

РАНЕВАЯ РЕПАРАЦИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ ТКАНЕЙ (Обзор)

© 2011 г. **Н. И. Васюкова, Г. И. Чаленко, Н. Г. Герасимова, О. Л. Озерецковская**

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

e-mail: ozeretkovskaya@inbi.ras.ru

Поступила в редакцию 31.05.2010 г.

Проанализированы сигнальные системы, ответственные за процесс репарации растений и экспрессию защитных эффектов растительных тканей. Особое внимание уделено мобильному системному сигналу процесса репарации — жасмоновой кислоте, биосинтезу жасмонатов и транспорту сигнала в места индуцирования защитных ответов растения. Рассмотрены основные защитные ответы клубней картофеля, индуцированные поранением.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ КАТАЛИТИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ГРУПП β-ГЛЮКОЗИДАЗЫ РАСТЕНИЙ ГОРОХА (*Pisum sativum* L.)

© 2011 г. **А. Н. Ершова, О. Н. Баркалова**

Воронежский государственный педагогический университет, Воронеж, 394043

e-mail: aershova@vspu.ac.ru

Поступила в редакцию 15.04.2010 г.

Идентифицированы функциональные группы цитоплазматической β-глюкозидазы растений гороха, предварительно очищенной до электрофоретически гомогенного состояния. По кривой зависимости активности фермента от рН, рассчитанным величинам теплот ионизации, фотоинактивации фермента в присутствии метиленового синего, а также инактивации фермента диэтилпирокарбонатом установлено, что в каталитическом центре β-глюкозидазы присутствуют карбоксильная группа глутаминовой или аспарагиновой кислот и имидазольная группа гистидина.

ИНГИБИТОР ХИМОТРИПСИНА И ТРИПСИНА ИЗ КЛУБНЕЙ КАРТОФЕЛЯ

© 2011 г. **Т. А. Ревина, И. А. Парфёнов, Е. Л. Гвоздева, Н. Г. Герасимова,
Т. А. Валеева**

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

e-mail: valueva@inbi.ras.ru

Поступила в редакцию 31.05.2010 г.

Из клубней картофеля (*Solanum tuberosum* L., сорт Юбилей Жукова) выделен и очищен до гомогенного состояния белок, обозначенный как РКСИ-23 (potato Kunitz-type chymotrypsin inhibitor). Очистку белка проводили с помощью методов гель-хроматографии на сефадексе G-75 и ионообменной хроматографии на КМ-сефарозе CL-6В. Белок РКСИ-23 с одинаковой степенью эффективности подавлял активность химотрипсина и трипсина, образуя с ферментами эквимольные комплексы. Значительно слабее он действовал на субтилизин Карлсберг. Определена N-концевая 20-членная

аминокислотная последовательность белка РКСІ-23. Показано, что ингибитор РКСІ-23 в различной степени угнетает рост и развитие патогенных микроорганизмов *Fusarium culmorum* (Wm. G. Sm.) Sacc. и *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, поражающих картофель.

ОЧИСТКА ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ПРОТЕИНАЗ ИЗ *Bacillus subtilis* СКБ 256 БИОСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ХРОМАТОГРАФИЕЙ

© 2011 г. У. Р. Раджабов, К. Д. Давранов, М. М. Рахимов

Национальный университет Узбекистана им. М. Улугбека, Ташкент, 100095

e-mail: k_davranov@mail.ru

Поступила в редакцию 20.12.2009 г.

