

ИНГИБИТОРЫ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ ПРИ АБИОТИЧЕСКИХ СТРЕССАХ У РАСТЕНИЙ (ОБЗОР)

© 2011 г. **В. В. Мосолов, Т. А. Валуева**

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

e-mail: valueva@inbi.ras.ru

Поступила в редакцию 14.03.2011 г.

Рассмотрены данные о значении ингибиторов протеолитических ферментов в адаптации растений к различным неблагоприятным внешним факторам абиотического характера — недостатку воды, засолению почвы, экстремальным температурам и др., а также вероятные формы участия ингибиторов протеиназ в процессе естественного старения у растений.

АЭРОБНАЯ ДЕГРАДАЦИЯ ЭТИЛЕНДИАМИНТЕТРААЦЕТАТА (ОБЗОР)

© 2011 г. **Е. Н. Капаруллина, Н. В. Доронина, Ю. А. Троценко**

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г. К. Скрябина РАН, Пушchino, Московская область 142290

e-mail: trotsenko@ibpm.pushchino.ru

Поступила в редакцию 17.12.2010 г.

Проанализированы и обобщены данные литературы по влиянию комплексообразующего соединения этилендиаминтетраацетата (ЭДТА) на окружающую среду, а также экологические риски в связи с его применением. Систематизированы способы абиотического и биотического разложения ЭДТА. Особое внимание уделено микробиологической деградации этого соединения. Представлены данные о транспорте и путях метаболизма ЭДТА у аэробных бактерий. Обсуждаются практические аспекты использования аэробных бактерий-деструкторов ЭДТА в экобиотехнологии.

ВЫСОКОЭФФЕКТИВНАЯ РЕНАТУРАЦИЯ ИММОБИЛИЗОВАННОГО РЕКОМБИНАНТНОГО С-КОНЦЕВОГО ФРАГМЕНТА АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИНА ЧЕЛОВЕКА

© 2011 г. **О. А. Шарпова*, М. С. Юркова**, С. М. Андропова**, А. Н. Фёдоров**,**

С. Е. Северин*, Е. С. Северин**

** Московский научно-исследовательский институт медицинской экологии, Москва, 117638*

e-mail: sharapova_o@hotmail.com

***Всероссийский научный центр молекулярной диагностики и лечения, Москва, 117638*

Поступила в редакцию 01.03.2011 г.

С-концевой фрагмент человеческого онкофетального белка альфа-фетопротеина (АФП) может быть использован для адресной доставки цитостатиков к раковым клеткам многих видов опухолей. Фрагмент АФП (с 404 по 595 аминокислотный остаток полноразмерного белка) был клонирован и продуцирован в клетках *Escherichia coli*, штамм BL21 (DE3) в виде телец включения. Для получения функционально активного белка необходимо проводить его ренатурацию. Процедура ренатурации третьего домена АФП (rAFP3D) значительно усложняется тем, что данный белок является гидро-

фобным и содержит большое количество S—S-связей. Была разработана методика ренатурации гAFP3D иммобилизованного на кремниевой металло-хелатной смоле. Выход ренатурированного С-концевого фрагмента составил не менее 60% с чистотой порядка 98%. Разработанная методика была впервые применена для гидрофобного белка с большим количеством S—S-связей. Данный подход может быть применен для эффективной ренатурации других гидрофобных белков с большим количеством дисульфидных связей для научных и практических целей.

ВЛИЯНИЕ ТРИТЕРПЕНОВЫХ ГЛИКОЗИДОВ НА АКТИВНОСТЬ α -И β -АМИЛАЗ И СОДЕРЖАНИЕ СУММАРНОГО БЕЛКА В ПРОРОСТКАХ ПШЕНИЦЫ

© 2011г. Э. С. Давидянц

*Ставропольский научно-исследовательский институт сельского хозяйства РАСХН,
Михайловск, 356241, Ставропольский край
e-mail: sniish@mail.ru*

Поступила в редакцию 12.01.2011 г.

Изучено влияние гликозидов олеаноловой кислоты, полученных из надземной части *Silphium perfoliatum* L. (ильфиозиды В, С, Е и G) и их прогенинов на активность амилаз и содержание суммарного белка в проростках пшеницы. Обработка семян озимой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) 1.0—10.0 мкМ водными растворами моно- и дигликозидов (моно- и бисдесмозиды) повышала α -амилазную и суммарную амилолитическую активность в проростках. Увеличение количества глюкозных остатков до 3 (ильфиозид Е) приводило к потере стимулирующего эффекта на активность α -амилазы. У бис-триглюкозида, содержащего ацетильную группу в углеводной части молекулы (ильфиозид С) способность к стимуляции α -амилазной активности в концентрации 0.5—1.0 мкМ сохранялась. Обработка семян 5.0—10.0 мкМ растворами исследуемых веществ приводила к повышению суммарного белка в проростках и усилению их роста, при этом действие гликозидов не уступало эффектам экзогенных гиббереллина А₃ и 6-бензиламинопурина.

