

ТРАНСФОРМАЦИЯ СТЕРОИДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ АКТИНОБАКТЕРИЯМИ (ОБЗОР)

© 2007 г. М.В.Донова

*Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К.Скрябина РАН, Пушкино,
Московская обл., 142290; e-mail: donova@ibpm.pushchino.ru*

Современное развитие фармацевтической промышленности нацелено на широкое внедрение биотехнологических процессов и замену ими многостадийных химических синтезов. Актинобактерии являются эффективными биокатализаторами многих процессов биоконверсии стероидов, имеющих важное значение для синтеза фармацевтических гормональных препаратов. Биокаталитический потенциал этих микроорганизмов в отношении широкого ряда стероидных субстратов позволяет прогнозировать их эффективное использование для создания новых технологий получения стероидных фармсубстанций. В обзоре впервые систематизированы данные о биокаталитических возможностях актинобактерий в отношении различных реакций трансформации стероидов, таких, как гидроксילирование, введение и восстановление двойной связи, окисление стероидных спиртов, восстановление кетонов, деэтерификация и деградация боковой цепи и др. Особое внимание уделено процессам, имеющим практическое значение для биотехнологии, и прогрессу, достигнутому в области биоконверсии стероидов, за последнее десятилетие.

ВОЗМОЖНОСТЬ ЗАМЕНЫ МОЛЕКУЛЯРНОГО КИСЛОРОДА ИСКУССТВЕННЫМИ АКЦЕПТОРАМИ ЭЛЕКТРОНОВ В РЕАКЦИЯХ, КАТАЛИЗИРУЕМЫХ АЛКОГОЛЬОКСИДАЗОЙ

© 2007 г. Г.П.Шумакович*, С.В.Шлеев*, О.В.Морозова*, М.В.Гончар**,
А.И.Ярополов*

**Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва, 119071; e-mail: yaropolov@inbi.ras.ru*

***Институт биологии клетки, НАН Украины, Львов, 79005*

Впервые спектрофотометрическими и электрохимическими исследованиями была показана возможность использования искусственных акцепторов электронов в реакциях, катализируемых алкогольоксидазой. Приведены кинетические характеристики реакций гомогенного каталитического окисления формальдегида органическими редокс-соединениями, относящимися к разным структурным группам (толуидиновый синий, метиленовый голубой, 2,6-дихлор-фенолиндофенол и п-бензохинон), заменяющими дикислород в этих реакциях. Наиболее эффективный искусственный акцептор электронов среди исследованных соединений - п-бензохинон, обладающий более высоким окислительно-восстановительным потенциалом.

РЕГУЛИРОВАНИЕ АКТИВНОСТИ ФЕНОЛОКСИДАЗЫ ОКСИДОМ СЕРЫ (IV) - ОСНОВА ПРОИЗВОДСТВА ВЫСОКОКАЧЕСТВЕННОГО РАСТВОРИМОГО ЗЕЛЕННОГО ЧАЯ

© 2007 г. Н.Т.Омиадзе*, Н.И.Мchedlishvili*, Н.Г.Пруидзе*, Л.К.Гулуа*,
М.О.Абутидзе*, К.Ш.Ахвледиани*, Э.Г.Квеситадзе*, В.Р.Аплаков**

* *Институт биохимии и биотехнологии им. С. В. Дурмишидзе АН Грузии, Тбилиси, 0159;*
[e-mail: chai@gol.ge](mailto:chai@gol.ge)

***Грузинский государственный университет субтропического хозяйства, 4600, Грузия*

Исследована возможность регулирования активности фенолоксидазы оксидом серы (IV). Установлено, что это соединение в отношении фенолоксидазы характеризуется сильной ингибиторной активностью обратимого и смешанного типа. Ингибиторное действие оксида серы (IV) относительно фенолоксидазы легло в основу создания новой биотехнологии производства растворимого зеленого чая, согласно которой в процессе его получения возрастает выход экстрактивного вещества, содержание фенольных соединений в пересчете на экстрактивное вещество; улучшаются органолептические характеристики продукции.

