

УДК 577.151;579.66

ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ СИНТЕЗ β -ЛАКТАМОВ-КИСЛОТ (ОБЗОР)

© 2015 г. А. В. Скляренко*, М. А. Эльдаров**, В. Б. Курочкина*, С. В. Яроцкий* *

*Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции
промышленных микроорганизмов, Москва, 117545*

e-mail: asklyarenko@yandex.ru

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

e-mail: eldarov@biengi.ac.ru

Поступила в редакцию 08.06.2015 г.

Обсуждаются известные методы ферментативного синтеза β -лактамов, используемые при этом ферменты и гетерогенные биокатализаторы на их основе, обобщены также имеющиеся в литературе сведения о достижениях в области ферментативного синтеза конкретных антибиотиков, относящихся к пенициллинам-кислотам и цефалоспорином-кислотам. Проанализированы и сопоставлены ключевые условия и параметры проведения биокаталитических процессов – форма биокатализатора, концентрации исходных соединений, тип растворителя, рН, температура и т.д.; даны рекомендации по дальнейшей оптимизации синтеза β -лактамов.

Обзор может быть полезен как широкому кругу читателей, так и специалистам-энзимологам и биотехнологам.

DOI: 10.7868/S055510991506015X

УДК 579.222.7+576.34

ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ СИГНАЛЬНОГО ПЕПТИДА ПРО-ЭНТЕРОТОКСИНА В ИЗ *Staphylococcus aureus*

© 2015 г. Н. Н. Мордкович, Н. А. Окорокова, В. П. Вейко

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

e-mail: vladveiko@yahoo.com

Поступила в редакцию 20.04.2015 г.

Сконструирована серия генов про-энтеротоксина В из *Staphylococcus aureus*, содержащих мутантные формы сигнального пептида и исследована функциональная роль введенных мутаций. Показано, что внесенная протяженная мутация n-района сигнального пептида, в отличие от аналогичной мутации h-района, не влияла на эффективность секреции про-энтеротоксина В. Получены точечные мутации сигнального пептида про-белка, включающие N-концевой аминокислотный остаток зрелого белка. Показано, что введенные структурные изменения приводят к снижению эффективности секреции и перераспределению белка в составе различных компартментов клеток *Escherichia coli*.

DOI: 10.7868/S0555109915060100

УДК 579.24

ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЙ СТАТУС ЭКСТРЕМОФИЛЬНЫХ ДРОЖЖЕЙ *Yarrowia lipolytica* ПРИ АДАПТАЦИИ К pH-СТРЕССУ

© 2015 г. В. Ю. Секова*, Н. Н. Гесслер*, Е. П. Исакова*, А. Н. Антипов*, Д. И. Дергачева**, Ю. И. Дерябина*, Е. В. Трубникова***

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

**Московский государственный университет тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, Москва, 119571

***Курский государственный университет, Курск, 305000
e-mail: yul_der@mail.ru

Поступила в редакцию 15.06.2015 г.

Исследованы изменения активности ферментов антиоксидантной защиты (супероксиддисмутаза, СОД, и каталаза), а также уровня активных форм кислорода в дрожжевых клетках *Yarrowia lipolytica* при выращивании на средах с различными значениями pH (4.5, 5.5 и 9.0). Показано, что увеличение уровня активных форм кислорода в клетках происходило как в кислых, так и в щелочных условиях. Рост клеток в экстремальных условиях сопровождался значительным увеличением активности СОД (в 2.5 раза в кислых и в 4 раза в щелочных условиях), при этом активность каталазы не изменялась. Изучение электрофоретического профиля каталазы показало присутствие трех изоформ, различающихся по устойчивости к ингибиторам этих ферментов. Электрофоретический профиль СОД и ингибиторный анализ выявил, наряду с присутствием Cu, Zn-СОД, наличие двух других форм, предположительно митохондриального происхождения. Обсуждается роль СОД в pH-адаптации экстремофильных дрожжей *Y. lipolytica*.

DOI: 10.7868/S0555109915060136

УДК 582.28.05;577.114

ДЕЙСТВИЕ ОКСИГЕНИРОВАННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ЛИНОЛЕВОЙ И ЛИНОЛЕНОВОЙ КИСЛОТ НА ОБРАЗОВАНИЕ КОНИДИЙ И ПРОТОПЕРИТЕЦИЕВ У ДИКОГО ТИПА И МУТАНТОВ ПО ФОТОРЕЦЕПТОРНОМУ КОМПЛЕКСУ *Neurospora crassa*

© 2015 г. С. Ю. Филиппович*, Г. П. Бачурина*, Н. Н. Гесслер*, А. Б. Голованов**, А. М. Макарова**, Н. В. Гроза**, Т. А. Белозерская* ***

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

**Московский государственный университет тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, Москва, 119571

***Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, 119991
e-mail: tabinbi@mail.ru

Поступила в редакцию 12.05.2015 г.

