

## MICROBIAL BIOTRANSFORMATION: A TOOL FOR DRUG DESIGNING (REVIEW)

© 2013 I. Pervaiz\*, S. Ahmad\*\*, M. A. Madni\*\*, H. Ahmad\*\*, and F. H. Khaliq\*\*

\* Department of Pharmaceutical Sciences, COMSATS Institute of Information Technology, Abbottabad 22060, Pakistan

\*\* Faculty of Pharmacy and Alternative Medicine, Islamia University of Bahawalpur; Bahawalpur 63100, Pakistan

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

Received November 26, 2012

For centuries microbial biotransformation has proved to be an imperative tool in alleviating the production of various chemicals used in food, pharmaceutical, agrochemical and other industries. In the field of pharmaceutical research and development, biotransformation studies have been extensively applied to investigate the metabolism of compounds (leads, lead candidates, etc.) using animal models. The microbial biotransformation phenomenon is then commonly employed in comparing metabolic pathways of drugs and scaling up the metabolites of interest discovered in these animal models for further pharmacological and toxicological evaluation. Microorganisms can conveniently afford drugs difficult obtained via synthesis. The plethora of reported microbial biotransformations along with its added benefits has already invoked further research in bio-conversion of novel and structurally complex drugs. This review alternatively discusses the prospect of microbial biotransformation studies as a significant element ameliorating drug discovery and design in terms of cost-effectiveness, environment protection and greater structural diversity as compared to animal models used to study metabolism. To explicate the microbial biotransformation paradigm in drug designing 3 main areas in this aspect have been analyzed: 1 — lead expansion: obtaining pharmacologically improved metabolites from bioactive molecules; 2 — biosynthesis of precursors/intermediates involved in the production of bioactive molecules; 3 — resolution of racemic mixture to obtain enantiomers possessing different pharmacological profiles.

DOI: 10.7868/S0555109913050097

## ЛЕКТИНСВЯЗЫВАЮЩИЙ АНАЛИЗ УГЛЕВОДНОГО СОСТАВА ЭКЗОПОЛИМЕРНОГО МАТРИКСА БИОПЛЕНКИ КОРРОЗИОННО-АГРЕССИВНЫХ БАКТЕРИЙ

© 2013 г. Л. М. Пуриш, Л. Г. Асауленко, Д. Р. Абдулина, С. И. Войчук, Г. А. Путинская

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

e-mail: [purish@serv.imv.kiev.ua](mailto:purish@serv.imv.kiev.ua)

Поступила в редакцию 15.11.2012 г.

Методом трансмиссионной электронной микроскопии исследованы углеводные компоненты биопленок коррозионно-агрессивных бактерий с использованием лектинов, меченных коллоидным золотом. В составе экзополимеров выявлены аминоксахара — N-ацетил-D-глюкозамин, N-ацетил-D-галактозамин и нейтральные углеводы D-глюкоза и D-манноза. Установлено, что лектины с одинаковой углеводной специфичностью в разной степени взаимодействовали с углеводными компонентами биопленок бактерий. Показано, что для выявления N-ацетил-D-галактозамина в биопленке *Desulfovibrio* sp. 10 и *Bacillus subtilis* 36 наиболее специфичен лектин LBA, а для N-ацетил- D-глюкозамина в биопленке *B. subtilis* 36 и *Pseudomonas aeruginosa* 27 — WGA. Для визуализации нейтральных углеводов в исследуемых культурах наиболее специфичен лектин PSA. Доказано, что лектины, меченные коллоидным золотом, можно применять как экспресс метод для выявления и локализации углеводов в составе гликополимеров экзополимерного матрикса биопленок.

DOI: 10.7868/S0555109913050103

## ВЛИЯНИЕ АМИНОКИСЛОТНЫХ ЗАМЕН В МОЛЕКУЛЕ β-ГЛЮКОЗИДАЗЫ ИЗ *Thermotoga maritime* НА ГИДРОЛИЗ ИЗОФЛАВОНОВЫХ ГЛИКОЗИДОВ СОИ, СТАБИЛЬНОСТЬ И КАТАЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

© 2013 г. Ю. Хие\*, С. Сонг\*\*, Х. Сун\*\*, З. Цао\*\*\*

\*Департамент науки продовольствия и питания, колледжа Гин-Лин, Университет Нанкина,  
Нанкин, Китай 210097

\*\*Колледж наук о жизни, Университет Нанкина, Нанкин, КНР 210023

\*\*\*Медицинский университет Нанкина, Первая больница, Нанкин, КНР 210006

e-mail: [caozhigang11@sina.com](mailto:caozhigang11@sina.com); [xueyemin@njnu.edu.cn](mailto:xueyemin@njnu.edu.cn)

Поступила в редакцию 15.10.2013 г.