Разработан простой и эффективный метод очистки внеклеточных протеиназ из *Bacillus subtilis* В-1 (СКБ 256) до высокоочищенного состояния. Для этого синтезирован сорбент, представляющий собой сорсилен, пропитанный гемоглобином или цитохромом *c*. Выявлена существенная разница при использовании в качестве биоспецифического лиганда гемоглобина и цитохрома *c*. Выход фермента составил около 40.6 и 65.6% от адсорбированного на носителях фермента, соответственно. Показано, что протеиназы из этой культуры представлены двумя формами, которые различаются молекулярными массами, т.к. разделяются при гель-фильтрации на сефадексе G-50, но эти формы в денатурированном состоянии в 12.5%-ном ПААГе в присутствии 0.1% ДДС-На проявляются в виде одной полосы с ММ 27 кДа. Изучено влияние pH среды, ионной силы и этанола на сорбцию и десорбцию протеиназ на биоспецифическом сорбенте. Показано положительное влияние 20%-ного этанола на процесс десорбции протеиназ.

PURIFICATION AND CHARACTERIZATION OF AN ENDOXYLANASE FROM THE CULTURE BROTH OF *Bacillus cereus* BSA1

© 2011 A. Mandal, S. Kar, P. K. Das Mohapatra, C. Maity, B. R. Pati, and K. C. Mondal

Department of Microbiology, Vidyasagar University, Midnapur— 721102, West Bengal, India

e-mail: mondalkc@gmail.com

Received May 31, 2010

An extracellular xylanase from the fermented broth of *Bacillus cereus* BSA1 was purified and characterized. The enzyme was purified to 3.43 fold through ammonium sulphate precipitation, DEAE-cellulose chroma-tography and followed by gel filtration through Sephadex G-100 column. The molecular mass of the purified xylanase was about 33 kDa. The enzyme was an endoxylanase as it initially degraded xylan to xylooligomers. The purified enzyme showed optimum activity at 55°C and at pH 7.0 and remained reasonably stable in a wide range of pH (5.0—8.0) and temperature (40—65°C). The K_m and V_{max} values were found to be 8.2 mg/ml and 181.8 $\mu\text{mol}/(\text{min mg})$, respectively. The enzyme had no apparent requirement of cofactors, and its activity was strongly inhibited by Cu^{++} , Hg^{++} . It was also a salt tolerant enzyme and stable up to 2.5 M of NaCl and retained its 85% activity at 3.0 M. For stability and substrate binding, the enzyme needed hydrophobic interaction that revealed when most surfactants inhibited xylanase activity. Since the enzyme was active over wide range of pH, temperature and remained active in higher salt concentration, it could find potential uses in biobleaching process in paper industries.

RAPID DIFFERENTIATION OF BACTERIAL SPECIES BY HIGH RESOLUTION MELTING CURVE ANALYSIS

© 2011 J. Šimenc^{* **}, U. Potočnik^{* **}

**Center for Human Molecular Genetics and Pharmacogenomics, Medical Faculty, University of Maribor, SI-2000 Maribor, Slovenia*

e-mail: uros.potocnik@uni-mb.si

*** Faculty of Chemistry and Chemical technology, University of Maribor, SI-2000 Maribor, Slovenia*

Received April 12, 2010

Molecular based differentiation of various bacterial species is important in phylogenetic studies, diagnostics and epidemiological surveillance, particularly where unusual phenotype makes the classical phenotypic identification of bacteria difficult. Molecular approach based on the sequence of 16S ribosomal RNA gene analysis can achieve fast and reliable identification of bacteria. High resolution melting (HRM) curve analysis has been developed as an attractive novel technique for DNA sequence discrimination but its application for bacteria differentiation has not been well studied yet. We have developed HRM assay for differentiation of sixteen pathogenic or opportunistic bacterial species. Amplified partial 16S ribosomal RNA gene region between 968 and 1401 positions (*E. coli* reference numbering) was subsequently used in high resolution melting curve analysis of PCR products for bacterial species differentiation. Sixteen bacterial species were simultaneously discerned by difference plot of normalized and temperatures shifted melting curves, without need for spiking of DNA, hetero-duplexing experiments or application of several primer pairs. High resolution melting curve analysis of duplex DNA is simple, fast and reliable tool for bacterial species differentiation and may efficiently complement phenotypic identification of bacteria.