CHANGES IN GENE TRANSCRIPTION AND PROTEIN EXPRESSION INVOLVED IN THE RESPONSE OF *Agrobacterium* sp. ATCC 31749 TO NITROGEN AVAILABILITY DURING CURDLAN PRODUCTION

© 2011 L. J. Yu, J. R. Wu, Z. Z. Zheng, C. C. Lin, X. B. Zhan

School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi, 214122, PR China

e-mail: xbzhan@yahoo.com

Received March 24, 2011

The changes in transcription of genes involved in nitrogen metabolism and curdlan biosynthesis, and total protein expression were firstly analyzed to define the responses of *Agrobacterium* sp. ATCC 31749 to nitrogen source availability during curdlan fermentation. The transcription of all nitrogen metabolism and regulation genes increased significantly under nitrogen limitation. The genes of carbon (*exoC*) and nitrogen (*ntrB*, *ntrC*, and *nifR*) metabolism showed distinctive transcriptional responses to nitrogen limitation. Their relative expression level was increased by 14, 9, 7 and 7-fold, respectively. Two-dimensional electrophoresis (2-DE) revealed that the expression of 14 proteins were elevated and 6 proteins were down-regulated

significantly under nitrogen starvation. Furthermore, 4 proteins (GroEL, ABC transporter, Atu1730 and enoyl-acyl carrier protein reductase) in which the expression level changed significantly were identified. The results showed that *Agrobacterium* sp. regulates its carbon flux and nitrogen assimilation effectively for better survival.

СИНТЕЗ СОПОЛИМЕРОВ 3-ГИДРОКСИБУТИРАТА-СО-4-ГИДРОКСИБУТИРАТА ВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИМИ БАКТЕРИЯМИ

© 2011 г. Т. Г. Волова*, Н. О. Жила**, Г. С. Калачёва**, В. А. Соколенко***, Э. Дж. Сински****

*Сибирский федеральный университет, Красноярск, 660041

e-mail: volova45@mail.ru

**Институт биофизики Сибирского отделения РАН, Красноярск, 660036

***Институт химии и химической технологии Сибирского отделения РАН, Красноярск, 660036

****Массачусетский технологический институт, Кембридж, Массачусетс, США, 02139

Поступила в редакцию 21.01.2011 г.

Исследован синтез сополимера 3- и 4-гидроксibuтирата (ЗГБ-СО-4ГБ) как наиболее перспективного представителя семейства биоразрушаемых полигидроксиалканоатов (ПГА). С использованием природных штаммов водородокисляющих бактерий *Ralstonia eutropha* B5786 и *Cupriavidus eutrophus* B10646 найдены условия культивирования для эффективного синтеза сополимера ЗГБ-СО-4ГБ. Получена серия высокоочищенных образцов сополимера ЗГБ-СО-4ГБ с различным содержанием 4ГБ (от 8.7 до 24.3 мол. %). Установлено, что включение 4ГБ в сополимер в большей степени, нежели 3-гидроксивалерат и 3-гидроксигексаноат, приводит к снижению кристалличности сополимера; получены образцы, имеющие степень кристалличности ниже 30%. Показано, что средневесовая молекулярная масса сополимеров ЗГБ-СО-4ГБ не зависит от соотношения мономеров и варьирует в широких пределах (от 540 до 1110 кДа).

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ПОЛУЧЕНИЕ ВОДОРАСТВОРИМОГО МЕЛАНИНА И ИЗУЧЕНИЕ ЕГО ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ

© 2011 г. А. Е. Агаджанян, Р. А. Асатурян, А. А. Амбарцумян, Л. Б. Саргисян, А. С. Овсепян, А. А. Варданян, А. С. Сагиян

Научно производственный центр "Армбиотехнология" ГНКО НАН РА, Ереван 0056, Армения

e-mail: aghajanyanarmen@yahoo.com

Поступила в редакцию 12.01.2011 г.