Термостабильная β-глюкозидаза (TmBglA) из *Thermotoga maritime* — перспективный биокатализатор для получения изофлавоновых агликонов. Для эффективного гидролиза соевых изофлавоновых конъюгатов необходим поиск ферментов с высокой специфичностью к природным субстратам. Изучено влияние аминокислот, расположенных в агликонсвязывающем кармане с неконсервативными остатками специфичных групп фермента, принадлежащего семейству 1 гликозидгидролаз (GH1), с использованием TmBglA (дикого типа) из *T. maritime* и трех мутантных, в которых были произведены замены аминокислот — M1-TmBglA, M2-TmBglA и MIM2-TmBglA. Три мутантных белка были экспрессированы в *Escherichia coli*, выделены и охарактеризованы. Мутации привели к сдвигам в значениях оптимальной температуры, термостабильности, сужению кривой pH-зависимости в результате удаления ионизированной боковой цепи. Все мутации снижали эффективность катализа, по отношению к природным субстратам, таким как гликозид салицина, по сравнению с синтетическим *p*-нитрофенил-β-D-глюкопиранозидом. Это свидетельствует о том, что замененные аминокислоты являются ключевыми, определяющими специфичность к агликону. Меньшая степень гидролиза генистеина и даидзеина ферментом M2-TmBglA, по сравнению с M1-TmBglA, свидетельствовала в пользу того, что остатки L400, A407 и E408 в TmBglA в большей степени необходимы для проявления каталитической активности и связывания соевого изофлавонового гликозида, чем V170, A171, V173, G174, H180.

DOI: 10.7868/S0555109913050152

## ВЫДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА СОЕДИНЕНИЙ С АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТЬЮ ИЗ НОВОГО ПОЧВЕННОГО ИЗОЛЯТА *Streptomyces rimosus* МТСС 10792

© 2013 г. Н. Сингх\*, В. Рай\*, С. Трипати\*\*

\*Лаборатория биохимии и микробиологии школы естественных наук университета г. Шукла, Райпур,  
Пт. Равишанкар 492010, Индия

\*\*Кафедра технологии ферментации Центрального научно-исследовательского института лекарств,  
Лакхнау, 226 001, Индия

e-mail: [nevi0007@gmail.com](mailto:nevi0007@gmail.com)

Поступила в редакцию 29.10.2012 г.

Идентифицирован новый штамм *Streptomyces* sp., выделенный из почвы штата Чхаттисгарх (Индия), имеющий широкий спектр антибактериальной и противогрибковой активности. На основании исследования физиолого-биохимических свойств и последовательности 16S рРНК выделенный активный штамм был отнесен к *Streptomyces rimosus* subsp. *rimosus* (10792 МТСС). Антимикробная активность соединений, выделенных из *S. rimosus*, изучена по отношению к резистентным к антибиотикам патогенным бактериям по методу Бауэра и Кирби. Активные метаболиты экстрагировали из культуральной жидкости *n*-бутанолом и проводили очистку методом хроматографии на силикагеле и ВЭЖХ. Охарактеризованы физико-химические свойства одного из выделенных соединений: цвет, температура плавления, растворимость, исследован элементный анализ, проведены химические реакции, на наличие химических групп, проанализированы данные масс-спектрометрии (ESI-МС), ИК- и УФ-спектроскопии, <sup>1</sup>H-ЯМР, <sup>13</sup>C-ЯМР. Очищенное противомикробное соединение, синтезируемое *S. rimosus* МТСС 10792, в концентрации 25 мкг/мл обладало противотуберкулезной активностью по отношению к *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Mycobacterium tuberculosis* H37R, а также антимикробной активностью в отношении всех протестированных бактериальных и грибов патогенов.

DOI: 10.7868/S0555109913050115

УДК 547.913

## ДЕЙСТВИЕ МАСЕЛ КОРИЦЫ И ЛАВАНДЫ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНА *FtsZ Staphylococcus aureus ATCC 29213*

© 2013 г. А. Герман\*, Ж. Боченек\*\*, А. П. Герман\*\*

\* Академия косметики и здравоохранения, 00-252 Варшава, Польша

\*\*Институт физиологии животных и питания им. Келановского, Польская академия наук, лаборатория молекулярной биологии, 05-110 Яблоня, Польша

e-mail: [anna.herman@wszkipz.pl](mailto:anna.herman@wszkipz.pl)

Поступила в редакцию 25.10.2012 г.

