

УДК 543.9:579.25

ЦЕЛЬНОКЛЕТОЧНЫЕ БАКТЕРИАЛЬНЫЕ БИОСЕНСОРЫ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ И ИХ ХЛОРИРОВАННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ (ОБЗОР)

© 2016 г. Е. Г. Плотникова* **, Е. С. Шумкова*, ***, М. С. Шумков***

*Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, 614990

**Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, 614081

***Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр “Фундаментальные основы биотехнологии” Российской академии наук, Москва, 119071
e-mail: peg_el@mail.ru

Поступила в редакцию 01.12.2015 г.

В обзоре приводятся данные о новых направлениях развития биосенсорных технологий на основе целых бактериальных клеток. Рассматриваются биосенсоры для мониторинга моно(поли)ароматических углеводов и их хлорированных производных, созданные с использованием генномодифицированных бактериальных клеток, несущих репортерное генное слияние. Принцип работы таких биосенсоров основан на экспрессии генов-репортеров (*luc*, *lux*, *gfp*, *rfp*) под контролем промотора и регулятора, специфично реагирующих на детектируемое соединение.

DOI: 10.7868/S0555109916040127

УДК 557.152.083.13:579.222.6/.7

ПОЛУЧЕНИЕ ГОМОГЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ИЗОФОРМ НАД⁺-ЗАВИСИМОЙ МАЛАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ ИЗ МЕЗОФИЛЛА ЛИСТЬЕВ КУКУРУЗЫ И ИЗУЧЕНИЕ ИХ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ И КАТАЛИТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ

© 2016 г. А. Т. Епринцев, М. О. Гатауллина, М. С. Лященко

Воронежский государственный университет, Воронеж, 394006

e-mail: bc366@bio.vsu.ru

Поступила в редакцию 28.01.2015 г.

В результате четырех этапов очистки из мезофилла листьев кукурузы получены электрофоретически гомогенные изоформы малатдегидрогеназы. Удельная активность первой изоформы составила 640 Е/мг белка, степень очистки – 46 раз и выход – 9.2%, а удельная активность второй – 990 Е/мг белка, степень очистки – 70 раз и выход – 9.5%. Определены значения молекулярных масс гомогенных изоформ и констант Михаэлиса в прямой и обратной реакциях, катализируемых ферментами, а также влияние рН среды на их действие. Методом электрофореза в ПААГ в присутствии ДДС-На показано, что изоформы малатдегидрогеназы обладали олигомерной структурой, содержащей одинаковые субъединицы. Первая изоформа с молекулярной массой 126.58 кДа представляла собой тетрамер, а вторая – димер с молекулярной массой 63.3.

DOI: 10.7868/S0555109916040048

УДК 576.809.7:616.988.21:663.12/14

ПРОДУКЦИЯ ГУМАНИЗИРОВАННОГО F(ab')₂-ФРАГМЕНТА АНТИТЕЛА ПРОТИВ ВИРУСА БЕШЕНСТВА В ДРОЖЖАХ *Pichia pastoris*

© 2016 г. Т. А. Ягудин*, Е. В. Клячко*, С. С. Зацепин*, Е. В. Морозкина*, С. В. Беневоленский*, О. Б. Шемчукова**, Л. П. Позднякова**, О. Н. Солопова**, П. Г. Свешников**

*Институт биохимии им. А.Н.Баха, Федеральный исследовательский центр “Фундаментальные основы биотехнологии” Российской академии наук, Москва, 119071
**Всероссийский научный центр молекулярной диагностики и лечения, Москва, 117638
e-mail: timyagudin@gmail.com

Поступила в редакцию 25.01.2016 г.

Получен штамм дрожжей *Pichia pastoris* – продуцент гуманизированных F(ab')₂-фрагментов антитела против вируса бешенства. Коэкспрессия шаперона BiP человека вызывала увеличение уровня секреции иммуноглобулинов в два раза. Использование Fos и Jun зипперов в составе тяжелых цепей облегчало димеризацию Fab'-фрагментов, увеличивая долю F(ab')₂-фрагментов в общем пуле секретированных иммуноглобулинов до 75%.

DOI: 10.7868/S0555109916040164

УДК 577.151.1(579.66)

БИОСИНТЕЗ СЕРЕБРЯНЫХ НАНОЧАСТИЦ С УЧАСТИЕМ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ Mn-ЗАВИСИМОЙ ПЕРОКСИДАЗЫ АЗОСПИРИЛЛ

© 2016 г. М. А. Купряшина, Е. П. Ветчинкина, В. Е. Никитина

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов, 410049
e-mail: kupryashina_m@mail.ru

Поступила в редакцию 12.01.2016 г.