Разработан эффективный сорбционный метод выделения и очистки меланина из культуральной жидкости *Bacillus thuringiensis* serovar *galleriae* K1, представлена принципиальная технологическая схема получения. Идентификацию полученного пигмента с образцами природного и синтетического меланинов проводили методом ИК-спектроскопии, а соотношение интенсивностей оптического поглощения при 650 и 500 нм позволяет выделенный меланин отнести к классу эумеланинов. Термической обработкой установлено, что аморфный осадок меланина устойчив при температурах до 120°C, при этом концентрация парамагнитных центров изменяется с 0.053×10^{18} спин/г (48°C) до 0.25×10^{18} спин/г (120°C). Повышение температуры обработки до 210°C приводит к существенному

увеличению концентрации неспаренных электронов, и при 280°C наблюдается ее резкий рост. При 350°C рост прекращался, а затем наблюдался спад. Полученные результаты подтверждены методами ИК-спектроскопии и дериватографии.

МЕТАНОГЕННАЯ ДЕСТРУКЦИЯ (АМИНО)АРОМАТИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ АНАЭРОБНЫМИ МИКРОБНЫМИ СООБЩЕСТВАМИ

© 2011 г. Ю. В. Линькова*, А. Т. Дьяконова*, М. А. Гладченко**, С. В. Калюжный**,
И. Б. Котова*, А. Стамс***, А. И. Нетрусов*

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

e-mail: linkovay@gmail.com, kira1959@gmail.com

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

***Университет Вагенингена, 6703 НВ, Вагенинген, Нидерланды

Поступила в редакцию 08.12.2010 г.

Исследована деструкция ряда ароматических субстратов анаэробными микробными сообществами. Выделены активные метаногенные микробные сообщества, разлагающие аминокислоты и азокрасители до CH_4 и CO_2 . Продукты первичной трансформации аминокислот определены как 2-гидроксибензиловый и бензиловый спирты, последовательно превращающиеся в бензоат. Показано, что выделенные микробные сообщества способны без лаг-периода, но с разными скоростями превращать в биогаз бензиловый спирт, бензоат, салициловую кислоту и азокраситель золотисто-желтый, используемые как исходные субстраты. Впервые определены промежуточные ароматические и линейные интермедиаты биодеструкции ароматических аминов полученными накопительными культурами. Установлено селективное воздействие аминокислотных субстратов на микробное сообщество, выражающееся в снижении разнообразия и последовательной смене доминирующих морфотипов.

СЕЛЕКТИВНОЕ ИЗВЛЕЧЕНИЕ МЕТАЛЛОВ ИЗ ЦИНКОВОГО КОНЦЕНТРАТА АССОЦИАЦИЕЙ ХЕМОЛИТОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ

© 2011 г. Н. С. Варданян, А. К. Варданян

Центр микробиологии и депонирования микроорганизмов НАН РА, Абовян, 2201, Армения

e-mail: nvard@sci.am

Поступила в редакцию 18.01.2011г.

Исследована возможность селективного извлечения меди и цинка из цинкового концентрата ассоциацией хемолитотрофных бактерий. Показано, что в присутствии ассоциации бактерий ускоряется выщелачивание цинка в 3, меди в 4—5 и железа в 2 раза. При этом с наибольшей скоростью выщелачивается цинк, затем медь и железо. Выявлено, что при добавлении 2 г/л Fe^{3+} сильно подавляется выщелачивание железа, и в 3 раза возрастает скорость выщелачивания меди при неизменной скорости растворения минерала цинка. Предполагается, что интенсификация выщелачивания меди связана с деятельностью сероокисляющих бактерий, способных активизировать поверхность минерала путем

удаления с нее пассивирующего слоя элементной серы. Делается заключение, что существенная роль в выщелачивании меди из цинкового концентрата принадлежит сероокисляющим бактериям. Из пульпы выщелачивания цинкового концентрата выделен и изучен оригинальный штамм мезофильных сероокисляющих бактерий, который в перспективе может служить эффективным кандидатом для осуществления селективного извлечения меди из цинкового концентрата.

ВЫЩЕЛАЧИВАНИЕ МЕДНОЙ РУДЫ УДОКАНСКОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ ПРИ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУРАХ АССОЦИАЦИЕЙ АЦИДОФИЛЬНЫХ ХЕМОЛИТОТРОФНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

© 2011 г. Т. Ф. Кондратьева*, Т. А. Пивоварова*, Л. Н. Крылова**, В. С. Меламуд*,
Э. В. Адамов**, Г. И. Каравайко*

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

e-mail: kondr@inmi.host.ru

**Московский институт стали и сплавов, Москва 119049

e-mail: krulov@yandex.ru

Поступила в редакцию 19.01.2011 г.