Показано влияние масел лаванды и корицы на экспрессию гена *FtsZ* у штамма *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. Эти масла частично ингибировали транскрипцию *FtsZ*, что приводило к нарушению клеточного деления на уровне формирования септы. Механизм действия масел аналогичен механизму действия лекарственных препаратов, применяемых в терапии стафилококковых инфекций. Представленные результаты могут быть основой дальнейших более детальных исследований влияния эфирных масел корицы и лаванды на синтез белков *FtsZ* на посттранскрипционном уровне и других стадиях клеточного деления как у *S. aureus*, так и других патогенных бактерий.

DOI: 10.7868/S0555109913050048

УДК 576.809.5

## ЛИПИДНЫЙ СОСТАВ АКТИВНОГО ИЛА ПИЛОТНОЙ УСТАНОВКИ АНАЭРОБНОГО ОКИСЛЕНИЯ АММОНИЯ

© 2013 г. М. Н. Козлов, М. В. Кевбрина, А. Г. Дорофеев, Е. А. Казакова, В. А. Грачёв,  
Д. Ю. Поляков, В. Г. Асеева, Ю. А. Николаев

ОАО "Мосводоканал", Москва

Поступила в редакцию 12.02.2013 г.

Исследован липидный состав микробного сообщества активного ила пилотного реактора, осуществляющего анаэробное окисление аммония (процесс анаммокс) на Курьяновских очистных сооружениях (г. Москва). Основная часть жирнокислотного состава (95%) представлена традиционными жирными кислотами  $C_{14}$ — $C_{18}$  как нормального, так и изостроения. В биомассе активного ила установлено наличие липидов, содержащих т.н. ладдерановые вещества ("лестничные" спирты и жирные кислоты), характерные для анаммокс-бактерий:  $C_{20}$ -[3]-ладдерановый и  $C_{20}$ -[5]-ладдерановый спирты,  $C_{18}$ - и  $C_{20}$ -[3]-ладдерановая и  $C_{18}$ - и  $C_{20}$ -[5]-ладдерановые кислоты. Кроме того, в нативном (негидролизованном) экстракте обнаружены простые и сложные эфиры этих веществ с остатками фосфохолина, фосфоэтаноламина, фосфоглицерина. Для некоторых соединений получены и публикуются впервые спектры электронного удара и тандемной масс-спектрометрии.

DOI: 10.7868/S0555109913050061

УДК 3.152.34.042

## СЕЛЕКЦИЯ СООБЩЕСТВА АЦИДОХЕМОЛИТОТРОФНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ С ВЫСОКОЙ СКОРОСТЬЮ БИООКИСЛЕНИЯ ФЛОТОКОНЦЕНТРАТА ПИРРОТИНСОДЕРЖАЩЕЙ СУЛЬФИДНОЙ РУДЫ

© 2013 г. Т. Ф. Кондратьева\*, Т. А. Пивоварова\*, А. Г. Булаев\*, П. В. Мощанецкий\*,  
И. А. Цаплина\*, Н. В. Григорьева\*, А. Е. Журавлёва\*, В. С. Меламуд\*, А. В. Белый\*\*

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

\*\*ЗАО "Полюс", Красноярский край, 663280

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

Поступил а в редакцию 12.02.2013 г.

Селекционировано сообщество микроорганизмов с высокой скоростью окисления флотоконцентрата пирротинсодержащей сульфидной руды, в составе которого в качестве доминирующих культур были идентифицированы *Acidithiobacillus caldus* ОГТ-1 и *Ferroplasma acidiphilum* ОП-2. Отмечено также

присутствие культур *Acidithiobacillus ferrooxidans* ОП-3, *Leptospirillum ferriphilum* ОП-4 и *Sulfo- bacillus thermosulfidooxidans* ОП-5. Результаты анализа твердых остатков процесса показали большую степень окисления элементарной серы и извлечения золота (90.5%) при поддержании исходного значения pH в реакторе I на уровне 1.8—2.0, чем на уровне 1.6—1.8 (86.3%).

