

СИСТЕМЫ ТОКСИН—АНТИТОКСИН БАКТЕРИЙ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В МЕДИЦИНЕ (ОБЗОР)

© 2013 г. О. И. Демидёнок, А. В. Гончаренко

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

e-mail: demidenoksana@gmail.com

Поступило в редакцию 19.12.2012 г.

В обзоре рассматриваются структуры различных токсин-антитоксиновых (ТА) семейств и принципы их функционирования. ТА локусы имеют широкое распространение в геномах эубактерий и архей. Большинство ТА систем двухкомпонентны, принцип работы у всех ТА систем похож и заключается в нарушении стабильным токсином важнейших клеточных функций и его инактивации лабильным антитоксином.

DOI: 10.7868/S055510991306007X

ОЧИСТКА РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ ResD-ResE *Bacillus cereus*, ЭКСПРЕССИРОВАННЫХ В ШТАММАХ *Escherichia coli*

© 2013 г. Е. В. Шапырина*, А. М. Шадрин**, А. С. Солонин*

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

* Лондонский королевский колледж, SW72AZ

e-mail: evshapyrina@gmail.com

Поступила в редакцию 14.05.2013 г.

Сконструированы рекомбинантные штаммы *E. coli*, экспрессирующие гены *resD* и *resE* *Bacillus cereus* ATC C 14579^T, слитые с геном убиквитина, проведена очистка белков ResD и ResE, кодируемых этими генами. Использованный подход позволил впервые получить электрофоретически гомогенные препараты этих белков, минуя стадии очистки в денатурирующих условиях. Простота разработанного метода позволила использовать его для выделения и последующего скрининга мутантных вариантов ResD и ResE с высокой производительностью. Выход рекомбинантных белков составил 150 мг/г сырой массы клеток.

DOI: 10.7868/S0555109913060160

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ЧЕТВЕРТИЧНОЙ СТРУКТУРЫ G17ACA-АЦИЛАЗЫ БАКТЕРИИ *Brevundimonas diminuta*, ПОЛУЧЕНИЕ БОЛЕЕ СТАБИЛЬНЫХ АНАЛОГОВ ФЕРМЕНТА

© 2013 г. С. А. Закирова*, Т. В. Михайлова**, М. А. Эльдаров*,***

* Биологический факультет, Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова, 119899

** Факультет биоинженерии и биоинформатики, Московский Государственный Университет им. М. В. Ломоносова, 119899

*** Центр "Биоинженерия" РАН, 117312

e-mail: eldarovl@yandex.ru

Поступила в редакцию 11.01.2013 г.

Исследованы физико-химические и энзиматические характеристики гибридных аналогов 017ACA-ацилазы бактерии *Brevundimonas diminuta* (BrdGLA), содержащих N-концевой хитинсвязывающий домен бактериальной хитиназы (BrdGLA/NmChBD), либо C-концевую олигогистидиновую последовательность (BrdGLA/H). Повышенная термостабильность BrdGLA/NmChBD может указывать на стабилизирующее влияние хитинсвязывающего домена. Исследование профилей зависимости энзиматической активности рекомбинантных аналогов BrdGLA от pH не выявило значительных различий: каталитическая активность обоих вариантов мало менялась в интервале pH 6.0—9.0 и резко снижалась при более низких значениях pH. Оба аналога обладали и сходным характером чувствительности к действию денатурирующих агентов, подвергаясь полной инактивации в присутствии 2.0 М гуанидин-хлорида. Разработана система получения изолированных рекомбинантных α- и β-субъединиц BrdGLA. В опытах *in vitro* по реконструкции фермента показано, что присутствие α-субъединицы необходимо для формирования правильной пространственной структуры β-субъединицы и образования функционально-активного фермента.

DOI: 10.7868/S0555109913060184

ВЫЩЕЛАЧИВАНИЕ ЦВЕТНЫХ МЕТАЛЛОВ ИЗ МЕДЕПЛАВИЛЬНОГО ШЛАКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АЦИДОФИЛЬНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

© 2013 г. М. И. Муравьев, Н. В. Фомченко

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

e-mail: mxmuravyov@gmail.com

Поступила в редакцию 12.03.2013 г.

