

## СОВМЕСТНАЯ МИГРАЦИЯ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ И БОБОВЫХ РАСТЕНИЙ В НОВЫЕ МЕСТООБИТАНИЯ: МЕХАНИЗМЫ КОЭВОЛЮЦИИ И ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ (ОБЗОР)

© 2013 г. Н. А. Проворов\*, В. А. Жуков\*, О. Н. Курчак\*, О. П. Онищук\*, Е. Е. Андронов\*, А. Ю. Борисов\*, Е. П. Чижевская\*, Т. С. Наумкина\*\*, А. О. Овцына\*, Н. И. Воробьев\*, Б. В. Симаров\*, И. А. Тихонович\*\*\*

\* Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии  
Россельхозакадемии, С.-Петербург, 196608

\*\* Всероссийский научно-исследовательский институт зернобобовых и крупяных культур  
Россельхозакадемии, Орел, 303112

\*\*\* Санкт-Петербургский госуниверситет, С.-Петербург, 199034

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

Поступила в редакцию 17.05.2012 г.

В обзоре обобщены результаты изучения совместной миграции клубеньковых бактерий и бобовых растений в новые местообитания, которая часто сопровождается снижением эффективности их симбиоза в связи с утратой разнообразия по генам, контролирующим взаимодействие. Эта миграция может приводить к появлению новых симбионтов в результате переноса генов из исходных симбионтов в местные бактерии. Показано, что новые симбионты обычно лишены способности к фиксации  $N_2$ , но обладают высокой конкурентоспособностью, блокируя инокуляцию бобовых культур производственными штаммами. Конструирование ко-адаптированных систем узнавания и сигнального взаимодействия партнеров является перспективным подходом для обеспечения конкурентного преимущества эффективных штаммов ризобий, интродуцируемых в агроценозы совместно с хозяевами, над неактивными местными штаммами.

DOI: 10.7868/S0555109913030148

## ВЛИЯНИЕ РИЗОБИАЛЬНОЙ (*Rhizobium leguminosarum*) ИНОКУЛЯЦИИ И ИОНОВ КАЛЬЦИЯ НА АКТИВНОСТЬ НАДФН-ОКСИДАЗЫ В КОРНЯХ ЭТИОЛИРОВАННЫХ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА (*Pisum sativum* L.)

© 2013 г. А. К. Глянько, А. А. Ищенко

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

e-mail: [akglyanko@sifibr.irk.ru](mailto:akglyanko@sifibr.irk.ru)

Поступила в редакцию 11.05.2012 г.

Показаны изменения в функциональной активности НАДФН-оксидазы в микросомальной фракции корней этиолированных проростков гороха под влиянием ризобияльной инокуляции и ионов кальция ( $Ca^{2+}$ ). Обнаружены колебания активности фермента на среде с экзогенным источником  $Ca^{2+}$  ( $CaCl_2$ , 100 мкМ): повышение через 5 и 20 мин и снижение через 10 и 30 мин. Хелатор кальция (этиленгликоль тетрауксусная кислота, 100 мкМ) способствовал снижению активности фермента на фоне экзогенного кальция. Ризобияльная инокуляция в 3.9 раза увеличивала активность фермента через 5 мин по сравнению с контролем (без инокуляции). Активатор  $Ca^{2+}$ -каналов амиодарон (300 мкМ) и блокатор  $Ca^{2+}$ -каналов — хлорид лантана (400 мкМ), снижали активность НАДФН-оксидазы на фоне ризобияльной инокуляции до уровня контроля (без инокуляции). Делается вывод об участии  $Ca^{2+}$  и активных форм кислорода в регуляции активности мембранной НАДФН-оксидазы в корнях проростков гороха.

DOI: 10.7868/S0555109913030082

## ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ БЕЛКОВ МЕМБРАНЫ МАГНЕТОСОМ

© 2013 г. Д. С. Груздев\*,\*\*, М. В. Дзюба\*, А. С. Герасимов\*, Б. Б. Кузнецов\*

\* Центр "Биоинженерия" РАН, Москва, 117312

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

e-mail: [denisgrouzdev@gmail.com](mailto:denisgrouzdev@gmail.com)

Поступила в редакцию 19.11.2012 г.

