

АНТИМИКРОБНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ: РАЗНООБРАЗИЕ И СВОЙСТВА (ОБЗОР)

© 2012 г. Л. Г. Стоянова, Е. А. Устюгова, А. И. Нетрусов

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

e-mail: stoyanovamsu@mail.ru

Поступила в редакцию 16.06.2011 г.

В обзоре представлены данные литературы по антимикробным метаболитам, синтезируемым молочнокислыми бактериями (МКБ), которые издавна используются для приготовления молочнокислых продуктов. Обобщены сведения по низкомолекулярным антимикробным веществам, являющимся основными или побочными продуктами молочнокислого брожения. В отдельных главах рассмотрено многообразие фунгицидных веществ МКБ и бактериоцинов в связи с их потенциальным использованием в качестве консервантов пищевых продуктов. Более подробно дана характеристика и классификация бактериоцинов, их синтез и механизм действия рассмотрены на примере низина А, относящегося к I классу лантибиотиков, синтезируемого бактериями *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*. Механизм действия бактериоцинов II класса рассмотрен на примере лактицина. В заключении приведены основные перспективные направления использования антимикробных метаболитов МКБ в промышленности и медицине.

THE INVOLVEMENT OF *Pseudomonas* BACTERIA IN INDUCED SYSTEMIC RESISTANCE IN PLANTS (REVIEW)

© 2012 U. Jankiewicz, M. Koltonowicz

Department of Biochemistry, Warsaw University of Life Sciences, 02-776 Warsaw, Poland

e-mail: urszula_jankiewicz@sggw.pl,

marzenicakol@o2.pl

Received May 24, 2011

This article reviews the most recent results of studies on the mechanism of induced systemic resistance (ISR) elicited in plants by non-pathogenic bacteria of the genus *Pseudomonas*. Several examples of *Pseudomonas* strains eliciting resistance against fungal phytopathogens in different species of crop plants are presented. Literature data dealing with bacterial elicitors and the effect of their interaction with plant receptors are quoted. Special focus is focused on the controversial issue of the correlation between the synthesis of pathogenesis-related proteins (PRs) and ISR.

АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ОКСИПРОИЗВОДНЫХ КУМАРИНА

© 2012 г. М. В. Потапович, Д. И. Метелица, О. И. Шадыро

Научно-исследовательский институт физико-химических проблем Белорусского
государственного университета, Минск, Беларусь, 220030,
e-mail: pot-maxim@tut.by

Поступила в редакцию 19.09.2011 г.

Изучена эффективность ингибиторов (антиоксидантная активность) оксипроизводных кумарина — эскулетина, дикумарола и фраксетина в псевдопероксидазной системе метгемальбумин— H_2O_2 —тетраметилбензидин при $20^\circ C$ в забуференном физиологическом растворе, pH 7.4, содержащем 6% ди-метилформамида и 0.25% диметилсульфоксида. Эффективность ингибиторов количественно охарактеризована константами ингибирования K_i , мкМ и величиной ингибирования в процентах. Величины K_i равны 9.5, 15 и 26 мкМ для эскулетина, дикумарола и фраксетина соответственно. Эскулетин и фраксетин ингибируют псевдопероксидазное окисление ТМБ по бесконкурентному типу, а дикумарол — по смешанному. Ингибирующая активность эскулетина при окислении ТМБ в пероксидазной системе характеризуется при pH 6.4 величиной K_i , равной 1.15 мкМ, а ингибирование носит конкурентный характер. Эскулетин — самый эффективный антиоксидант растительного происхождения из всех ранее исследованных в биохимических модельных системах.

E. coli PROPIONYL-CoA SYNTHETASE IS REGULATED *in vitro* BY AN INTRAMOLECULAR DISULFIDE BOND

© 2012 Y. Guo, D. J. Oliver

Department of Genetics, Development, and Cell Biology, Center for Biorenewable Chemicals,
Iowa State University, Ames, IA 50010 USA

e-mail: doliver@iastate.edu;

yimingguo@yahoo.com

Received October 25, 2011

The *E. coli* propionyl-CoA synthetase (PCS) was cloned, expressed, purified, and analyzed. Kinetic analyses suggested that the enzyme preferred propionate as substrate but would also use acetate. The purified, stored protein had relatively low activity but was activated up to about 10-fold by incubation with dithiothreitol (DTT). The enzyme activation by DTT was reversed by diamide. This suggests that the protein contains a regulatory disulfide bond and that the reduction to two sulfhydryl groups activates PCS while the oxidation to a disulfide leads to its inactivation. This idea was tested by sequential mutagenesis of the 9 Cys in the protein to Ala. It was revealed that the C128A and C315A mutants had wildtype enzyme activity but were no longer activated by DTT or inhibited by diamide. The data obtained indicate that two Cys residues could be involved in redox-regulated system through formation of an intramolecular disulfide bridge in PCS.