Исследован процесс выщелачивания меди и цинка из медеплавильного конвертерного шлака сернокислыми растворами сульфата трехвалентного железа, полученными с использованием ассоциации ацидофильных хемолитотрофных микроорганизмов. Выбраны лучшие параметры химического выщелачивания: температура 70°C, начальная концентрация трехвалентного железа в выщелачивающем растворе 10.1 г/л, содержание твердой фазы в суспензии 10%. Проведение процесса при указанных параметрах обеспечивало извлечения меди в раствор 89.4, цинка — 39.3%. Показана возможность биорегенерации трехвалентного железа в растворе, полученного после химического выщелачивания шлака, железоокисляющими ацидофильными хемолитотрофными микроорганизмами без ингибирования их активности.

DOI: 10.7868/S0555109913060135

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЛИГНОЛИТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ, ПРИНАДЛЕЖАЩИХ К РАЗЛИЧНЫМ ТАКСОНОМИЧЕСКИМ И ЭКОЛОГИЧЕСКИМ ГРУППАМ

© 2013 г. Т. В. Фёдорова*, Н. В. Шахова**, О. И. Кляйн*, О. А. Глазунова*, Л. Г. Малошенок*, Н. А. Куликова***, Н. В. Псурцева**, О. В. Королёва*

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

e-mail: fedorova_tv@mail.ru

** Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, 197376

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

Поступила в редакцию 7.06.2013 г.

Проведен скрининг лигнолитической активности грибов-базидиомицетов из Коллекции культур Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН (LE-BIN), принадлежащих к различным таксономическим и экологическим группам. Выявлены закономерности расположения таксонов активных продуцентов лигнолитических ферментов в современной системе грибов. В результате проведенного кластерного анализа показано, что в группу грибов, обладающих наибольшим лигнолитическим и деградационным потенциалом, входят представители семейств Pleurotaceae, Polyporaceae и Phanerochaetaceae, которые осуществляют первые стадии разложения древесины. В результате были отобраны виды, представляющие интерес для дальнейшего исследования их окислительного потенциала и использования в биотехнологии.

DOI: 10.7868/S0555109913060081

ОБРАЗОВАНИЕ МИКРОМИЦЕТОМ *Aspergillus ochraceus* ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ПРОТЕИНАЗ - АКТИВАТОРОВ ПРОТЕИНА С ПЛАЗМЫ КРОВИ ПРИ ГЛУБИННОМ И ТВЕРДОФАЗНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ

© 2013 г. А. А. Осмоловский*, В. Г. Крейер*, Н. А. Баранова*, А. В. Кураков*, Н. С. Егоров**

* Биологический факультет Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова, Москва, 119991

** Международный биотехнологический центр Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Москва, 119991

e-mail: aosmol@mail.ru

Поступила в редакцию 30.05.2013 г.

Проведена оптимизация условий глубинного и твердофазного культивирования микромицета *Aspergillus ochraceus* ВКМ F-4104D — продуцента внеклеточных протеиназ — активаторов протеина С плазмы крови человека. Показано, что в условиях твердофазного культивирования активаторная к

протеину С активность микроцита в 1.5—3.5 раза выше по сравнению с глубинным культивированием из расчета на 1 мл питательной среды. Среди внеклеточных белков, секретируемых *A.ochraceus* ВКМ F-4104D при глубинном и твердофазном культивировании обнаружена активирующая протеин С протеиназа с рI 6.0—6.3.