Синтезированы генетические конструкции, кодирующие мембранный белок магнитотактической бактерии *Magnetospirillum magnetotacticum* Mam12 с одним (mb), двумя доменами В и Z (mbb и mzz) белка А *Staphylococcus aureus*. Проведены экспрессия, фракционирование, очистка гибридных белков и исследована активность модифицированных белков. На основании результатов ИФА был сделан вывод, что все модифицированные белки проявляют иммуноглобулинсвязывающую активность.

DOI: 10.7868/S0555109913030094

UDC 577.15:576.80

## PURIFICATION AND CHARACTERIZATION OF NITROREDUCTASE FROM RED ALKALIPHILIC BACTERIUM *Aquiflexum* sp. DL6

© 2013 S. A. Misal, V. D. Bajoria, D. P. Lingojar, and K. R. Gawai

Biochemistry Division, Department of Chemistry, University of Pune, Pune 411 007, India

e-mail: [kgawai@chem.unipune.ac.in](mailto:kgawai@chem.unipune.ac.in)

Received March 29, 2012

Nitroaromatic compounds are toxic to living organisms. Most of them exhibit human mutagenic and carcinogenic potential. Biotransformation and bioremediation processes can convert these compounds into non-toxic compounds. Acclimatization of bacterial strain *Aquiflexum* sp. DL6 with nitro-aromatics resulted in significant induction of nitroreductase (EC 1.5.1.34). The enzyme was purified by the combination of DEAE-cellulose and Sephadex G-100 column chromatography with 80-fold purification and 22% yield. Molecular weight of purified nitroreductase was estimated to be 29 kDa by SDS-PAGE. The enzyme characteristics were explored by varying the pH and temperatures, and the optimum activity was found at pH 9.5 and 40°C. It was revealed that the substrate specificity of nitroreductase of *Aquiflexum* sp. DL6 was wide for the most of the tested nitro-aromatic compounds. The kinetic parameters like Michaelis constant and velocity maxima were determined with o-nitrophenol and NADH as substrates.

DOI: 10.7868/S0555109913030124

УДК 579.871.08

## МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ [<sup>2</sup>Н]ИНОЗИНА ВЫСОКОГО УРОВНЯ ДЕЙТЕРИРОВАННОСТИ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНОЙ ХЕМОГЕТЕРОТРОФНОЙ БАКТЕРИЕЙ *Bacillus subtilis*

© 2013 г. О. В. Мосин\*, В. И. Швец\*, Д. А. Складнев\*\*, И. Игнатов\*\*\*

\* Московский государственный университет тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, Москва, 117571

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

\*\*Государственный научно-исследовательский центр генетики и селекции промышленных микроорганизмов, Москва, 113545

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

\*\*\*Научно-исследовательский центр медицинской биофизики, София 1111

e-mail: [mbioph@dir.bg](mailto:mbioph@dir.bg)

Поступила в редакцию 11.05.2012 г.

Осуществлен микробиологический синтез <sup>2</sup>Н-меченого пуринового рибонуклеозида инозина (выход 3.9 г/л культуральной жидкости, КЖ) с использованием адаптированного к дейтерию штамма грамположительных хемогетеротрофных бактерий *Bacillus subtilis* в тяжеловодородной среде высокого уровня дейтерированности (99.8 атом. % <sup>2</sup>Н) с 2%-ным гидролизатом

дейтерированной биомассы факультативной метилотрофной бактерии *Brevibacterium methylicum* как источника  $^2\text{H}$ -меченых ростовых субстратов, полученной в минимальной среде М9 с 98%-ной  $^2\text{H}_2\text{O}$  и 2%-ным [ $^2\text{H}$ ]метанолом. Фракционирование инозина из КЖ штамма-производителя производили адсорбцией (десорбцией) на поверхности активированного угля, экстракцией 0.3 М  $\text{TCNH}_4$ -формиатным буфером (рН 8.9) с последующей перекристаллизацией в 80%-ном этаноле и колоночной ИОХ на катионообменнике AG50WX 4, уравновешенном 0.3 М  $\text{NH}_4$ -формиатным буфером с 0.045 М  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . Уровень дейтерированности инозина, исследованный методом масс-спектрометрии с бомбардировкой быстрыми атомами (ББА), составил 5 атомов дейтерия ( $62.5\% \text{ } ^2\text{H}$ ) с включением 3 атомов дейтерия в рибозный и 2 атомов дейтерия в гипоксантиновый фрагменты молекулы.