РОЛЬ ЭКЗОПОЛИМЕРНОГО КОМПЛЕКСА В ФОРМИРОВАНИИ БИОПЛЕНКИ НА ПОВЕРХНОСТИ СТАЛИ КОРРОЗИОННО- АГРЕССИВНЫМИ БАКТЕРИЯМИ

© 2012 г. Л. М. Пуриш, Л. Г. Асауленко, Д. Р. Абдулина, В. Н. Васильев,
Г. А. Иутинская

*Институт микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного НАН Украины, Киев,
Д 03680*

e-mail: purish @serv.imv.kiev.ua

Поступила в редакцию 15.06.2011 г.

Исследован состав экзополимерных комплексов (ЭПК), синтезируемых монокультурами *Desulfovibrio* sp. 10, *Bacillus subtilis* 36, *Pseudomonas aeruginosa* 27 и микробными ассоциациями, принимающими участие в коррозии металлических поверхностей. Методом газожидкостной хроматографии (ГЖХ) проведен анализ моносахаридного состава углеводных компонентов и жирнокислотного состава липидной части ЭПК. Установлено, что в условиях биопленки бактерии синтезировали полимеры, в которых преобладала глюкоза, а при росте в суспензии отмечено высокое содержание рамнозы. В составе ЭПК *B. subtilis* 36, *P. aeruginosa* 27 выявлены гексуроновые кислоты и гексозамины. Обнаружены качественные отличия жирнокислотного состава экзополимеров в биопленке и в бактериальной суспензии. Показано, что при переходе к биопленочной форме роста, степень ненасыщенности жирных кислот в экзополимерах ассоциативных культур возросла. Полученные результаты могут быть использованы для разработки методов борьбы с микробной коррозией металлических поверхностей.

РОЛЬ СУПЕРОКСИДНОГО АНИОН-РАДИКАЛА В БАКТЕРИАЛЬНОЙ КОРРОЗИИ МЕТАЛЛОВ

© 2012 г. Д. В. Белов*, А. А. Калинина*, Т. Н. Соколова*, В. Ф. Смирнов**,
М. В. Челнокова*, В. Р. Каргашов*

**Нижегородский государственный технический университет им. Р. Е. Алексеева,
Нижний Новгород, 603600*

***Научно-исследовательский институт химии Нижегородского государственного
университета им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, 603950*

*e-mail: 777aleksa 777_87@mail.ru,
biotehno@nntu.nnov.ru*

Поступила в редакцию 16.08.2011 г.

Установлена способность 7 штаммов бактерий участвовать в коррозионном повреждении алюминия, его сплавов, а также цинка. Наиболее активными по отношению к изучаемым металлам были бактерии *Proteus vulgaris* 1212 и *Pseudomonas aeruginosa* 969. Показана роль супероксидного анион-радикала в инициировании коррозионного разрушения алюминия и цинка, а также экзометаболитов бактерий — органических кислот в развитии этого процесса.

**ВЛИЯНИЕ ЛЕТУЧИХ МЕТАБОЛИТОВ ПРОРАСТАЮЩИХ СЕМЯН
НА РАЗМНОЖЕНИЕ БАКТЕРИЙ *Listeria monocytogenes*
И *Yersinia pseudotuberculosis***

© 2012 г. М. Л. Сидоренко*, Л. С. Бузолева**

*Биолого-почвенный институт ДВО РАН, г. Владивосток, 690022

**Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии СО РАМН,
г. Владивосток, 690087
e-mail: sidorenko@biosoil.ru

Поступила в редакцию 06.05.2011 г.