ПЕРЕКРЕСТНАЯ АНТИСТРЕССОВАЯ ЗАЩИТА УФ-ОБЛУЧЕННЫХ КЛЕТОК ДРОЖЖЕЙ ПРИ УЧАСТИИ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ПЕПТИДНЫХ ФАКТОРОВ

© 2011 г. Л. И. Воробьева^{*}, Е. Ю. Ходжаев^{*}, М. М. Вустин^{**}

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

e-mail: nvvorobieva@mail.ru

*** ГосНИИ генетики и селекции промышленных микроорганизмов, Москва*

Поступила в редакцию 30.09.2010 г.

Изучалось антистрессовое действие внеклеточных пептидов на УФ-облученные клетки дрожжей различных филогенетических групп. Показано, что дрожжи разных экотопов и систематических групп, подвергаемые УФ-облучению летальной интенсивности, проявляют защитное и реактивирующее действие при участии внеклеточных пептидов. Наибольшая защитная активность обнаружена у пептидных реактивирующих факторов (РФ) пищевых дрожжей — *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces fragilis* и *Candida utilis*; наибольшая реактивирующая активность — у факторов из указанных культур, а также из *Debariomyces hansenii*. Показано перекрестное защитное и реактивирующее действие РФ дрожжей, принадлежащих к разным систематическим группам. Перекрестная защита увеличивалась в 2—3 раза после предварительного облучения факторов реактивации УФ-светом (активация), в отличие от их реактивирующего действия.

ПОЛУЧЕНИЕ 3,17-ДИКЕТОСТЕРОИДОВ ИЗ СОЕВЫХ СТЕРИНОВ С ПОМОЩЬЮ АКТИНОБАКТЕРИЙ *Mycobacterium neoaurum*, *Pimelobacter simplex* И *Rhodococcus erythropolis*

© 2011 г. В. А. Андрияшина*, Н. В. Родина*, Т. С. Стыценко*, Лью Дук Хи**, А. В. Дружинина*, В. В. Ядерен*, Н. Е. Войшвилло*

* Центр "Биоинженерия" РАН, Москва, 117312

e-mail: andryushina@rambler.ru

** Институт химии, Вьетнамская академия наук и технологий, Ханой

Поступила в редакцию 14.04.2010 г.

Конвертировали соевые стеринны (СС) в андрост-4-ен-3,17-дион (АД), андроста-1,4-диен-3,17-ди-он (АДД) и 9 α -гидрокси-АД (9-ОН-АД) с помощью трех штаммов актинобактерий. Найдены условия получения АД с помощью *Mycobacterium neoaurum* из 30 г/л СС. Стерины вносили в среду в виде микрокристаллов, либо в комплексе с метил- β -циклодекстрином (МЦД). Через 144 ч трансформации содержание АД в культуральной жидкости достигало 14.5 и 15.2 г/л соответственно. АД, полученный в присутствии МЦД, трансформировали (не выделяя из культуральной жидкости), в АДД с помощью *Pimelobacter simplex* или в 9-ОН-АД с помощью *Rhodococcus erythropolis*. Через 3 ч 1,2-де-гидрирования в реакционной смеси содержалось 13.5 г/л АДД, который был выделен с выходом 75% с примесью 1.25% АД и 1.5% 1,2-дегидротестостерона. В контрольном опыте — 1,2-дегидрирование 20 г/л чистого АД в водном растворе с МЦД заканчивалось через 4 ч без образования побочных продуктов. Продукт, полученный через 22 ч 9 α -гидроксилирования АД, содержал по данным ВЭЖХ 80% 9-ОН-АД и 1.5% АД, отделение которого от гидроксистероида не представляло трудностей в отличие от опытов с АДД. Выход 9-ОН-АД с т.пл. 218-220°C в пересчете на СС составил 56%.