Исследовано регуляторное действие двух оксипроизводных ненасыщенных жирных кислот (оксипиринов) – 18-гидрокси-(9Z,12Z)-октадекадиеновой кислоты (18-HODE) и 18-гидрокси-(9Z,12Z,15Z)-окта-декатриеновой кислоты (18-HOTrE), на половое и бесполое размножение штаммов *Neurospora crassa* дикого типа и мутантов *wc-1* и *wc-2*. Показано, что у штамма дикого типа 18-HODE, в отличие от 18-HOTrE, является стимулятором образования протоперитециев в темноте и на свету. У этого же штамма исследованные оксипирины оказывали влияние на конидиогенез только в условиях освещения: 18-HODE стимулировала, а 18-HOTrE ингибировала образование конидий. Оксипирины не влияли на образование протоперитециев у мутантов по фоторецепторному комплексу, что, по-видимому, свидетельствовало о его участии в передаче сигнала у *N. crassa*. Стимуляция

образования конидий у *ws-1* под влиянием исследованных оксипептинов и отсутствие их действия на *ws-2* может указывать на наличие альтернативных путей передачи сигнала оксипептинов при конидиогенезе.

DOI: 10.7868/S0555109915060057

УДК 577.152:577.113:579.252

**НОВЫЙ ФЕРМЕНТНЫЙ ПРЕПАРАТ С ВЫСОКОЙ АКТИВНОСТЬЮ
ПЕНИЦИЛЛОПЕПСИНА НА ОСНОВЕ ШТАММА-ПРОДУЦЕНТА *Penicillium
canescens* © 2015 г. И. А. Смирнова*, А. С. Серeda*, Е. В. Костылева*, Н. В.
Цурикова*, Е. В. Бушина**, А. М. Рожкова**, А. П. Сеницын*** *****

*Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии, Москва,
111033

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

***Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, химический
факультет, Москва, 119991
e-mail: Katrintz@mail.ru

Поступила в редакцию 08.04.2015 г.

Методами генной инженерии создан штамм – продуцент грибного пенициллопепсина, аспаргатной протеазы. Изучены биохимические и физико-химические свойства ферментного препарата пенициллопепсина, полученного из культуральной жидкости продуцента. Проведено сравнение свойств нового ферментного препарата и коммерчески доступного аспергиллопепсина. Установлено, что их протеолитическая активность составляла 670–680 ед./г препарата. Показано, что выход растворимого белка при гидролизе пшеничной муки пенициллопепсином в 2.7 раза выше, чем при действии аспергиллопепсина, что, возможно, обусловлено присутствием ксиланазной активности в препарате пенициллопепсина.

DOI: 10.7868/S0555109915060161

УДК 579.254.2,582.282.123.2,582.282.192.3,544.473:577.15

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭНДОГЛЮКАНАЗЫ IV *Trichoderma reesei* ДЛЯ
УВЕЛИЧЕНИЯ ГИДРОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЦЕЛЛЮЛАЗНОГО
КОМПЛЕКСА ГРИБА *Penicillium verruculosum***

© 2015 г. О. В. Проскурина*, О. Г. Короткова*, А. М. Рожкова*, Е. Г. Кондратьева*,
В. Ю. Матыс**, И. Н. Зоров***, А. В. Кошелев**, О. Н. Окунев**, В. А.
Немашкалов**, Т. В. Бубнова**, А. П. Сеницын* ***

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

e-mail: olgavproskurina@gmail.com

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

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

Поступила в редакцию 18.03.2015 г.

Изучено влияние полисахаридмонооксигеназы (эндоглюканазы IV) гриба *Trichoderma reesei* на гидролиз полисахаридных субстратов целлюлазами, секретлируемыми грибом *Penicillium verruculosum*. Показано, что внесение эндоглюканазы IV из *T. reesei* в комплекс ферментов гриба *P. verruculosum* позволяет повысить эффективность гидролиза целлюлозы на 45%.

DOI: 10.7868/S0555109915060124

УДК 579.61

ИЗУЧЕНИЕ НОВЫХ ВИРУЛЕНТНЫХ БАКТЕРИОФАГОВ, АКТИВНЫХ ПРОТИВ МНОЖЕСТВЕННО-РЕЗИСТЕНТНЫХ ШТАММОВ *Pseudomonas aeruginosa*

© 2015 г. Н. Ш. Баларджишвили, Л. И. Квачадзе, М. И. Кутателадзе, Т. Ш. Месхи, Т. К. Патаридзе, Т. А. Беришвили, Е. Ш. Тевдорадзе

Институт бактериофагии, микробиологии и вирусологии им. Г. Элиава, Тбилиси, 0160
e-mail: nana_balarj@yahoo.com

Поступила в редакцию 03.04.2015 г.

