянии выделена N-ацетил- $\beta$ -D-глюкозаминидаза. Согласно данным ДДС-Na-электрофореза, фермент имел молекулярную массу 68 кДа, проявлял максимальную активность при pH 4.5 и температуре 45°C. Время полуинактивации при 50°C составляло 25 мин. N-ацетил- $\beta$ -D-глюкозаминидаза гидролизовала как  $\beta$ -глюкозаминидную, так и  $\beta$ -галактозаминидную связи и обладала высокой трансгликозилирующей активностью.