DOI: 10.7868/S055510991305005X

УДК 4.152.34.042

## NOVEL MUTATIONS IN $\beta$ -TUBULIN GENE IN *Trichoderma harzianum* MUTANTS RESISTANT TO METHYL BENZIMIDAZOL-2-YL CARBAMATE

© 2013 M. Li<sup>\*,\*\*</sup>, H. Y. Zhang<sup>\*,\*\*\*</sup>, and B. Liang<sup>\*\*</sup>

\* *Fundamental Science on Radioactive Geology and Exploration Technology Laboratory; East China Institute of Technology, NanChang, Jiangxi, 330013, China*

\*\* *Faculty of Chemistry Biology and Material Sciences, East China Institute of Technology, Fuzhou 344000, China*

\*\*\**College of Life Science, Henan University, Kaifeng 475001, China*

e-mail: [limin\\_hit@yahoo.com.cn](mailto:limin_hit@yahoo.com.cn), [muzibug@yahoo.com.cn](mailto:muzibug@yahoo.com.cn), [hypolb@ecit.cn](mailto:hypolb@ecit.cn)

Received December 4, 2012

Twelve low resistant (LR) mutants of *Trichoderma harzianum* with the capability of grow fast at 0.8  $\mu\text{g/mL}$  methyl benzimidazol-2-yl carbamate (MBC) were obtained using UV mutagenesis. MR and HR mutants which could grow fast at 10 and 100  $\mu\text{g/mL}$  MBC, respectively, were isolated by step-up selection protocols in which UV-treated mutants were induced and mycelial sector screening was made in plates with growth medium. Subsequently,  $\beta$ -tubulin genes of 14 mutants were cloned to describe the molecular lesion likely to be responsible for MBC resistance. Comparison of the  $\beta$ -tubulin sequences of the mutant and sensitive strains of *T. harzianum* revealed 2 new MBC-binding sites differed from those in other plant pathogens. A single mutation at amino acid 168, having Phe (TTC) instead of Ser (TCC), was demonstrated for the HR mutant; a double mutation in amino acid 13 resulting in the substitution of Gly (GGC) by Val (GTG) was observed in  $\beta$ -tubulin gene of MR mutant. On the other hand, no substitutions were identified in the  $\beta$ -tubulin gene and its 5'-flanking regions in 12 LR mutants of *T. harzianum*.

DOI: 10.7868/S0555109913050085

УДК 4.152.34.042

## ГЕТЕРОЛОГИЧНАЯ ЭКСТРАЦЕЛЛЮЛЯРНАЯ ЭКСПРЕССИЯ И ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕРОКСИСОМАЛЬНОЙ КАТАЛАЗЫ ИЗ МЕТИЛОТРОФНЫХ ДРОЖЖЕЙ *Hansenula polymorpha*

© 2013 г. Я.-С. Тянь, Х. Сюй, Дж. Сюй, Р.-Х. Пенг, К.-Х. Яо

*Биотехнологический научно-исследовательский институт, главная лаборатория сельскохозяйственной генетики и селекции Академии сельскохозяйственных наук, Шанхай, 201106, Китай*

e-mail: [yaoquanhongsh@yahoo.com.cn](mailto:yaoquanhongsh@yahoo.com.cn)

Поступила в редакцию 24.09.2012 г.

Каталаза расщепляет  $\text{H}_2\text{O}_2$  в клетках и снижает токсичность перекисных соединений. Ген каталазы *HpCAT1* из метилотрофных дрожжей *Hansenula polymorpha* за исключением части, кодирующей сигнальный пептид, был клонирован в экспрессирующий вектор pYM3165 и методом электропорации встроен в геном *Pichia pastoris* GS115. В результате анализа активности фермента и электрофореза в ПААГ с Na-ДДС было показано, что рекомбинантный белок (*HpCAT1*) из *H. polymorpha* экспрессировался в *P. pastoris*. Внеклеточную каталазу *P. pastoris* GS115 выделяли из супернатанта культуры, осаждали высаливанием  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  и проводили аффинную хроматографию на Ni-NTA. Исследованы основные биохимические свойства рекомбинантного белка *HpCAT1*, температурный и pH-оптимумы, термостабильность, pH-стабильность, а также чувствительность к ионам металлов и химическим веществам. При использовании  $\text{H}_2\text{O}_2$  в качестве субстрата *HpCAT1* оптимальные значения pH и температуры были  $\sim 2.6$  и  $45^\circ\text{C}$ , соответственно. Активность рекомбинантного белка ингибировалась в присутствии 1.0 мМ  $\text{Hg}^{2+}$  и  $\text{Cu}^{2+}$  и возрастала в присутствии 1 мМ  $\text{Fe}^{2+}$ .