DOI: 10.7868/S0555109913030136

УДК 579.87:579.222.2:579.252.5:62247

## ДЕСТРУКЦИЯ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ ШТАММОМ *Rhodococcus wratislaviensis* КТ112-7, ВЫДЕЛЕННЫМ ИЗ ОТХОДОВ СОЛЕДОБЫВАЮЩЕГО ПРЕДПРИЯТИЯ

© 2013 г. Д. О. Егорова, Е. С. Корсакова, В. А. Демаков, Е. Г. Плотникова  
Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, 614081  
e-mail: [peg@iegm.ru](mailto:peg@iegm.ru)

Поступила в редакцию 28.06.2012 г.

Исследована деструкция ароматических углеводородов штаммом *Rhodococcus wratislaviensis* КТ112-7, выделенным из техногенно-минеральных образований предприятия БКРУ1 ОАО "Уралкалий" (г. Березники, Пермский край). Показано, что *R. wratislaviensis* КТ112-7 осуществляет утилизацию высоких концентраций о-фталевой кислоты (о-ФК) (8 г/л), бензойной кислоты (БК) (3.4 г/л) и растет на о-ФК, БК, бифениле при содержании NaCl в среде культивирования до 75, 90 и 100 г/л соответственно. На основании анализа метаболического профиля и нуклеотидных последовательностей генов *bphA1*, *benA* и *phtB* установлено, что штамм КТ112-7 осуществляет разложение о-ФК через стадии образования 3,4-дигидроксифталевой и 3,4-дигидроксибензойной кислот, разложение бифенила — через БК и далее, при низких концентрациях NaCl (до 50 г/л) через образование 4-гидроксибензойной кислоты с последующим ее окислением, а при высоких концентрациях NaCl (от 60 г/л) — путем прямого окисления бензойной кислоты до катехола. Полученные данные указывают на перспективность использования штамма-деструктора *Rhodococcus wratislaviensis* КТ112-7 при разработке новых биотехнологий, направленных на утилизацию (трансформацию) ароматических соединений, в том числе в условиях повышенной минерализации.

DOI: 10.7868/S0555109913030070

UDC 576.80

## METAL SOLUBILIZATION FROM POWDERED PRINTED CIRCUIT BOARDS BY MICROBIAL CONSORTIUM FROM BAUXITE AND PYRITE ORES

© 2013 N. N. Adhapure\*, S. S. Waghmare\*\*, V. S. Hamde\*\*\*, and A. M. Deshmukh\*  
\* Department of Microbiology, Dr. Babasaheb Ambedkar Marathwada University, Osmanabad 413 501 (M.S.) India

\*\* Department of Microbiology, Fergusson College, Pune (M.S.) India

\*\*\* Department of Microbiology, Yogeshwari College, Ambajogai, Dist Beed (M.S.) India

e-mail: [adhasurenn@gmail.com](mailto:adhasurenn@gmail.com)

Received June 27, 2012

With the current rapid developments in technology, there is an increasing accumulation of outdated electronic equipment. The primary reason for this increase is the low rate of recycling due to the complex nature of such waste. Bioleaching offers a promising solution for this problem.

Study was conducted on the solubilization of heavy metals from electronic waste (e-waste). For this purpose, a microbial consortium from bauxite and pyrite ore samples was obtained using a simple "top down" approach. Essentially, printed circuit boards (PCB) were obtained and used as representative samples of e-waste. Various concentrations (1—5%) of PCB powder were subjected to bioleaching, and the effects on metal solubilization, changes in pH and concentration of ferrous iron produced were

assessed. It was observed that a maximum of 96.93% Cu and 93.33% Zn was solubilized by microbial consortium from 10 g/l of PCB powder, whereas only 10.26% Ni was solubilized from 30 g/l of PCB powder. For lead, only 0.58% solubilization was achieved from 20 g/l of PCB powder. An analysis of the precipitate formed during bioleaching using scanning electron microscopy with energy dispersive x-ray analysis revealed the presence of Tin (59.96%), Cu (23.97%), Pb (9.30%) and Fe (5.92%)