Из сульфидно-окисленной медной руды Удоканского месторождения выделены чистые культуры штаммов аборигенных микроорганизмов, идентифицированных, как *Acidithiobacillus ferrooxidans* TFUd, *Lepiospirillum ferrooxidans* LUd, *Sulfobacillus thermotolerans* SLd. Изучены режимы химического и бактериального выщелачивания руды в диапазоне температур от -10 до $+20^{\circ}\text{C}$. Показано влияние на извлечение меди кислотности раствора, температуры и присутствия микроорганизмов. Бактериальное выщелачивание наблюдалось только при положительных значениях температуры, при 20°C намного активнее, чем при 4°C . Процесс шел интенсивнее при более высоком содержании в руде водорастворимых и окисленных минералов. Показана возможность выщелачивания медных руд Удоканского месторождения растворами серной кислоты с рН 0.4 при отрицательных значениях температуры и с применением ацидофильных хемолитотрофных микроорганизмов при положительных значениях температуры и низких значениях рН.

INCREASE OF ETHANOL PRODUCTIVITY BY CELL-RECYCLE FERMENTATION OF FLOCCULATING YEAST

© 2011 F. Z. Wang*, T. Xie**, M. Hui*

* School of Bioengineering, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001 P.R. China

** Department of Chemical Engineering, Hunan Institute of Engineering, Xiangtan, 411104 P.R. China

e-mail: wangfuzhuan@yahoo.com.cn

Received November 10, 2010

Using the recombinant flocculating Angel yeast F6, long-term repeated batch fermentation for ethanol production was performed and a high volumetric productivity resulted from half cells not washed and the optimum opportunity of residual glucose 20 g l^{-1} of last medium. The obtained highest productivity was $2.07\text{ g l}^{-1}\text{ h}^{-1}$, which was improved by 75.4% compared with that of $1.18\text{ g l}^{-1}\text{ h}^{-1}$ in the first batch fermentation. The ethanol concentration reached 8.4% corresponding to the yield of 0.46 g g^{-1} . These results will contribute greatly to the industrial production of fuel ethanol using the commercial method with the flocculating yeast.

PURIFICATION AND CHARACTERISATION OF LIGNIN PEROXIDASE FROM *Pycnoporus sanguineus* MTCC-137

© 2011 J. K. Sharma**, M. Yadav*, N. P. Singh**, and K. D. S. Yadav*

* Department of Chemistry, D.D.U. Gorakhpur University, Gorakhpur, 273 009, India

** Department of Chemistry, Udai Pratap College, Varansi, 221002, India

e-mail: kds_chemistry@rediffmail.com

Received November 24, 2010

Extracellular secretion of lignin peroxidase from *Pycnoporus sanguineus* MTCC-137 in the liquid culture growth medium amended with lignin containing natural sources has been shown. The maximum secretion of lignin peroxidase has been found in the presence of saw dust. The enzyme has been purified to homogeneity from the culture filtrate of the fungus using ultrafiltration and anion exchange chromatography on DEAE-cellulose. The purified lignin peroxidase gave a single protein band in sodium dodecylsulphate polyacrylamide gel electrophoresis corresponding to the molecular mass 40 kDa. The K_m , k_{cat} and k_{cat}/K_m values of the enzyme using veratryl alcohol and H_2O_2 as the substrate were 61 μM , 2.13 s^{-1} , $3.5 \times 10^4 M^{-1}s^{-1}$ and 71 μM , 2.13 s^{-1} , $3.0 \times 10^4 M^{-1}s^{-1}$ respectively at the optimum pH of 2.5. The temperature optimum of the enzyme was 25°C.

GC-MS AND SPECTROPHOTOMETRIC ANALYSIS OF BIODEGRADATION OF NEW DISAZO DYE BY *Trametes versicolor*

© 2011 H. Ardag Akdogan*, A. Demircali*, C. Aydemir*, N. Pazarlioglu**, F. Karci*

* The University of Pamukkale, Faculty of Science & Arts, Department of Chemistry, P.O. 286, 20017, Denizli, Turkey

e-mail: hardag@pamukkale.edu.tr

**Ege University, Faculty of Science, Department of Biochemistry, 35100 Izmir, Turkey

Received January 09, 2010

In this study sub-tropical white rot fungi, *Trametes versicolor* was investigated for its ability to degrade 4-(3'-methyl-4'-(4"-nitrophenyl)azo-1'H-pyrazol-5'-ylazo)-3-methyl-1H-pyrazol-5-on in the mediums containing glucose and different concentrations of degrade dye in batch systems. This dye was synthesized at Pamukkale University of Organic Chemistry research laboratory. Samples were collected on 10 days, and was detected by Shimadzu UV-I600A spectrophotometry. Decolorization study showed that this disazo dye was removed by more than 70% in 10 days. Laccase enzyme activity was detected in samples and then last sample was analyzed by GC-MS. Metabolites weren't showed in GC-MS result. It was concluded that *T. versicolor* could achieve the biodegradation of this new disazo dye.