ВЛИЯНИЕ НА РАСТЕНИЯ ФИТОГОРМОНОВ, СИНТЕЗИРУЕМЫХ РИЗОСФЕРНЫМИ БАКТЕРИЯМИ

© 2011 г. М. Г. Соколова*, Г. П. Акимова*, О. Б. Вайшля**

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

e-mail: SokolovaMG@sifibr.irk.ru

** Томский государственный университет, Томск, 634050

Поступила в редакцию 18.03.2010 г.

Новые штаммы ризосферных микроорганизмов *Azotobacter chroococcum* Az d10, *Bacillus megaterium* P1-04 и *Bacillus mucilaginosus* B-1574 способны к синтезу цитокининов (ЦК) и индолилуксусной кислоты (ИУК). Обнаружено три формы ЦК: дигидрозеатинрибозид, изопентениладенозин, трансзеатинрибозид, соотношение между которыми было различно в трех бактериальных культурах. Инокуляция растений огурца (*Cucumis sativus* L.) приводила к повышению в них ЦК — на 35.6%, ИУК — на 21.3% и увеличивала прорастание семян, скорость роста, биомассу проростков, количество боковых корней и площадь распространения корневых волосков, что способствовало лучшему питанию растений. Соотношение ИУК/ЦК при бактериализации сдвигалось в сторону ЦК за счет возрастания их рибозидных форм, что, вероятно, и обуславливало стимуляцию роста.

СОЗДАНИЕ СИСТЕМЫ ЭКСПРЕССИИ ГЕТЕРОЛОГИЧНЫХ ГЕНОВ НА ОСНОВЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ШТАММА ГРИБА *Aspergillus awamori*

© 2011 г. А. М. Рожкова*, А. С. Середина**, Н. В. Цурикова**, А. К. Нуртаева***, М. В. Семёнова*, Л. В. Римарева**, Е. А. Рубцова*, И. Н. Зоров****, О. А. Сеницына****, А. П. Сеницын****

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

e-mail: amrojkova@mail.ru, inbi@inbi.ras.ru

**Всероссийский научно-исследовательский институт

пищевой биотехнологии Россельхозакадемии, Москва, 111033

e-mail: vnipbt@com2com.ru

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

e-mail: anurtaeva@kimep.kz

****Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Химический факультет, Москва, 119992

e-mail: info@rector.msu.ru

Поступила в редакцию 12.04.2010 г.

Создана экспрессионная система гетерологичных генов в отечественном штамме *Aspergillus awamori* Co-6804 — продуценте глюкоамилазы. Используя промоторную и терминаторную области гена глюкоамилазы, был получен вектор рGa, в который успешно клонировались гены фитазы *A. niger*, эндоглюканызы *Trichoderma reesei* и ксиланазы *Penicillium canescens*. Разделение ферментных препаратов с использованием системы высокоэффективной жидкостной хроматографии (FPLC) показало, что содержание рекомбинантных ферментов в общем пуле секретируемого белка составляло от 0.6 до 14%.

НОВЫЕ ПРОДУЦЕНТЫ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ – ГРИБЫ РОДА *Penicillium*, ВЫДЕЛЕННЫЕ ИЗ ВЕЧНОЙ МЕРЗЛОТЫ

© 2011 г. Т. В. Антипова, В. П. Желифонова, Б. П. Баскунов, С. М. Озерская, Н. Е. Иванушкина, А. Г. Козловский

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

e-mail: kozlovski@ibpm.pushchino.ru

Поступила в редакцию 24.05.2010 г.

Проведен скрининг продуцентов вторичных метаболитов среди 25 штаммов грибов рода *Penicillium*, выделенных из отложений вечной мерзлоты Арктики, Антарктиды и из мерзлого вулканического пепла Камчатки. Обнаружено, что половина из исследованных штаммов синтезирует биологически активные вещества алкалоидной природы: эргоалкалоиды, дикетопиперазины и производные хинолина. Большая часть из идентифицированных метаболитов относится к микотоксинам. Найден штамм *Penicillium waksmanii* — продуцент эпоксиагроклавина-I и хиноцитрининов, исследованы его основные физиолого-биохимические характеристики.

ДЕЙСТВИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ И НЕОРГАНИЧЕСКИХ ТОКСИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ НА ЛЮМИНЕСЦЕНЦИЮ СВЕТЯЩИХСЯ ГРИБОВ

© 2011 г. Г. А. Выдрякова, А. А. Гусев, С. Е. Медведева

Институт биофизики СО РАН, Красноярск, 660036

e-mail: vydryakova@mail.ru

Поступила в редакцию 17.11.2009 г.

Оценена возможность создания твердофазного биолюминесцентного биотеста с использованием светящегося воздушного мицелия грибов. Исследовано действие органических и неорганических токсических веществ (ТВ) в концентрациях от 10^{-6} до 1 мг/мл на свечение воздушного мицелия культур 4 видов светящихся грибов: *Armillaria borealis* (Коллекция культур ИЛ СО РАН), *A. mellea*, *A. gallica* и *Lampteromyces japonicus* (Коллекция грибов БИН РАН). Наиболее чувствительной к действию растворов модельных ТВ оказалась культура *A. mellea*. Показано, что чувствительность светящихся грибов сравнима с таковой светящихся бактерий, используемых для мониторинга окружающей среды. Использование в качестве тест-объекта светящегося воздушного грибного мицелия на твердофазном носителе является перспективным направлением биотестирования для создания биосенсоров с целью непрерывного мониторинга воздушной среды.

МЕЛАНИН СТЕРИЛЬНОЙ ФОРМЫ *Laetiporus sulphureus*

© 2011 г. Д. Н. Олейников*, С. В. Агафонова**, А. В. Столбикова**, А. В. Рохин***

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

e-mail: oldaniil@rambler.ru

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

***Иркутский государственный университет, Иркутск, 664033

Поступила в редакцию 23.03.2010 г.

Из мицелия базидиального вида *Laetiporus sulphureus* (Bull.: Fr.) Murr получен меланиновый комплекс (выход 2.49% от массы сырья). С применением УФ-, ИК-спектроскопии, гель-хроматографии и щелочного расщепления установлено, что выделенный меланин был гетерогенен и относился к дигидронафталиновому типу. Данные ^{13}C -ЯМР указывали на доминирование ароматических фрагментов в структуре меланина. В ходе исследования антиоксидантного действия методами *in vitro* установлено, что меланин *L. sulphureus* обладал антирадикальной активностью, а также обладал способностью к инактивации молекул пероксида водорода, оксида азота(II) и хелатированию ионов железа(II).

БИОИНЖЕНЕРИЯ СИМБИОТИЧЕСКИХ СИСТЕМ: СОЗДАНИЕ НОВЫХ АССОЦИАТИВНЫХ СИМБИОЗОВ С ПОМОЩЬЮ ЛЕКТИНОВ НА ПРИМЕРЕ ТАБАКА И РАПСА

© 2011 г. З. Р. Вершинина, Ан. Х. Баймиев, Д. К. Благова, А. В. Князев,

Ал. Х. Баймиев, А. В. Чемерис

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН,
Уфа, 450054

e-mail: zilyaver@mail.ru

Поступила в редакцию 18.04.2010 г.

С помощью дикого штамма *Agrobacterium rhizogenes* 15834, трансформированного плазмидой pSAMBA 1305.1, содержащей полноразмерный ген лектина гороха посевного *psl*, получены трансгенные по гену лектина "бородатые корни" на табаке и рапсе. Исследовано влияние экспрессии гена лектина на колонизацию трансгенных корней симбионтом гороха посевного *Rhizobium leguminosarum*. Численность адгезированных бактерий на трансформированных геном лектина корнях оказалась выше в ≈ 14 (табак) и ≈ 37 (рапс) раз, по сравнению с контролем, что доказывает взаимодействие *R. leguminosarum* с лектином гороха на поверхности трансформированных корней табака и рапса. Разработанный экспериментальный подход, основанный на симуляции процессов узнавания и ранних симбиотических взаимодействий с помощью лектинов бобовых растений, в перспективе может быть использован для получения стабильных ассоциаций экономически ценных несимбиотрофных видов растений с ризобиями.