Методом просвечивающей электронной микроскопии показано накопление наночастиц коллоидного серебра сферической формы в культуральной жидкости *Azospirillum brasilense*. Установлено участие бактериальных внеклеточных Mn-пероксидаз в восстановлении серебра из нитрата серебра с образованием наночастиц. Предложен механизм внеклеточного биосинтеза наночастиц серебра бактериями *A. brasilense*.

DOI: 10.7868/S0555109916040103

УДК 579.69

ТЕРМОТОЛЕРАНТНЫЕ БАКТЕРИИ-НЕФТЕДЕСТРУКТОРЫ, ВЫДЕЛЕННЫЕ ИЗ ПРОБ ГРУНТА И ВОДЫ ГЕОГРАФИЧЕСКИ УДАЛЕННЫХ РЕГИОНОВ

© 2016 г. Я. А. Делеган** **, А. А. Ветрова**, В. Н. Акимов**, М. А. Титок***, А. Е. Филонов** **, А. М. Боронин**

*Пуцинский государственный естественно-научный институт, Пуццино Московской обл., 142290

**Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пуццино Московской обл., 142290

***Белорусский государственный университет, Минск, 220030

e-mail: filonov.andrey@rambler.ru

Поступила в редакцию 04.12.2015 г.

Из проб грунта и воды России, Казахстана и Антарктиды были выделены 86 штаммов бактерий-нефтедеструкторов, из которых 13 оказались термотолерантными. Эти бактерии утилизировали нефть при 45–50°C и имели отличающийся от мезофильных бактерий оптимум (35–37°C) и диапазон роста (20–53°C). Термотолерантные штаммы были идентифицированы как представители родов *Rhodococcus* и *Gordonia*. Показано, что их способность к деструкции нефтепродуктов при 24 и 45°C различалась незначительно. Штаммы *Rhodococcus* sp. Paг7 и *Gordonia* sp. 1D утилизировали 14 и 20% нефти в течение 14 сут при 45°C. Все выделенные термотолерантные бактерии росли в среде, содержащей 3% NaCl, а штаммы *Gordonia amicalis* 1B и *Gordonia* sp. 1D – до 10% NaCl. Бактерии *G. amicalis* и *Rhodococcus erythropolis* были способны утилизировать нефть и отдельные углеводороды при повышенных (до 50°C) температурах.

DOI: 10.7868/S0555109916040024

УДК 606:550.7;606:661

БИООКИСЛЕНИЕ СУЛЬФИДНОЙ ЗОЛОТОСОДЕРЖАЩЕЙ РУДЫ С ПОСЛЕДУЮЩИМ ОБЕЗВРЕЖИВАНИЕМ ОСТАТКОВ ЦИАНИРОВАНИЯ

© 2016 г. А. Т. Канаев*, А. Г. Булаев** ***, Г. В. Семенченко*, З. К. Канаева****, А. А. Шилманова *

*Научно-исследовательский институт проблем биологии и биотехнологии, Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Алматы, 050040

**Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Федеральный исследовательский центр “Фундаментальные основы биотехнологии” Российской академии наук, Москва, 119071

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

****Институт высоких технологий и устойчивого развития Казахского национального технического университета им. К.И. Сатпаева, Алматы, 050013

e-mail: ashim1959@mail.ru

Поступила в редакцию 16.12.2015 г.

Изучены оптимальные параметры перколяционного биоокисления руды месторождения Бакырчик. Варьирование технологических параметров таких, как концентрация орошающего раствора, плотность орошения и применение пауз на различных этапах процесса, позволило подобрать оптимальный режим извлечения благородных металлов, включающий этап биоокисления руды, выщелачивание золота растворами цианида или тиосульфата различной концентрации и биологическое обезвреживание цианида. В ходе экспериментов было достигнуто извлечение в раствор 64.0% золота и 57.3% серебра цианидом и 75.6% золота и 51.5% серебра тиосульфатом. В контрольных вариантах (без биоокисления) удавалось извлечь из руды 20.9% золота и 26.8% серебра цианидом и 38.8% золота и 24.2% серебра тиосульфатом. Остатки цианирования обезвреживали с помощью микробной деструкции цианида бактериями рода *Alcaligenes*.