ВЛИЯНИЕ ПОЛИЦИКЛИЧЕСКИХ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ НА ПРОДУКЦИЮ ЛАККАЗЫ ГРИБОМ БЕЛОЙ ГНИЛИ *Pleurotus ostreatus* D1

© 2011 г. Н. Н. Позднякова, С. В. Никифорова, О. Е. Макаров, О. В. Турковская

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов, 410049

e-mail: nataliapozdnyakova@yahoo.com; ecbio@ibppm.sgu.ru

Поступила в редакцию 28.12.2010 г.

Исследовано влияние полициклических ароматических углеводов (ПАУ) на динамику продукции лакказы грибом *Pleurotus ostreatus* D1 в условиях погруженного культивирования на среде Кирка. Показано, что фенантрен, флуорантен, пирен и хризен активно индуцировали этот фермент, тогда как флуорен и антрацен влияли в меньшей степени. Дополнительное внесение ионов Mn^{2+} в среду культивирования увеличивало активность лакказы в 2 и более раз в присутствии всех исследованных ПАУ. Электрофорез в неденатурирующих условиях показал индукцию ксенобиотиками дополнительных форм лакказы. Активности лигнинолитических пероксидаз в данных условиях обнаружено не было.

САЛИЦИЛОВАЯ И ЖАСМОНОВАЯ КИСЛОТЫ В РЕГУЛЯЦИИ ПРОАнтиоксидантного статуса листьев пшеницы при инфицировании *Septoria nodorum* Berk.

© 2011 г. Л. Г. Яруллина, Н. Б. Трошина, Е. Л. Черепанова, Е. А. Заикина,

И. В. Максимов

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

e-mail: yarutlina@bk.ru

Поступила в редакцию 09.12.2010 г.

Исследовано влияние медиаторов сигнальных систем салициловой (СК) и жасмоновой (ЖК) кислот и их смеси на образование АФК (супероксидного радикала $O_2^{\cdot-}$ и H_2O_2), активность оксидоредуктаз (оксалатоксидазы, пероксидазы, каталазы) в листьях пшеницы *Triticum aestivum* L., инфицированных возбудителем септориоза *Septoria nodorum* Berk. Предпосевная обработка семян СК и ЖК снижала степень развития гриба на листьях пшеницы. СК оказывала более ранний индуцирующий дефект на синтез $O_2^{\cdot-}$ и H_2O_2 по сравнению с ЖК. Защитное действие салициловой и жасмоновой кислот против возбудителя септориоза было обусловлено активацией оксалатоксидазы, индукцией анионных и катионных пероксидаз и снижением активности каталазы. Способность соединений стимулировать образование АФК в растительных тканях можно использовать в качестве критерия для оценки иммуномодулирующей активности новых средств защиты растений.

**APPLICATION OF STANDARD ADDITION FOR THE
DETERMINATION OF CARBOXYPEPTIDASE ACTIVITY IN
Actinomucor elegans BRAN KOJI**

© 2011 J. Fu***, L. Li*, X. Q. Yang*, M. J. Zhu***

* *Research and Development Center of Food Proteins, College of Light Industry and Food Science, South China University of Technology, Guangzhou, 510641, China*

** *Bio-resources Key Laboratory of Shaanxi Province, Shanxi University of Technology, Hanzhong, 723001, China*

****College of Bioscience and Biotechnology, South China University of Technology, Guangzhou, 510006, China*

e-mail: lili@scut.edu.cn

Received December 15, 2010

Leucine carboxypeptidase (EC 3.4.16) activity in *Actinomucor elegans* bran koji was investigated via absorbance at 507 nm after stained by Cd-nihydrin solution, with calibration curve A, which was made by a set of known concentration standard leucine, calibration B, which was made by three sets of known concentration standard leucine solutions with the addition of three concentrations inactive crude enzyme extract, and calibration C, which was made by three sets of known concentration standard leucine solutions with the addition of three concentrations crude enzyme extract. The results indicated that application of pure amino acid standard curve was not a suitable way to determine carboxypeptidase in complicate mixture, and it probably led to overestimated carboxypeptidase activity. It was found that addition of crude exact into pure amino acid standard curve had a significant difference from pure amino acid standard curve method ($p < 0.05$). There was no significant enzyme activity difference ($p > 0.05$) between addition of active crude exact and addition of inactive crude kind, when the proper dilute multiple was used. It was concluded that the addition of crude enzyme extract to the calibration was needed to eliminate the interference of free amino acids and related compounds presented in crude enzyme extract.