DOI: 10.7868/S0555109913060147

UDC 631.445.41

ANTIOXIDANT PROPERTIES OF FUNGAL METABOLITE NIGERLOXIN *IN VITRO*

© 2013 B. S. Suresha and K. Srinivasan

Department of Biochemistry and Nutrition, Central Food Technological Research Institute, CSIR, Mysore — 570 020, India

e-mail: sri.cftri@gmail.com

Received November 26, 2012

We have recently reported the beneficial influence of the fungal metabolite nigerloxin, a new aldose reductase inhibitor and a lipoxygenase inhibitor on oxidative stress in streptozotocin induced diabetic rats. In the present study we have investigated the antioxidant potential of nigerloxin *in vitro* as compared to one of the well known natural antioxidant, curcumin. The fungal metabolite nigerloxin was found to be an effective antioxidant in different *in vitro* assays including the phosphomolybdenum, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH *), 2,2'-azino- bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS*) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) methods. The antioxidant potency of nigerloxin may be attributed to its electron donating nature. The ferric reducing potency of nigerloxin as demonstrated by FRAP assay method was even found to be superior to that of the natural antioxidant curcumin.

DOI: 10.7868/S0555109913060172

UDC 631.445.41

PURIFICATION AND CHARACTERIZATION OF LACCASE SECRETED BY *Phellinus linteus* MTCC-1175 AND ITS ROLE IN THE SELECTIVE OXIDATION OF AROMATIC METHYL GROUP

© 2013 P. K. Chaurasia, A. Yadav, R. S. S. Yadav and S. Yadava

Department of Chemistry, D.D.U. Gorakhpur University, Gorakhpur 273009, Uttar- Pradesh, India

e-mail: rissy_chemistry@rediffmail.com

Received November 26, 2012

A laccase from the culture filtrate of *Phellinus linteus* MTCC-1175 has been purified to homogeneity. The method involved concentration of the culture filtrate by ammonium sulphate precipitation and an anion exchange chromatography on DEAE-cellulose. The SDS-PAGE and native-PAGE gave single protein band indicating that the enzyme preparation was pure. The molecular mass of the enzyme determined from SDS-PAGE analysis was 70 kDa. Using 2,6-dimethoxyphenol, 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) diammonium salt (ABTS) and 4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzaldehyde azine as the substrates, the K_m , k_{cat} and k_{cat}/K_m values of the laccase were found to be 160 μ M, 6.85 s^{-1} , $4.28 \times 10^4 M^{-1} s^{-1}$, 42 μ M, 6.85 s^{-1} , $16.3 \times 10^4 M^{-1} s^{-1}$ and 92 μ M, 6.85 s^{-1} , $7.44 \times 10^4 M^{-1} s^{-1}$, respectively. The pH and the temperature optima of the *P. linteus* MTCC- 1175 laccase were 5.0 and 45°C, respectively. The activation energy for thermal denaturation of the enzyme was 38.20 kJ/mole/K. The enzyme was the most stable at pH 5.0 after 1 h reaction. In the presence of ABTS as the mediator, the enzyme transformed toluene, 3-nitrotoluene and 4-chlorotoluene to benzaldehyde, 3-nitrobenzaldehyde and 4-chlorobenzaldehyde, respectively.

DOI: 10.7868/S0555109913060068

DETERMINATION OF HYDRATION PROPERTIES AND THERMAL BEHAVIOR OF *Paecilomyces variotii* BY DIFFERENTIAL SCANNING CALORIMETRY

© 2013 R. S. Canel^{*,**}, V. Ludemann^{*}, O. De la Osa^{*} and J. R. Wagner^{*,**}