БИОПОЛИМЕР АЛЬГИНАТНОЙ ПРИРОДЫ С ПРЕОБЛАДАНИЕМ L-ГУЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ

© 2011 г. Я. О. Логинов, Г. Г. Худайгулов, С. П. Четвериков, А. И. Мелентьев,
О. Н. Логинов

Институт биологии Уфимского научного центра РАН, Уфа, 450054

e-mail: che-kov@mail.ru

Поступила в редакцию 08.04.2010 г.

Получен высоковязкий биополимер из *Azotobacter vinelandii* — полисахарид альгинатной структуры с преобладанием α -L-гулурановой кислоты ($M/G = 0.22$), молекулярная масса которого в интервале 250—350 кДа. При культивировании на среде с мелассой выход экзополисахарида составил 20.5 ± 0.5 г/л при вязкости культуральной жидкости свыше 30000 сСт. Биополимер стабилен в диапазоне pH 4.0—9.0 в широком интервале температур, хорошо растворяется в высокоминерализованной воде, сохраняя высокий уровень вязкости, и может использоваться в нефтяной промышленности для повышения нефтеотдачи.

ВЛИЯНИЕ ЛИПОКСИГЕНАЗЫ СЕМЯН СОИ НА ХЛЕБОПЕКАРНЫЕ СВОЙСТВА ПШЕНИЧНОЙ МУКИ

© 2011 г. М. Д. Пермякова, В. А. Труфанов

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

e-mail: gluten@sifibr.irk.ru

Поступила в редакцию 14.04.2010 г.

Исследовано изменение хлебопекарных свойств пшеничной муки при действии липоксигеназы семян сои и полиненасыщенных жирных кислот. Показано положительное влияние соевой муки, добавленной при замесе пшеничного теста в количестве 2%. Рекомендован способ ферментации теста, приводящий к увеличению объема хлеба, улучшению органолептических показателей и общей хлебопекарной оценки.

РАЗРАБОТКА И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НЕПРЯМОГО КОНКУРЕНТНОГО ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НЕОМИЦИНА В МОЛОКЕ

© 2011 г. М. А. Буркин, И. А. Гальвидис

Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова РАМН, Москва, 105064

e-mail: burta68@yandex.ru

Поступила в редакцию 09.02.2010 г.

В результате иммунизации кроликов неомицином В (НМ), конъюгированным с окисленным периодатом трансферина, были получены поликлональные антитела, на основе которых создан непрямой конкурентный твердофазный иммуноферментный анализ (ИФА). При использовании полимеризованного глутаровым альдегидом (ГА) НМ, желатины-рибостаминаци(пи) и желатины-НМ(га) в качестве твердофазных антигенов были разработаны ИФА-системы для количественного определения антибиотика в молоке с различным рабочим диапазоном измерения и пределами определения — 1.0, 0.1 и 0.01 нг/мл, соответственно. Без специальной пробоподготовки максимально допустимый уровень (МДУ) этого антибиотика в молоке, установленный в странах ЕС, мог выявляться в наименее чувствительном варианте при 100-кратном разведении образца. Средний показатель извлечения при анализе молока 1.5—10% жирности составил 111.7% при общем диапазоне 84—125.2%. При анализе 106 проб молока уровень НМ был выше 100 нг/мл в 57 образцах. В 10% случаев остаточное содержание препарата превышало 500 нг/мл. Превышение МДУ было зарегистрировано в 1 случае (1690 нг/мл). Разработанный метод специфичен, не подвержен влиянию со стороны других используемых в ветеринарии аминогликозидов, обладает большим запасом чувствительности и может служить эффективным инструментом определения содержания НМ в молочном сырье.