

УДК: 579.234+579.222+579.61

**БАКТЕРИАЛЬНЫЕ МЕМБРАННЫЕ ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ НАНОВЕЗИКУЛЫ:  
СТРОЕНИЕ, БИОГЕНЕЗ, ФУНКЦИИ, ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В БИОТЕХНОЛОГИИ  
И МЕДИЦИНЕ (ОБЗОР)**

© 2015 г. К. А. Луста

*Научно исследовательский институт морфологии человека РАМН, Москва 117418*

*Институт атеросклероза (Сколково), Москва 121609*

*e-mail: k\_lusta@rambler.ru*

Поступила в редакцию 7.11.2014 г.

В обзоре рассматриваются нановезикулы различных типов бактерий, их строение и состав, биогенез, механизмы секреции, условия образования и выделения, функции, участие в патогенезе, а также использование в биотехнологии и медицине.

DOI: 10.7868/S0555109915040091

УДК 581.1

**СИГНАЛЬНЫЕ СИСТЕМЫ РИЗОБИЙ (*Rhizobiaceae*) И БОБОВЫХ РАСТЕНИЙ  
(*Fabaceae*) ПРИ ФОРМИРОВАНИИ БОБОВОРИЗОБИАЛЬНОГО СИМБИОЗА  
(ОБЗОР)**

© 2015 г. А. К. Глянько

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

*e-mail: akglyanko@sifibr.irk.ru*

Поступила в редакцию 25.11.2014 г.

Обобщены литературные и собственные данные об участии бактериального Nod-факторного сигналинга и компонентов кальциевой, НАДФН-оксидазной и NO-синтазной сигнальных систем растения в процессе формирования бобово-ризобиального симбиоза и их взаимосвязи на преинфекционной и инфекционной стадиях. Рассмотрена физиологическая роль Nod-факторов, активных форм кислорода ( $H_2O_2$ ), кальция ( $Ca^{2+}$ ), НАДФН-оксидазы, оксида азота (NO) и их перекрестное влияние на процессы, определяющие формирование симбиотических структур на корнях растения-хозяина.

DOI: 10.7868/S0555109915050062

УДК 579.222

**СИНТЕТАЗА ЦЕФАЛОСПОРИНОВ-КИСЛОТ ШТАММА *Escherichia coli* ВКПМ В-10182: ГЕНОМНЫЙ КОНТЕКСТ, ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНА, СОЗДАНИЕ ШТАММА-ПРОДУЦЕНТА**

© 2015 г. М. А. Эльдаров\*, А. В. Складенко\*\*, А. В. Марданов\*, А. В. Белецкий\*, А. А. Жгун\*, М. В. Думина\*, Н. В. Медведева\*\*, Д. Э. Сатарова\*\*, Н. В. Равин\*, С. В. Яроцкий\*\*

*\*Центр “Биоинженерия” РАН Москва, 117312*

*e-mail: eldarov@biengi.ac.ru.*

*\*\*Государственный научноисследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов, Москва, 117545*

Поступила в редакцию 26.03.2015 г.

Фермент синтетаза цефалоспоринов-кислот продуцируется штаммом *E. coli* ВКПМ В-10182, обладает специфичностью к синтезу  $\beta$ -лактамных антибиотиков, относящихся к классу цефалоспоринов-кислот (цефазолин, цефалотин, цефтезол и др.). Проведено сравнение ранее расшифрованной геномной последовательности штамма *E. coli* ВКПМ В-

10182 с геномом родительского штамма *E. coli* ATCC 9637. Выявлены множественные мутации, свидетельствующие о долгой селекционной истории штамма, в том числе мутации в генах РНКаз и  $\beta$ -лактамаз, которые могли способствовать повышению уровня синтеза фермента и снижению степени деградации синтезируемых цефалоспориновых кислот. Методами биоинформатики идентифицирован ген CASA – прямой гомолог гена пенициллин G-ацилазы, что подтверждено результатами клонирования гена, его экспрессии и определения ферментативной активности в реакции синтеза цефазолина. Ген CASA выделен и клонирован в оригинальный вектор экспрессии, в результате чего получен эффективный штамм *E. coli* BL21(DE3)/pMD0107 – продуцент CASA.

DOI: 10.7868/S0555109915050050

УДК 547.92;572.152;579.873.21

## НОВЫЙ ИММОБИЛИЗОВАННЫЙ БИОКАТАЛИЗАТОР ДЛЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО СИНТЕЗА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ СТЕРОИДОВ

© 2015 г. В. А. Андриюшина\*, Н. В. Карпова\*, А. В. Дружинина\*, Т. С. Стыценко\*, Е. А. Подорожко\*\*, А. Н. Рябев\*\*, В. И. Лозинский\*\*

\*Центр “Биоинженерия” РАН, Москва, 117312

\*\*Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН, Москва, 119991

e-mail: andryushina@rambler.ru

Поступила в редакцию 17.02.2015 г.