DOI: 10.7868/S0555109916040085

УДК 575.1:582.951.4

**ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА РАСТЕНИЙ *Kalanchoe pinnata* L.,
ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ИСКУССТВЕННЫЙ ГЕН АНТИМИКРОБНОГО
ПЕПТИДА ЦЕКРОПИНА P1**

© 2016 г. Н. С. Захарченко, Е. Б. Рукавцова, Т. В. Шевчук, О. В. Фурс, С. В. Пиголева,
А. А. Лебедева, И. А. Чулина, Л. К. Байдакова, Я. И. Бурьянов

Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.

Овчинникова РАН, Пущино, 142290

e-mail: znata_2004@rambler.ru

Поступила в редакцию 16.12.2015 г.

Получены растения каланхоэ перистого (*Kalanchoe pinnata* L.), содержащие искусственный ген *CP1*, кодирующий антимикробный пептид цекропин P1. Присутствие гена *CP1* в геноме растений было подтверждено методом ПЦР, а синтез цекропина P1 в трансгенных растениях методом масс-спек- троскопии MALDI и вестерн-блот анализом. Полученные растения проявляли повышенную устойчивость к бактериальным и грибным фитопатогенам, а их экстракты – антимикробную активность к патогенам человека и животных. Показано, что трансгенные растения, содержащие ген *CP1*, могли колонизироваться полезными ассоциативными микроорганизмами *Methylovorus mays*.

DOI: 10.7868/S0555109916040188

УДК 581.1

**ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВЛИЯНИЯ ГЕРМАТРАНОЛА НА
ТЕРМОУСТОЙЧИВОСТЬ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ**

© 2016 г. А. М. Шигарова*, О. И. Грабельных*, В. П. Барышок**, Г. Б. Боровский*

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

**Иркутский национальный исследовательский университет, Иркутск, 664074

e-mail: anas_shig@mail.ru

Поступила в редакцию 28.01.2016 г.

Исследовано влияние биологически активного вещества герматранола в низких и сверхнизких дозах на интенсивность дыхания и содержание активных форм кислорода (АФК) в корнях пшеницы в условиях высокотемпературного стресса. Результаты показали, что растворы исследуемого вещества в концентрациях с 10^{-5} М до 10^{-10} М (в зависимости от температурного режима) повышают термотолерантность проростков пшеницы, а также влияют на содержание АФК и интенсивность дыхания. Предполагается, что герматранол может оказывать положительное влияние на рост и развитие растений и выступать в роли антиоксиданта в клетках растений.

DOI: 10.7868/S0555109916040152

УДК 616.72-002.77:615.03:577.334:577.15

**АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В УСЛОВИЯХ
ВОЗДЕЙСТВИЯ 3,5-ДИКАРБОМЕТОКСИФЕНИЛБИГУАНИДА**

© 2016 г. **О. А. Сафонова***, **Т. Н. Попова***, **Е. Д. Крыльский***, **А. А. Агарков***, **К. К. Шульгин***, **Е. М. Кирилова****, **Е. С. Таныгина***

**Воронежский государственный университет, Воронеж, 394006 **Воронежский областной клинический консультативно-диагностический центр, Воронеж, 394006
e-mail: solya333@mail.ru*

Поступила в редакцию 28.12.2015 г.

Исследовано влияние 3,5-дикарбометоксифенилбигуанида, отобранного с помощью компьютерной программы прогнозирования биологической активности PASS, на активность супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы и глутатионтрансферазы в сердце и сыворотке крови крыс с экспериментальным ревматоидным артритом. Выявлено изменение исследуемых параметров в сторону контрольных значений при введении животным с патологией тестируемого соединения, что объясняется реализацией его кардиопротекторного и антиоксидантного действия. Данные, полученные в ходе работы, могут быть применены при разработке новых средств профилактики и лечения ревматоидного артрита.

DOI: 10.7868/S0555109916040139

УДК 577.1:547.917

НЕЙТРАЛИЗАЦИЯ АНТИКОАГУЛЯНТНОЙ АКТИВНОСТИ ГЕПАРИНА N-[(2-ГИДРОКСИ-3-ТРИМЕТИЛАММОНИЙ)ПРОПИЛ] ХЛОРИД- ПРОИЗВОДНЫМИ ХИТОЗАНА

© 2016 г. **Б. Ц. Шагдарова***, **Н. Н. Дрозд****, **А. В. Ильина***, **Ю. С. Логвинова****, **В. П. Варламов***

**Институт биоинженерии, Федеральный исследовательский центр “Фундаментальные основы биотехнологии” Российской академии наук, Москва, 119071*

***Гематологический научный центр Минздрава РФ, Москва, 125167*

e-mail: varlatov@biengi.ac.ru e-mail: nndrozd@mail.ru

Поступила в редакцию 15.01.2016 г.