ОКИСЛЕНИЕ ЛЮМИНОЛА, КАТАЛИЗИРУЕМОЕ ПЕРОКСИДАЗОЙ, ВЫДЕЛЕННОЙ ИЗ ЛИСТЬЕВ КОРОЛЕВСКОЙ ПАЛЬМЫ

© 2007 г. И.С.Алпеева*, И.Ю.Сахаров**

**Химический факультет Московского государственного университета им.
М.В.Ломоносова, Москва, 119992*

***Российская экономическая академия им. Г.В. Плеханова, Москва, 113054;*
[e-mail: sakharov@enz.ehem.msu.ru](mailto:sakharov@enz.ehem.msu.ru)

Оптимизированы условия проведения реакции окисления люминола пероксидом водорода в присутствии пероксидазы (КФ 1.11.1.7), выделенной из листьев Королевской пальмы *Roystonea regia*. Показано, что диапазон рН (8.3—8.6), в котором регистрируется максимальная хемилюминесценция, одинаков для пероксидаз пальмы и хрена. Варьирование концентрации трис-буфера приводит к изменению интенсивности свечения, причем максимальная хемилюминесценция наблюдается в 30 мМ растворе. Предел чувствительности определения фермента по реакции окисления люминола пероксидом водорода составил 1 пМ. Принципиальной особенностью пероксидазы пальмы является генерирование ею более стабильного хемилюминесцентного сигнала, что в сочетании с ее собственной высокой стабильностью позволяет говорить о перспективности применения этого нового фермента в аналитической практике.

SIMULTANEOUS CO-IMMOBILIZATION OF GLUCOSE OXIDASE AND CATALASE IN THEIR SUBSTRATES

© 2007 г. G.Ozyilmaz*, S.S.Tukel**

*University of Mustafa Kemal, Faculty of Arts and Sciences Department of Chemistry 31040 Hatay, Turkey; e-mail: gozyilmaz@mku.edu.tr

**University of Cukurova Faculty of Arts and Sciences Department of Chemistry 01330 Adana, Turkey

Glucose oxidase (GOD) and catalase (CAT) were simultaneously co-immobilized onto magnesium silicate (florisil) by covalent coupling. Glucose was added in immobilization mixture and hydrogen peroxide which is the substrate of CAT was produced in coupling mixture during immobilization time. Therefore, co-immobilization of GOD and CAT was carried out in presence of both their substrate: glucose and hydrogen peroxide, respectively. The effect of glucose concentration in immobilization mixture on activities of GOD and CAT of co-immobilized samples were investigated. Maximum GOD and CAT activities were determined for samples co-immobilized in presence of 15 and 20 mM glucose, respectively. Co-immobilization of GOD and CAT in presence of their substrates highly improved the activity and reusability of both enzymes.

ТРАНСГЛИКОЗИЛИРОВАНИЕ L-АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ

© 2007 г. А.А.Маркосян*, Л.А.Абелян*, М.О.Адамян**, Ж.И.Акопян*, В.А.Абелян*

*Институт микробиологии НАН Армении, Абовян, Армения, 378510; e-mail: abelyan@sbc.com.my; balayan49@yandex.ru

** Биотехнологическая корпорация "Стевиан", Куала Лумпур, Малайзия, 50450

Циклодекстринглюканотрансфераза (ЦГТаза, КФ 2.4.1.19) из мезофильных, термофильных и галофильных бацилл, а также мальтаза (КФ 3.2.1.20) дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* использованы для трансгликозилирования аскорбиновой кислоты с крахмалом, мальтодекстрином, γ -циклодекстрином, а также мальтозой в качестве доноров гликозильных единиц. Наибольшей эффективностью обладала ЦГТаза из термофильных штаммов (степень трансгликозилирования выше 60%).