Изучена биологическая активность летучих метаболитов прорастающих семян капусты (*Brassica oleacia*), моркови (*Dauikus carota*), салата (*Lactuca sativa*), кукурузы (*Zea mays L.*) в отношении *Listeria monocytogenes* и *Yersinia pseudotuberculosis*, являющихся для последних факторами передачи. Показано, что летучие метаболиты прорастающих семян могут быть для этих бактерий единственным источником углерода и энергии. Основным веществом, влияющим на их рост и размножение, является метанол.

**СИНТЕЗ АУКСИНА ВЫСШИМ ГРИБОМ *Lentinus edodes* (Berk.) Sing В
ПРИСУТСТВИИ НИЗКИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ СОЕДИНЕНИЙ
ГРУППЫ ИНДОЛА**

© 2012 г. О. М. Цивилева, Е. А. Лощинина, О. Е. Макаров, В. Е. Никитина

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов, 410049
e-mail: tsivileva@ibppm.sgu.ru

Поступила в редакцию 21.03.2011 г.

Исследовано образование ауксина в глубинной культуре ксилотрофного базидиомицета *Lentinus edodes* (Berk.) Sing [*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler] (шиитаке). Выявлены биологически активные вещества индольной природы, "эффект малых доз" которых заключается не только в стимулировании роста мицелия (индоллил-3-уксусная кислота, 2×10^{-7} — 2×10^{-4} г/л), но и в индуцировании триптофан-независимого пути биосинтеза ауксина. Указанный путь реализуется в присутствии экзогенного индола (1×10^{-3} — 1×10^{-4} г/л), а также при индуцировании биосинтеза индоллил-3-уксусной кислоты ее микродобавками (1×10^{-5} — 1×10^{-8} г/л), и сопровождается образованием антраниловой кислоты (до 1.5 мг/л). Выявлена индукция генеративной стадии развития шиитаке индольным производным. Установлено, что среди изученных соединений только индолацетамид в концентрации порядка $\times 10^{-4}$ г/л в культуральной жидкости *L. edodes* оказывает ярко выраженное стимулирующее влияние на формирование коричневой мицелиальной пленки шиитаке.

INDUCTION, PURIFICATION AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF SULFHYDRYL OXIDASE FROM AN EGYPTIAN ISOLATES OF *Aspergillus niger*

© 2012 H. Moubasher*, A. A. Fahmi **, M. Abdur-Rahman**

*Department of Botany, Faculty of Science, Cairo University, Egypt

**Department of Chemistry, Faculty of Science, Cairo University, Egypt

e-mail: Moubasher54@hotmail.com

Received July 28, 2011

The conditions for the sulfhydryl oxidase (SOX) production and activity from an Egyptian isolate of *Aspergillus niger* were optimized. Purification and determination of the kinetic properties (K_m and V_{max}) of the purified enzyme have been done. The possibility for the SOX induction using L-Cys (as a natural substrate) was studied to determine whether SOX could be produced as an inducible enzyme in addition to being a constitutive one (i.e. whether induction leads to increase SOX production and activity or not). The optimum temperature and pH for its activity were found to be 60°C and 5.5, respectively. The activity of the induced intracellular SOX, was measured according to Ellman's method using the standard GSH oxidation where it reached 94% while that of non-induced one reached only 27.6%. This wide difference in activity between the induced and non-induced SOX indicates the successful L-Cys-induction of the SOX production (i.e. SOX from *A. niger* AUMC 4947 is an inducible enzyme). Molecular characterization of the pure SOX revealed that it is constituted of two 50-55 kDa subunits. K_m and V_{max} were found to be 6.0 mM and 100 μ M/min/mg respectively.

α -L-RHAMNOSIDASE FROM *Aspergillus clavato-nanicus* MTCC-9611 ACTIVE AT ALKALINE pH