Изучена стероидтрансформирующая активность свободных и иммобилизованных клеток *Pimelobacter simplex* ВКПМ Ас-1632, включенных в операционно-стабильный макропористый криогель поливинилового спирта. Показано, что макропористая матрица носителя не создает диффузионных затруднений для доступа стероида к клеткам и отвода из них продуктов биотрансформации. Подобраны оптимальные условия 1,2-дегидрирования гидрокортизона в преднизолон свободными и иммобилизованными клетками. Иммобилизованный биокатализатор получен в гранулированном виде и использован в 32 последовательных циклах трансформации стероида. Средняя продолжительность цикла составила 45 мин, а выход преднизолона в течение первых 20 циклов – 98%. Установлено, что иммобилизованные клетки актинобактерии *P. simplex* сохраняли высокую стероид-трансформирующую активность на протяжении всех этих циклов биотрансформации. Определены физико-механические и диффузионные характеристики криогелей поливинилового спирта и его гранул, показана их высокая стабильность в ходе многократных циклов биотрансформации стероида. Полученные результаты свидетельствовали о том, что иммобилизованные клетки *P. simplex* являются эффективным биокатализатором многократного действия. При его использовании снижалось потребление биомассы и существенно облегчалось выделение продукта реакции и хранение культуры.

DOI: 10.7868/S0555109915050025

УДК 577.151.6

**КАТАЛИТИЧЕСКИЕ И СТЕРЕОСЕЛЕКТИВНЫЕ СВОЙСТВА  
ИММОБИЛИЗОВАННОЙ АМИДАЗЫ *Rhodococcus rhodochrous* 4-1**

© 2015 г. А. Н. Горбунова\*, Ю. Г. Максимова\*\* \*\*, Г. В. Овечкина\*, А. Ю. Максимов\*\* \*\*

\*Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, 614081  
e-mail: maks@iegm.ru

\*\*Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь,  
614990

Поступила в редакцию 04.02.2015 г.

Амидазу *Rhodococcus rhodochrous* 4-1 иммобилизовали, используя ковалентное присоединение к активированному хитозану, физическую сорбцию на углеродсодержащих адсорбентах и образование поперечно-сшитых агрегатов фермента в отсутствие носителя. Проведен сравнительный анализ некоторых каталитических свойств свободной и иммобилизованной на хитозане амидазы. Показано, что фермент, ковалентно иммобилизованный на хитозане, сохранял 50–60% исходной активности и обладал более высокой термостабильностью по сравнению с растворимой амидазой, а также сохранял более 20% активности на протяжении пяти 24-часовых циклов трансформации акриламида. Изучено влияние способов иммобилизации на стереоселективные свойства амидазы в модельной реакции трансформации рацемического лактамида до D- и L-молочной кислоты. Показано, что поперечно-сшитые агрегаты амидазы обладали высокой D-стереоселективностью (до 77–94%). Максимальная энантиоселективность иммобилизованного фермента наблюдалась при 60°C.

DOI: 10.7868/S0555109915050074

УДК 577.5.579.253.4

**ВЛИЯНИЕ МУТАЦИЙ УСТОЙЧИВОСТИ К РИФАМПИЦИНУ НА БИОСИНТЕЗ  
ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОВ ШТАММОМ *Escherichia coli* K12 lon**

© 2015 г. Г. Г. Оганесян, А. А. Барсегян

Научно-производственный центр “Армбиотехнология” Национальной академии наук  
Республики Армения, Ереван, 0056  
e-mail: hhov@sci.am

Поступила в редакцию 04.11.2014 г.

Изучено влияние РНК-полимеразных (*rif*) мутаций на выход капсулярного экзополисахарида – колановой кислоты (КК) у штамма *Escherichia coli* K-12 lon. Путем трансдукционного переноса *rif*-аллелей, обладающих плеiotропным действием, было получено 5 изогенных штаммов-продуцентов колановой кислоты. Изогенные штаммы различались удельной скоростью роста, размером и ослизненностью колоний, зависимостью роста от состава питательной среды и температуры культивирования, а также скоростью адсорбции вирулентного бактериофага M59, специфически лизирующего клетки *E. coli*, продуцирующие КК. Установлена прямая корреляция между выходом экзополисахаридов, скоростью роста и адсорбцией бактериофага M59. Среди *rif*-рекомбинантов отобран штамм АН203, синтезирующий в два раза больше КК при глубинном культивировании по сравнению с родительским штаммом.