DOI: 10.7868/S0555109913050140

## СЕКРЕЦИЯ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ ТРЕМЯ ФИТОПАТОГЕННЫМИ МИКРООГАНИЗМАМИ

© 2013 г. Н. Н. Кудрявцева, А. В. Софьин, Т. А. Ревина, Е. Л. Гвоздева,  
Е. В. Иевлева, Т. А. Валуева

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

e-mail: [valueva@inbi.ras.ru](mailto:valueva@inbi.ras.ru)

Поступила в редакцию 20.02.2013 г.

Изучены сериновые протеиназы, продуцируемые тремя фитопатогенными микроорганизмами, принадлежащими к различным семействам грибов и поражающими растения картофеля. Показано, что оомицет *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary и грибы *Rhizoctonia solani* и *Fusarium culmorum* секретируют сериновые протеиназы. Анализ субстратной специфичности и чувствительности к действию синтетических и белковых ингибиторов позволил отнести их к трипсино- и субтилизиноподобным ферментам. Соотношение трипсиноподобных и субтилизиноподобных протеиназ зависело от состава культуральной среды, особенно от формы азотного питания. Филогенетический анализ показал, что, в отличие от базидиомицета *R. solani*, аскомицет *F. culmorum* и оомицет *P. infestans* продуцируют сходные по составу экзопроотеиназы, несмотря на то что они являются более дальними родственниками. Это указывает на то, что секреция сериновых протеиназ различными фитопатогенными микроорганизмами зависит не только от условий окружающей среды, но и их филогенетического положения. Полученные данные позволяют предположить, что экзопроотеиназы фитопатогенных грибов играют различную роль в патогенезе. С одной стороны, они могут способствовать адаптации гриба при увеличении диапазона растений-хозяев, а с другой — выполнять различные функции при его выживании в экологических местах обитания вне растения-хозяина.

DOI: 10.7868/S0555109913050073

## ОСОБЕННОСТИ НАКОПЛЕНИЯ МИКОТОКСИНОВ В ЛИШАЙНИКАХ

© 2013 г. А. А. Буркин, Г. П. Кононенко

Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии,  
гигиены и экологии РАСХН, Москва, 123022

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

Поступила в редакцию 18.03.2013 г.

С помощью иммуноферментного анализа дана характеристика встречаемости и частоты накопления микотоксинов в лишайниках, принадлежащих к 20 родам семейств Cladoniaceae, Nephromataceae, Parmeliaceae, Peltigeraceae, Teloschistaceae и Umbilicariaceae. Во всех родах, кроме *Peltigera*, могут регулярно обнаруживаться альтернариол, стеригматоцистин, микофеноловая кислота, цитринин, циклопиазоновая кислота и эмодин с содержанием более 1000 нг/г, т.е. 0.0001%. Обсуждается необходимость контроля безопасности препаратов на основе экстрактивных веществ лишайников.

DOI: 10.7868/S0555109913050036

## МЕТОД АНАЛИЗА L-АРГИНИНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АРГИНАЗЫ I ©

2013 г. Н. Е. Стасюк\*, Г. З. Гайда\*, М. В. Гончар\*,\*\*

\* Институт биологии клетки НАН Украины, Львов, 79005

\*\*Жешувский университет, 36-100 Кольбушова, Польша

e-mail: [galina\\_gayda@yahoo.com](mailto:galina_gayda@yahoo.com)

Поступила в редакцию 21.02.2013 г.

Разработан высокоселективный и чувствительный метод количественного определения L-аргинина (Arg) с флуоресцентной детекцией продукта реакции. Метод основан на использовании аргиназы I печени человека, выделенной из рекомбинантного штамма-продуцента — дрожжей *Hansenula polymorpha*, и 2,3-бутандионмонооксида в качестве реагента на мочевины — продукт ферментативной реакции. Линейный диапазон концентраций определения Arg в конечной реакционной смеси — от 0.2 до 250 мкМ, предел детекции — 0.16 мкМ. Апробация нового метода на образцах коммерческих фармацевтических препаратов, содержащих Arg, продемонстрировала высокую корреляцию результатов ( $R = 1.0$ ) с данными производителя и результатами других методов определения Arg.

DOI: 10.7868/S0555109913050139