© 2012 Vinita Yadav, Saroj Yadav, Sarita Yadav, K. D. S. Yadav

Department of Chemistry, D.D.U. Gorakhpur University, Gorakhpur-276009, India

e-mail: kdschemistry@rediffmail.com

Received October 10, 2011

An α -L-rhamnosidase secreting fungal strain has been isolated and identified as, *Aspergillus clavato-nanicus* MTCC-9611. The enzyme was purified to homogeneity from the culture filtrate of the fungus using concentration by ultrafiltration membrane and ion-exchange chromatography on CM-cellulose. The native PAGE analysis confirmed the homogeneity of the purified enzyme. The SDS-PAGE analysis of the purified enzyme revealed a single protein band corresponding to the molecular weight 82 kDa. The α -L-rhamnosidase activity of *Aspergillus clavato-nanicus* MTCC-9611 had optimum at pH 10.0 and 50°C. The K_m values of the enzyme were 0.65 mM and 0.95 mM using p-nitrophenyl α -L-rhamnopyranoside and naringin as a substrates respectively. The enzyme transforms naringin to prunin at pH 10.0 and further hydrolysis of prunin to naringenin does not occur under these reaction conditions that makes α -L-rhamnosidase activity of *Aspergillus clavato-nanicus* MTCC-9611 promising enzyme to get prunin for pharmaceutical purposes.

БИОСИНТЕЗ ФУМИХИНАЗОЛИНОВ ГРИБОМ *Penicillium thymicola*

© 2012 г. В. П. Желифонова, Т. В. Антипова, А. Г. Козловский

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов

им. Г. К. Скрыбина РАН, Пущино, 142290;

e-mail: Kozlovski@ibpm.pushchino.ru

Поступила в редакцию 3.10.2011 г.

Биосинтез фумихиназолинов F и G (ФХ), РС-2 и пигментов грибом *P. thymicola* ВКМ FW-869 напрямую зависит от количества углеродного субстрата (маннит) в среде. При всех изученных концентрациях маннита преобладала продукция пигментов. Условием преимущественного биосинтеза ФХ грибом *P. thymicola* является лимитирование источником углерода (маннитом) и присутствие NaCl в среде культивирования гриба. NaCl оказывает регуляторное влияние на образование вторичных метаболитов, увеличивая биосинтез ФХ и снижая образование пигментов. Максимальные показатели биосинтеза ФХ и подавление продукции пигментов достигнуты при концентрации маннита в среде 20 г/л и 2.5% NaCl.

ХИТИН-ГЛЮКАНОВЫЙ КОМПЛЕКС В КЛЕТОЧНЫХ СТЕНКАХ ЛИШАЙНИКА *Peltigera aphthosa*

© 2012 г. Н. Р. Мейчик, Д. В. Воробьёв

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

e-mail: meychik@mail.ru

Поступила в редакцию 5.07.2011 г.

Исследовали клеточные стенки и хитин-глюкановые комплексы, изолированные из разновозрастных частей таллома лишайника *Peltigera aphthosa*. С возрастом увеличивалась массовая доля клеточной стенки и хитин-глюкановых комплексов, но уменьшалось содержание азота в этих структурах. Наибольшей массовой долей хитин-глюканового комплекса от сухой массы таллома характеризовалась базальная зона таллома, апикальная — наибольшей массовой долей хитина в комплексе. Показано, что у *P. aphthosa* степень деацетилирования хитина в комплексе в зависимости от возраста составляла 33 и 54% в апикальной и базальной зонах соответственно. Предложенная методика функционального анализа хитин-глюкановых комплексов на присутствие в них свободных аминогрупп может быть применена при исследовании других лихенизированных грибов.

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГИДРОЛИЗА
ПОЛИСАХАРИДОВ УЛЬТРАДИСПЕРСНЫХ ЧАСТИЦ
ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗНОГО СЫРЬЯ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИХ РАЗМЕРА**

© 2012 г. **В. В. Шутова***, **А. И. Юсипович****, **Е. Ю. Паршина****, **Д. О. Захаркин***,
В. В. Ревин*

**Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, Саранск, 430005
e-mail: vshutova@yandex.ru*

***Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, 119899,
e-mail: sanuavor@gmail.com*

Поступила в редакцию 1.07.2011 г.

Исследовали эффективность ферментативного гидролиза полисахаридов древесины, измельченной до образования ультрадисперсных частиц (УДЧ). Установлено, что содержание редуцирующих сахаров (РС) в измельченном сырье и выход их при ферментативном гидролизе полисахаридов зависит от размера УДЧ. Методами лазерной интерференционной микроскопии и динамического рассеяния выявлено, что увеличение времени измельчения субстратов от 20 до 40 мин приводило к появлению в среде частиц от 2 до 200 нм. В ферментативных гидролизатах УДЧ наблюдалось накопление в основном глюкозы и галактозы. Интенсивность измельчения (скорость вращения мельницы) и время существенно влияли на полноту ферментативного гидролиза древесины.