DOI: 10.7868/S0555109915040133

УДК 663.15:577.15/17

## СПИРТОВЫЕ ДРОЖЖИ – ПРОДУЦЕНТЫ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ПЕПТИДОВ

© 2015 г. Е. В. Клячко, Е. В. Морозкина, Б. Ц. Зайчик, С. В. Беневоленский

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

*e-mail: eklyachko@yandex.ru*

Поступила в редакцию 26.03.2015 г.

Созданы штаммы спиртовых дрожжей, синтезирующие пептиды, подавляющие рост молочнокислых бактерий *Lactobacillus sakei*, *Pediococcus pentasaceus*, *Pediococcus acidilactici* и др., которые могут быть использованы при производстве этанола для борьбы с заражением молочнокислыми бактериями. Синтезированы гены, кодирующие антибактериальные пептиды педиоцин и плантарицин, с предпочтительными для *Saccharomyces cerevisiae* кодонами и создана система их секреторной экспрессии. Показано, что штаммы *S. cerevisiae*, синтезирующие и секретирующие в среду эти пептиды, подавляют рост молочнокислых бактерий. Использование спиртовых дрожжей, продуцирующих антибактериальные пептиды, увеличивало выход этанола в условиях бактериального инфицирования. Спиртовые дрожжи *S. cerevisiae*, секретирующие в среду антибактериальные пептиды педиоцин и плантарицин, могут быть рекомендованы для замены существующих промышленных линий дрожжей при производстве этанола.

DOI: 10.7868/S055510991505013X

УДК 579.254.2,582.282.123.2,544.473:577.15

## НОВЫЕ ФЕРМЕНТНЫЕ ПРЕПАРАТЫ С ВЫСОКОЙ АКТИВНОСТЬЮ ПЕКТИНАЗ И ГЕМИЦЕЛЛЮЛАЗ НА ОСНОВЕ ШТАММОВ-ПРОДУЦЕНТОВ

*Penicillium canescens*

© 2015 г. Е. А. Рубцова\*, Е. В. Бушина\*, А. М. Рожкова\*, О. Г. Короткова\*, В. А.

Немашкалов\*\*, А. В. Кошелев\*\*, А. П. Синицын\* \*\*\*

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

*\*\*Институт биохимии и физиологии микроорганизмов РАН, Пуццино, 142290*

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

*e-mail: Katrintz@mail.ru*

Поступила в редакцию 11.02.2015 г.

Методами генетической инженерии были получены рекомбинантные штаммы *Penicillium canescens*, которые продуцировали гомологичную пектинлиазу А и гетерологичные эндо-1,5- $\alpha$ -арабиназу А и эндо-1,4- $\alpha$ -полигалактуроназу, а также ферменты исходного штамма ( $\alpha$ -L-арабинофуранозидазы, ксиланазы и другие ферменты). Ферментные препараты (ФП), полученные из культуральной жидкости этих штаммов *P. canescens*, эффективно гидролизуют растительное сырье с высоким содержанием пектиновых веществ. Показано, что при гидролизе свекловичного жома одним из полученных ФП выход восстанавливающих сахаров и арабинозы повышался на 16 и 22% по сравнению с контрольным ФП на основе исходного штамма. Установлено, что в состав наиболее активного ФП входили пектинлиаза (10%), эндо-1,5- $\alpha$ -арабиназа (26%),  $\alpha$ -L-арабинофуранозидаза и арабиноксилан-арабинофураногидролаза (12%) и ксиланаза А (10%). Определены активности пектинлиазы, полигалактуроназы и арабиназы ФП по отношению к различным субстратам. Изучены специфичность, оптимум рН и температуры, термостабильность гомогенной рекомбинантной эндо-1,5- $\alpha$ -арабиназы. Определены ее кинетические параметры ( $K_m$ ,  $k_{cat}$ ) гидролиза линейного арабинана.

DOI: 10.7868/S0555109915050141

УДК 577.152.2

## СОСТОЯНИЕ ЛИПАЗ ГРИБОВ *Rhizopus microsporus*, *Penicillium* sp. И *Oospora lactis* В ПРИГРАНИЧНЫХ СЛОЯХ ВОДА–ТВЕРДАЯ ФАЗА; ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА КАТАЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ФЕРМЕНТОВ

© 2015 г. Х. Т. Хасанов, К. Давранов, М. М. Рахимов

Национальный университет Узбекистана им. Мирзо Улугбека, Ташкент, 100174

e-mail: k\_davranov@mail.ru

Поступила в редакцию 26.02.2015 г.