Синтезированы алкилированные производные низкомолекулярного хитозана с различной степенью замещения 98, 40 и 9% (I, II и III соответственно). Структура полученных производных была определена спектральными методами (ИК-спектроскопия и протонный магнитный резонанс). Производные хитозана характеризовались положительным дзета-потенциалом (33–51 мВ) и растворимостью от 2 до 100 мг/мл при рН 7.4 и 25°C. Показано, что производное I при концентрации 0.0014–0.0029 мг/мл, как и сульфат протамина, можно использовать для нейтрализации антикоагулянтной активности нефракционированного или низкомолекулярного гепарина. При концентрации 0.0029–0.58 мг/мл производное I увеличивало агрегацию тромбоцитов, что необходимо при использовании соединений или материалов с гемостатической активностью. Производные II и III в меньшей степени увеличивали агрегацию тромбоцитов человека.

DOI: 10.7868/S0555109916040140

УДК 577.152.192.31;547.99

ПОЛИМЕРИЗАЦИЯ ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНА С УЧАСТИЕМ ЛАККАЗЫ, ИММОБИЛИЗОВАННОЙ В ИОННОЙ ЖИДКОСТИ

© 2016 г. М. Е. Хлупова*, К. В. Лисицкая*, А. Х. Амандусова*, Г. П. Шумакович*, И. С. Васильева *, Е. А. Зайцева**, О. В. Морозова*, А. И. Ярополов*

*Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр
“Фундаментальные основы биотехнологии” Российской академии наук, Москва, 119071

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

Поступила в редакцию 28.01.2016 г.

Показано, что лакказы (ЛК), включенная в гидрофобную ионную жидкость (ИЖ), может быть многократно использована для биотрансформации дигидрокверцетина (ДГК). Физико-химические характеристики олигомеров ДГК, синтезированных с использованием ЛК/ИЖ, не отличались от характеристик олигомеров, полученных с использованием нативной лакказы. Синтезированные олигомеры имели среднечисловую молекулярную массу 1050 г/моль и индекс полидисперсности 1.41. Олигомеры обладали более высокой антиоксидантной активностью по сравнению с мономером.

DOI: 10.7868/S0555109916040097

УДК 576.8:577:15.081/.082

ИММУНОДЕТЕКЦИЯ БАКТЕРИОФАГОВ С ПОМОЩЬЮ ПЬЕЗОЭЛЕКТРИЧЕСКОГО РЕЗОНАТОРА С ПОПЕРЕЧНЫМ ЭЛЕКТРИЧЕСКИМ ПОЛЕМ

© 2016 г. О. И. Гулий** ***, Б. Д. Зайцев****, А. М. Шихабудинов****, А. А. Теплых****, И. А. Бородина****, С. А. Павлий****, О. С. Ларионова**, А. С. Фомин* ***, С. А. Староверов** ***, Л. А. Дыкман*, О. В. Игнатов*

*Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов, 410049

**Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова, Саратов,
410012

***Саратовский научно-исследовательский ветеринарный институт РАН, Саратов,
410028 ****Саратовский филиал Института радиотехники и электроники им. В.А.
Котельникова РАН, Саратов, 410019

*****Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов,
410005

e-mail: gulyi_olga@mail.ru

Поступила в редакцию 12.11.2015 г.

Показана возможность детекции бактериофагов с помощью поликлональных антител методом электроакустического анализа. Установлено, что частотные зависимости реальной и мнимой частей электрического импеданса резонатора с суспензией вирусов с антителами значительно отличались от зависимостей резонатора с контрольной суспензией вирусов без антител. Показано, что бактериофаги ФА1-Sp59b детектировались с помощью антител в присутствии посторонних вирусных частиц. Содержание бактериофагов ФА1-Sp59b в анализируемой суспензии составляло от $\sim 10^{10}$ до 10^6 фагов/мл, а время анализа не превышало 5 мин. Оптимально информативным параметром для получения достоверной информации являлось изменение реальной или мнимой частей электрического импеданса на фиксированной частоте вблизи резонанса при внесении в

исследуемую суспензию специфических антител. Показана возможность регистрации взаимодействия бактериофагов с антителами, что открывает перспективы разработки биологического датчика для идентификации и определения вирусов в жидкой фазе.

DOI: 10.7868/S0555109916040061