ВЛИЯНИЕ ЛИПОСОМ НА РОСТ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ *Mycobacterium smegmatis* К ИЗОНИАЗИДУ

© 2007 г. О.А.Трошкина*, Е.Г.Салина**, Г.М.Сорокоумова*, А.С.Капрельянц**, А.А.Селищева***

*Московская государственная академия тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова, Москва, 117571; e-mail: biotechnology@mtu-net.ru

**Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва, 119071; e-mail: arseny@inbi.ras.ru

***Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Москва, 119899

Исследовано влияние липосомальной формы изониазида (ИН) и липосом, не содержащих ИН, на рост *Mycobacterium smegmatis*. Методом флуоресценции определено, что доля взаимодействующих с *M. smegmatis* липосом составляет 1-3%. Выявлено ослабление эффективности ИН в липосомальной форме по сравнению с водным раствором, зависящее

от состава и концентрации липосом. Предварительно инкубирование микобактерий с липосомами приводило к понижению чувствительности *M. smegmatis* к ИН. Аналогичное явление наблюдалось при инкубировании *M. smegmatis* с олеиновой кислотой. Высказано предположение, что появление относительной резистентности к антибиотику *M. smegmatis* при использовании липидов в качестве углеродного субстрата связано с изменением метаболизма возбудителя и должно учитываться при испытаниях эффективности липосомальных форм антибиотиков *in vitro*.

АДАПТАЦИЯ АЭРОБНЫХ МЕТИЛОБАКТЕРИЙ К ДЕГРАДАЦИИ ДИХЛОРМЕТАНА

© 2007 г. М.Л.Торгонская, Ю.Е.Фирсова, Н.В.Доронина, Ю.А.Троценко
Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К.Скрябина РАН, Пуцино,
142290; e-mail: trotsenko@ibpm.pushchino.ru

Обнаружено сокращение лаг-периода в потреблении дихлорметана (ДХМ) у метилобактерий *Methylopila helvetica* ДМ6 и *Albibacter methylovorans* ДМ10, предварительно выращенных на среде с метанолом в присутствии 1.5% NaCl. Тепловой и кислотный стрессы не ускоряли адаптацию метилобактерий к использованию ДХМ. NaN₃ (1 мМ) и KCN (1 мМ) ингибировали потребление CH₂Cl₂ деструкторами, в отличие от трансконъюгантов *Methylobacterium extorquens* АМ1, экспрессирующих ДХМ-дегалогеназу, но не способных к росту на ДХМ, что свидетельствует о наличии у штаммов-деструкторов энергозависимых систем транспорта CH₂Cl₂ или хлор-ионов, образующихся при дегалогенировании ДХМ. В мембранной фракции клеток *A. methylovorans* ДМ10, адаптированных к ДХМ и повышенной концентрации NaCl, найдены индуцибельные белки.

ОСОБЕННОСТИ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ 2,4,6-ТРИНИТРОТОЛУОЛА В ОТНОШЕНИИ *Escherichia coli* K12

© 2007 г. Б.М.Куриченко, Н.А.Дениварова, Р.Э.Давыдов, Г.Ю.Яковлева
Казанский государственный университет, Казань, 420008; e-mail:
Yakovleva_Galina@mail.ru

Наличие в среде культивирования *Escherichia coli* K12 200 мг/л 2,4,6-тринитротолуола (ТНТ) сопровождалось уменьшением общего количества клеток, количества колониеобразующих единиц (КОЕ), увеличением проницаемости внешней липопротеидной мембраны и показателя преломления клеток. Отмечалось изменение формы части клеток с палочковидных на кокковидные, уменьшались их размеры. Отмечалось уменьшение удельной скорости утилизации глюкозы и количества НАДН (НАДФН) в клетках. Изменения морфофизиологических параметров носили обратимый характер и после снижения концентрации ТНТ в процессе культивирования стремились к нормализации.