^{*} National University of Quilmes, Buenos Aires, 1876 Argentina

^{**} National Scientific and Research Council, Buenos Aires, 1033 Argentina

e-mail: rcanel@unq.edu.ar

Received November 20, 2012

Due to the structure and the composition of *Paecilomyces variotii*, the mycelia of this fungus could have potential applications as ingredients in wettable foods. For this use, drying could be employed, justifying the study of thermal behavior of *P. variotii*. The objectives of this work were to perform a study of thermal behavior of *P. variotii* isolates, to evaluate the hydration properties of these mycelia and to analyze the effect of different technological parameters on the latter properties. Wet cultures exhibited a wide endothermic transition, with mean values of peak temperature of 61°C and denaturation enthalpy of 4 J/g dry matter. Initial (50°C) and final (80°C) temperatures of the endothermic transition were used to dry the mycelia. Freeze-drying was also assayed. For all dried mycelia, a decrease in denaturation enthalpy between 40 and 50% was observed for drying at 50°C and freeze-drying, and a drastic decrease of almost 100% for drying at 80°C. According to the hydration properties, wet mycelia exhibited water holding capacity (WHC) value of 45 g water/g dry matter. Significant differences among dried mycelia, resulting WHC values in order: 50°C > freeze-dried > 80°C ($p < 0.05$) were revealed for each *P. variotii* strain. Fungi obtained by drying at 50°C and by freeze-drying, showed a rapid water absorption ($t_{1/2} < 0.1$ min). Ionic strength, pH and particle size of dried mycelia influenced the hydration properties.

DOI: 10.7868/S0555109913060044

УДК 543.645:57.083.3

РАЗРАБОТКА ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА ЧЕЛОВЕКА

© 2013 г. Н. А. Бызова^{*}, Л. Н. Лухверчик^{**}, А. В. Жердев^{*}, Н. В. Пивень^{**},
А. И. Бураковский^{**}, Б. Б. Дзантиев^{*}

^{*} Институт биохимии им. А. И. Баха РАН, Москва, 119071, e-mail: nbyzova@inbi.ras.ru

^{**} Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, 220141, Беларусь, e-mail: piven@iboch.bas-net.by

Поступила в редакцию 15.04.2013 г.

Разработан метод экспрессной детекции эпидермального фактора роста человека, представляющий собой иммунохроматографический анализ в "сэндвич"-формате. Контакт пробы и тест-полоски с нанесенными иммунореагентами инициирует движение жидкости по мембранным компонентам тест-полоски, иммунохимические взаимодействия и формирование окрашенных зон. В ходе разработки определены требования к комплектации тест-системы, обеспечивающие минимальный предел обнаружения. Показано, что данный метод позволяет за 5 мин детектировать эпидермальный фактор роста человека в концентрациях до 10 пг/мл в водных растворах, моче, сыворотке и плазме крови. Разработанная тест-система может быть использована для внелабораторной диагностики.

DOI: 10.7868/S0555109913060032

УДК 543.9:579.6+543.55

СВОЙСТВА МОДИФИЦИРОВАННЫХ АМПЕРОМЕТРИЧЕСКИХ БИОСЕНСОРОВ НА ОСНОВЕ МЕТАНОЛДЕГИДРОГЕНАЗЫ И КЛЕТОК *Methylobacterium nodularis*

© 2013 г. Т. А. Кузнецова^{**}, А. П. Бесчастный^{*}, С. В. Алфёров^{**}, Ю. А. Троценко^{*}

^{*} Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г. К. Скрыбина РАН, Пуццино, 142290

^{**} Тульский государственный университет, Тула, 300600

e-mail: trotsenko@ibpm.pushchino.ru

Поступила в редакцию 26.04.2013 г.

Исследованы свойства амперометрических биосенсоров на основе метанолдегидрогеназы (МДГ), а также клеток *Methylobacterium nodularis* и графито-пастового электрода, модифицированного ферроценом (ФЦ). Показано, что внесение гидроксипатита (ГА) в графитовую пасту повышало чувствительность и операционную стабильность МДГ-биосенсора. Линейный диапазон электрода составил: для метанола 0.0135—0.5 мМ, для формальдегида 0.032—1.5 мМ. Предел обнаружения метанола — 4.5, формальдегида — 11.0 мкМ. Потеря активности электрода в течение 10 сут хранения в присутствии 2.0 мМ KCN не превышала 12%. Цианид (10 мМ) полностью ингибировал ответы сенсора на формальдегид (1.0 мМ), что позволяло селективно определять метанол в присутствии фор-

мальдегида. Биосенсор на основе клеток обладал меньшей стабильностью и чувствительностью по отношению к метанолу и формальдегиду: коэффициенты чувствительности — 980 и 21 нА/мМ соответственно.

DOI: 10.7868/S055510991306010X