Показано, что в модельных системах вода–липид и вода–твердая фаза изменение каталитической активности липаз, синтезируемых грибами *Rhizopus microsporus*, *Penicillium* sp. и *Oospora lactis*, и их способность адсорбироваться на различных сорбентах зависели от природы групп, находящихся на поверхности твердой фазы. Так, в присутствии сорсилена или ДЭАЭ-целлюлозы увеличивалась стабильность липаз гриба *Penicillium* sp., при этом сохранялось 85 и 55% их исходной активности соответственно. В присутствии силикагеля и КМ-целлюлозы наблюдалось снижение скорости гидролиза липидов ферментами *Penicillium* sp. в водной среде, а аминоаэросила и поликефамида глубина их гидролиза повышалась в 2.4 и 1.5 раза соответственно. В водно-спиртовой среде аминоаэросил и поликефамид снижали скорость гидролиза субстрата более чем в 30 раз. Введение аэросила как в водную, так в водно-спиртовую среду приводило к повышению глубины гидролиза в 1.2–1.3 раза. Сорсилен оказывал стабилизирующее действие на липазу *Penicillium* sp. при 40, 45, 50 и 55°C. В зависимости от pH среды и природы химических групп, локализованных на поверхности твердой фазы, наблюдалась либо стабилизация, либо инактивация липаз, при этом изменялась и их синтетазная активность.

DOI: 10.7868/S0555109915050128

УДК 543.645:57.083.3

## РАЗРАБОТКА ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ АНТИГЕНОВ *Helicobacter pylori*

© 2015 г. Н. А. Бызова\*, А. В. Жердев\*, П. Г. Свешников\*\*, Э. Г. Садыхов\*, Б. Б. Дзантиев\*

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

e-mail: nbyzova@inbi.ras.ru

\*\*Всероссийский научный центр молекулярной диагностики и лечения, Москва, 117638 e-

mail: petersveshnikov@list.ru

Поступила в редакцию 31.03.2015 г.

Разработана тест-система для экспрессной детекции антигенов *Helicobacter pylori*, основанная на принципе иммунохроматографии в “сэндвич”-формате. Контакт пробы и тест-полоски с нанесенными иммунореагентами инициирует движение жидкости по мембранным компонентам тест-полоски, иммунохимические взаимодействия и формирование детектируемых зон, окрашенных наночастицами золота. Изучены концентрационные и кинетические закономерности иммунохимических взаимодействий. Предложена реагентная и мембранная комплектация тест-системы, обеспечивающая минимальный предел обнаружения. Показано, что разработанная тест-система позволяет за 10 мин детектировать антигены клеточной стенки *H. pylori* в концентрациях до 0.3 мкг/мл в водных растворах и суспензии кала клинической пробы. Усиление окрашивания при добавлении солей серебра позволяет снизить предел обнаружения до 0.03 мкг/мл. Разработанная тест-система может быть использована для внелабораторной диагностики.

DOI: 10.7868/S0555109915050049

УДК 541.64:547.96

## ВЛИЯНИЕ СТРУКТУРЫ ГИДРОГЕЛЕВЫХ НОСИТЕЛЕЙ НА АКТИВНОСТЬ ИММОБИЛИЗОВАННОГО ТРИПСИНА

© 2015 г. Л. И. Валуев\*, И. Л. Валуев\*, Л. В. Ванчугова\*, Т. А. Валуева\*\*

\*Институт нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева РАН, Москва 119991

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

e-mail: [valuev@ips.ac.ru](mailto:valuev@ips.ac.ru)

Поступила в редакцию 11.02.2015 г.

Исследована зависимость активности трипсина, иммобилизованного в полиакриламидном гидрогеле, от степени набухания гидрогеля, распределения его пор по размерам и способа связывания с ним фермента. Показано, что наиболее благоприятные условия для функционирования иммобилизованного трипсина обеспечивало его связывание с гидрогелем путем сополимеризации макромономера трипсина с акриламидом и сшивающим агентом в присутствии модификатора, ограничивающего рост полимерных цепей.

DOI: 10.7868/S0555109915050177

УДК 577.152.192:541.64

## ПОЛИМЕРИЗАЦИЯ АНИЛИНА НА МНОГОСТЕННЫХ УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБКАХ С ИММОБИЛИЗОВАННОЙ ЛАККАЗОЙ

© 2015 г. Г. П. Шумакович\*, Г. В. Отрохов\*, М. Е. Хлупова\*, И. С. Васильева\*, Е. А. Зайцева\*\*, О. В. Морозова\*, А. И. Ярополов\*

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

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

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

Поступила в редакцию 12.03.2015 г.

Синтезирован композитный материал, содержащий электропроводящий полианилин на поверхности многостенных углеродных нанотрубок. Ферментативный синтез проводили в присутствии лакказы *Trametes hirsuta*, иммобилизованной на их поверхности. Показано, что полученный композит обладал однородной морфологией и значительно более высокой электрохимической емкостью и стабильностью по сравнению с композитом, синтезированным традиционным химическим способом.

DOI: 10.7868/S0555109915050153