Исследована чувствительность 512 свежевыделенных клинических штаммов *Pseudomonas aeruginosa* к антимикробным препаратам 6 классов. Отобраны и генотипированы антибиотикорезистентные штаммы, против которых выделены три новых вирулентных бактериофага, относящиеся к таксономическим семействам *Myoviridae* и *Podoviridae*. Установлены параметры цикла внутриклеточного развития фагов и изучено влияние на их жизнеспособность инактивирующих факторов (температуры, pH, УФ-излучения). Определена молекулярная масса геномов фагов, проведен рестрикционный анализ их ДНК и ПААГ-электрофорез в присутствии ДДС-На белков оболочки. Исследована эффективность посева бактериофагов на 28 генетически отдаленных антибиотикорезистентных штаммах *P. aeruginosa*. Установлено, что 26 из них с высокой эффективностью лизировалось одним из фагов. Определен диапазон антибактериального действия изученных фагов и их смеси на 427 полирезистентных клинических штаммов. Показано, что объединение этих фагов в одном многокомпонентном препарате усиливало их литическую активность.

DOI: 10.7868/S0555109915060033

УДК 547.995.12:577.152.32:579.852.11

ВЛИЯНИЕ ПОЛИКАТИОНОВ НА АНТИБАКТЕРИАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ЛИЗОСТАФИНА

© 2015 г. С. Н. Куликов* ** ***, Р. З. Хайруллин* ***, В. П. Варламов****

*Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, Казань, 420015
e-mail: kuliks@yandex.ru

**Казанский федеральный университет, Казань, 420008

***Казанский национальный исследовательский технологический университет, Казань, 420015

e-mail: khairullinrz@gmail.com

****Центр "Биоинженерия" РАН, Москва, 117312

e-mail: varlamov@biengi.ac.ru

Поступила в редакцию 14.05.2015 г.

Показан эффект синергизма лизостафина и поликатионов различной химической структуры при проявлении антибактериальной активности против *Staphylococcus aureus*. Поликатионы усиливали литическое действие лизостафина на пептидогликан стафилококков. Высказано предположение, что при этом уменьшалось связывание положительно заряженного лизостафина с тейхоевыми кислотами клеточных стенок *S. aureus*. Полученные данные открывают перспективы для поиска поликатионов, усиливающих эффект синергизма при действии лизостафина и других антибактериальных белков на стафилококки.

DOI: 10.7868/S0555109915060082

**ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКАЯ ТЕСТ-СИСТЕМА ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ Т-2
ТОКСИНА**

© 2015 г. А. В. Петракова*, А. Е. Урусов*, М. В. Возняк**, А. В. Жердев*, Б. Б.
Дзантиев*

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

e-mail: dzantiev@inbi.ras.ru

***ООО “ИЛ Тест-Пушино”, Пушкино Московской обл., 142290*

Поступила в редакцию 08.06.2015 г.

Разработана иммунохроматографическая тест-система для детекции Т-2 токсина (Т2Т), одного из приоритетных контаминант зерновой продукции. Детекция основана на конкуренции содержащегося в пробе Т2Т и иммобилизованного на тест-полоске конъюгата Т2Т–белок за связывание с комплексами антител против Т2Т и маркера – золотых наночастиц. Результат конкуренции регистрируется по окрашиванию маркером аналитической зоны тест-полоски. Установлено, что для достоверного высокочувствительного анализа оптимально разведение пробы при конечной концентрации метанола 20%. Показано, что замедление движения реагентов вдоль тест-полоски, которое обеспечивалось использованием дополнительных мембран, пропитанных 10%-ным БСА, приводило к снижению предела детекции Т2Т. Тест-система апробирована для выявления Т2Т в водно-метанольных экстрактах зерен кукурузы. Исчезновение окрашивания аналитической зоны, свидетельствующее о присутствии микотоксина, наблюдалось для проб зерна, содержащих от 53 мкг/кг Т2Т (концентрация Т2Т при проведении иммунохроматографии – 3 нг/мл). При видеоцифровой регистрации предел выявления Т2Т составил 16 мкг/кг (0.9 нг/мл). Продолжительность тестирования – 15 мин. Полученные данные свидетельствуют о пригодности разработанной тест-системы для контроля превышения максимальных допустимых уровней содержания Т2Т.

DOI: 10.7868/S0555109915060112