DOI: 10.7868/S0555109913030033

УДК 577.15

## **ВЫЯВЛЕНИЕ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ ЛИГНОЛИТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ, У ПРИРОДНЫХ ИЗОЛЯТОВ БАЗИДИОМИЦЕТОВ**

© 2013 г. **Е. А. Шевченко, Е. А. Бессолицына, И. В. Дармов**

*Вятский государственный университет, Киров, 610000*

*e-mail: [bess2000@mail.ru](mailto:bess2000@mail.ru)*

*Поступила в редакцию 28.02.2012 г.*

Изучено более 20 видов трутовых грибов, выделенных в лесах Кировской области и не относящихся к классическим продуцентам лигнолитических ферментов, на наличие генов лигнинпероксидазы, лакказы и марганецпероксидазы. Выявлено 15 изолятов 11 видов базидиомицетов, имеющих гены всех трех лигнолитических ферментов. Впервые гены указанных ферментов обнаружены у *D. mollis*, *D. quercina*, *F. pinicola*, *G. trabeum*, *G. lucidum*, *H. fasciculare*, *L. betulina*, *P. betulinus*, *P. igniarius*, *P. pomaceus*, *P. pini*, *P. cinnabarinus*.

DOI: 10.7868/S055510991303015X

УДК 579.222

## **ТРАНСФОРМАЦИЯ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ ВЫСОКООКИСЛЕННОГО БУРОГО УГЛЯ БАЗИДАЛЬНЫМИ ГРИБАМИ *Trametes hirsuta* И *Trametes maxima***

© 2013 г. **О. И. Кляйн\*, Н. А. Куликова\*\*, А. И. Константинов\*\*\*, Т. В. Фёдорова\*, Е. О. Ландесман\*, О. В. Королёва\***

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

*e-mail: [klein\\_olga@list.ru](mailto:klein_olga@list.ru)*

*\*\*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, факультет почвоведения, Москва, 119991*

*\*\*\*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет, Москва, 119991*

*Поступила в редакцию 19.09.2012 г.*

Исследована способность базидальных грибов белой гнили *Trametes hirsuta* и *Trametes maxima* трансформировать гуминовые вещества (ГВ) угля в условиях твердофазного культивирования в присутствии и отсутствие легкодоступного источника углерода (глюкоза). Показано, что в процессе роста выбранных штаммов грибов на средах, содержащих ГВ, одновременно протекают деструктивные и конденсационные процессы трансформации ГВ. На основании сравнительного физико-химического анализа исходных и трансформированных грибами ГВ установлено, что, хотя внесение глюкозы может способствовать более глубокой трансформации ГВ базидиомицетами, общее направление их модификации — преимущественное восстановление или окисление — определяется физиолого-биохимическими особенностями штамма.

DOI: 10.7868/S0555109913030100

## ИММОБИЛИЗАЦИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ШТАММА-ПРОДУЦЕНТА ТЕРМОСТАБИЛЬНОЙ ЛИПАЗЫ ИЗ *Thermomyces lanuginosus* В НАНОУГЛЕРОД-СИЛИКАТНЫЕ МАТРИЦЫ И СВОЙСТВА ПРИГОТОВЛЕННЫХ БИОКАТАЛИЗАТОРОВ

© 2013 г. Г. А. Коваленко<sup>\*,\*\*</sup>, А. Б. Беклемишев<sup>\*\*\*</sup>, Л. В. Перминова<sup>\*</sup>, Т. В. Чуенко<sup>\*</sup>, А. Л. Мамаев<sup>\*\*\*</sup>, И. Д. Иванов<sup>\*\*\*</sup>, С. И. Мосеенков<sup>\*</sup>, В. Л. Кузнецов<sup>\*,\*\*</sup>

<sup>\*</sup> Институт катализа СО РАН, Новосибирск 630090

*e-mail:* [galina@catalysis.ru](mailto:galina@catalysis.ru)

<sup>\*\*</sup> Новосибирский государственный университет

<sup>\*\*\*</sup> Научно-исследовательский институт биохимии СО РАН, Новосибирск 630117

Поступила в редакцию 11.05.2012 г.

Исследованы многокомпонентные композитные биокатализаторы с липолитической активностью, приготовленные путем включения клеток рекомбинантного штамма-производителя термостабильной липазы из *Thermomyces lanuginosus* в SiO<sub>2</sub>-ксерогеле, содержащем нанокремниевый компонент — многослойные углеродные нанотрубки разного диаметра, а также углеродные наносферы луковичной структуры. Изучены свойства липазы как в клеточных суспензиях рекомбинантного штамма-производителя, сконструированного на основе *E. coli* BL21(DE3), так и в иммобилизованном состоянии в зависимости от структуры и дисперсности нанокремниевых компонентов, вводимого в состав биокатализаторов. Показано, что рекомбинантная внутриклеточная липаза проявляла активность в реакции гидролиза трибутирина, равную в среднем 50 Е/мг сухих клеток, и обладала высокой термостабильностью. При прогревании в оливковом масле при 100°C константа инактивации и время полуйнактивации составили, соответственно,  $6 \times 10^{-3}$  мин<sup>-1</sup> и 2 ч, что на порядок превышает термостабильность липазы в буфере. Биокатализаторы с введенными в их состав агрегированными "толстыми" нанотрубками диаметром 20—22 нм проявляли максимальную начальную активность — 250 Е/г.

DOI: 10.7868/S0555109913030112

## ДЕТЕКЦИЯ ПИРЕТРОИДОВ С ПОМОЩЬЮ СПЕКТРАЛЬНО-КОРРЕЛЯЦИОННОЙ ИНТЕРФЕРОМЕТРИИ

© 2013 г. А. Г. Буренин<sup>\*</sup>, М. П. Никитин<sup>\*</sup>, А. В. Орлов<sup>\*</sup>, Т. И. Ксенович<sup>\*\*</sup>, П. И. Никитин<sup>\*\*</sup>

<sup>\*</sup> Московский физико-технический институт (государственный университет), Москва, 117303

*e-mail:* [AGBurenin@gmail.com](mailto:AGBurenin@gmail.com)

<sup>\*\*</sup> Институт общей физики им. А.М. Прохорова, Москва, 119991

Поступила в редакцию 7.09.2012 г.

Разработан безмаркерный метод на основе спектрально-корреляционной интерферометрии для высокочувствительной детекции пиретроидов с помощью конкурентного иммуноанализа на поверхности сенсорных чипов, в качестве которых используются широкодоступные микроскопные покровные стекла. Показано, что данный метод позволяет независимо оптимизировать каждую стадию модификации сенсорной поверхности, что может применяться для повышения эффективности разработки протоколов широкого круга иммуноанализов, использующих стеклянную поверхность в качестве твердой фазы. С помощью предложенного метода продемонстрирована регистрация на поверхности оптимизированных сенсорных чипов одного из наиболее стабильных метаболитов целого ряда пиретроидов — 3-феноксibenзойной кислоты — на уровне 15 пг/мл, что в 50 раз лучше чувствительности иммуноферментного анализа.

DOI: 10.7868/S0555109913030057

## **ТРОМБОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ГЛЮКОЗОСОДЕРЖАЩИХ ГИДРОГЕЛЕЙ**

© 2013 г. **И. Л. Валуев\***, **Л. И. Валуев\***, **Л. В. Ванчугова\***, **И. В. Обыденнова\***, **Т. А. Валуева\*\***

\* *Институт нефтехимического синтеза им. А. В. Топчиева РАН, Москва, 119991, e-mail: [valuev@ips.ac.ru](mailto:valuev@ips.ac.ru)*

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

Поступила в редакцию 10.09.2012 г.

Изучена тромборезистентность глюкозочувствительных полимерных гидрогелей, моделирующих одну из функций поджелудочной железы, а именно способность выделять инсулин в ответ на появление глюкозы в окружающей среде. Гидрогели синтезировали сополимеризацией гидроксиэтилметакрилата с N-акрилоилглюкозамином в присутствии сшивающего агента с последующей обработкой конканавалином А. Показано, что введение в состав гидрогеля остатков глюкозы не приводило к существенному изменению количества адгезированных гидрогелем тромбоцитов и степени денатурации взаимодействующих с гидрогелем белков плазмы крови. Следствием чего была неизменность биологической активности инсулина после выделения из гидрогеля. Высказано предположение, что применение глюкозочувствительных гидрогелей позволит разработать новую стратегию лечения сахарного диабета.

DOI: 10.7868/S0555109913030161