TEMPERATURE CYCLING TO IMPROVE THE ETHANOL PRODUCTION WITH SOLID STATE SIMULTANEOUS SACCHARIFICATION AND FERMENTATION

© 2007 г. H.Z.Chen*, J.Xu*•••, Z.H.Li*

*State Key Lab of Biochemical Engineering, Institute of Process Engineering, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, P. R. China; [e-mail: hzchen@home.ipe.ac.cn](mailto:hzchen@home.ipe.ac.cn)

**Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, P. R. China

Simultaneous saccharification and fermentation (SSF) widely used in submerged state could be effective in solid state. Solid state SSF was first compared with solid state separate hydrolysis and fermentation on ethanol production. Ethanol yield using solid state separate hydrolysis and fermentation (SHF) in 5 days was only half of that in solid state SSF in 3 days. In solid state SSF, the ethanol concentration using temperature cycling (10 h at 37°C followed by 15 min at 42°C) was 2 times that using constant 37°C within 72 h, reached 5.2%.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГРИБНОГО МЕЛАНИНА И ГУМИНОПОДОБНЫХ ВЕЩЕСТВ, СИНТЕЗИРУЕМЫХ *Cerrena maxima* 0275

© 2007 г. О.В.Королёва*, Н.А.Куликова**, Т.Н.Алексеева***, Е.В.Степанова*, В.Н.Давидчик*, Е.Ю.Беляева**, Е.А.Цветкова*****

*Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва, 119071 [e-mail: vdavidchik@gmail.com](mailto:vdavidchik@gmail.com)

** Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва, 119992

***Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности РСХАН, Москва, 119021

****Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского, Москва, 117913 *Институт биоорганической химии НАН Белоруссии, Минск, 220141;

Проведены сравнительные исследования грибного меланина и двух препаратов высокомолекулярных гуминоподобных веществ, образующихся при твердофазном культивировании базидиомицета *Cerrena maxima* 0275, в течение 45 и 70 сут. Грибной меланин из *Aspergillus niger* и препараты гуминоподобных веществ, синтезируемых базидиальным грибом *C. maxima* 0275, близки по физико-химическим свойствам (элементный состав, поведение в кислотах и щелочах) и ауксиноподобной активности. На структурном уровне эти биополимеры значительно отличаются друг от друга. По данным ИК-спектроскопии, полученные гуминоподобные вещества, имеют большее сходство с природными гуминовыми кислотами и более разнообразны по функциональным группам по сравнению с грибными меланинами. Предполагается, что это связано с участием в образовании гуминоподобных веществ лакказы, включающим не только синтез этих полимеров, но и их модификацию и деградацию.

ВЗАИМОСВЯЗЬ СИНТЕЗА β -КАРОТИНА И ЗИГОТООБРАЗОВАНИЯ У ГЕТЕРОТАЛЛИЧНЫХ ШТАММОВ *Blakeslea trispora*

© 2007 г. Н.В.Калинина, В.М.Терешина, А.С.Меморская, Е.П.Феофилова
Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН, 117312 Москва; [e-mail: V.M.
Tereshina@inbox.ru](mailto:V.M.Tereshina@inbox.ru)

Впервые показано, что в условиях поверхностного культивирования при половом взаимодействии гетероталлических штаммов *Blakeslea trispora*, интенсивно образующих зигоспоры, наблюдалось снижение уровня каротиногенеза по сравнению с отдельно растущими штаммами. Напротив, при половом взаимодействии штаммов, не способных к зиготообразованию, происходила стимуляция каротиногенеза. В глубинной культуре зиготообразующие пары штаммов синтезировали значительно больше триспорных кислот, но меньше каротиноидов, чем штаммы, не образующие зигоспор. Обнаруженная обратная зависимость между зиготообразованием и каротиногенезом позволила предложить в качестве критерия для отбора каротиногенных пар штаммов их неспособность к зиготообразованию.

ГАЛАКТОЗИЛИРОВАННЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНОГО ХИТОЗАНА: ПОЛУЧЕНИЕ, СВОЙСТВА

© 2007 г. А.В.Ильина, В.П.Варламов
Центр "Биоинженерия" РАН, Москва, 117312; [e-mail: varlamov@biengi.ac.ru](mailto:varlamov@biengi.ac.ru)

Хитозан - бинарный гетерополисахарид, состоящий из остатков 2-ацетамид-2-дезоксид- β -D-глюкопиранозы и 2-амино-2-дезоксид- β -D-глюкопиранозы, связанных между собой β -гликозидной связью в разных соотношениях. Наличие первичной аминогруппы в структуре хитозана делает возможным синтез разнообразных производных. Методом активированных N-оксисукцинимидных эфиров с использованием лактобионовой кислоты получены галактозилированные производные низкомолекулярного хитозана со степенью замещения от 8 до 23% и исследованы их свойства (вязкость, растворимость, биodeградируемость). Производные хорошо растворимы при значениях pH выше константы кислотности аминогрупп хитозана (6.5). Расширение диапазона значений pH в сторону увеличения и наличие галактозных остатков служит предпосылкой к использованию последних при работе с биологическими объектами.

ВЫСОКОРАЗВЕТВЛЕННЫЙ ЗАПАСНОЙ ПОЛИГЛЮКАН В КЛЕТКАХ ТЕРМОАЦИДОФИЛЬНОЙ КРАСНОЙ МИКРОВОДОРОСЛИ *Galdieria maxima*

© 2007 г. И.Н.Стадничук*, Л.Р.Семёнова**, Г.П.Смирнова***, А.И.Усов***
*Институт биохимии им. А.Н.Баха РАН, Москва, 119071 [e-mail: stadnichuk@mail.ru](mailto:stadnichuk@mail.ru)
**Биологический факультет Московского государственного университета им.

М.В.Ломоносова, Москва, 119899

***Институт органической химии РАН, Москва, 119991

Термоацидофильная красная микроводоросль *Galdieria maxima* способна к гетеротрофному росту. Содержание углеводов *G. maxima* при гетеротрофии увеличивается в 4 раза, составляя до 60% сухого веса клетки. Возрастание уровня углеводов обусловлено

накоплением резервного α -глюкана. Согласно специфическому расщеплению до глюкозы под действием амилоглюкозидазы и типичному для полиглюканов высокому положительному удельному оптическому вращению, полисахарид можно отнести к багрянковому крахмалу. Данные спектроскопии ^1H -ЯМР и результаты метилирования показали, что средняя длина неразветвленных участков полисахаридной молекулы составляет 6-7 остатков глюкозы. Степень разветвления молекулы крахмала *G. maxima* превосходит разветвленность запасных полисахаридов других красных водорослей, а также гликогенов дрожжей и фитогликогенов цианобактерий.

ПОЛИСАХАРИДЫ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР *Silene vulgaris*

© 2007 г. Е.А.Гюнтер, Ю.С.Оводов

Институт физиологии Коми научного центра УрО РАН, Сыктывкар, 167982; e-mail: gunter@physiol.komisc.ru

Каллусные и суспензионные культуры смолевки обыкновенной продуцировали пектиновые полисахариды, близкие по строению пектинам интактного растения. В составе пектинов в качестве основных компонентов содержались остатки D-галактуроновой кислоты, галактозы, арабинозы и рамнозы. Максимальное содержание пектинов отмечено в каллусе. Моносахаридный состав арабиногалактанов, выделенных из каллусных клеток и культуральной среды, был близок, при этом сохранялось соотношение арабинозы и галактозы 1 : (2.3-6.5). Арабиногалактаны из клеток и культуральной среды суспензионной культуры также имели сходное строение, соотношение арабиноза-галактоза составляло 1 : (1.5—1.8). Арабиногалактаны суспензионных культур отличались повышенным содержанием остатков арабинозы и пониженным содержанием остатков галактозы в сравнении с каллусными культурами. Наибольшее содержание арабиногалактана обнаружено в культуральной среде суспензионных культур.

ДЕЙСТВИЕ МЕЖСОРТОВОГО ЗАМЕЩЕНИЯ ХРОМОСОМ ПШЕНИЦЫ *Triticum aestivum* L. НА АКТИВНОСТЬ ЛИПОКСИГЕНАЗЫ И ЕЕ СВЯЗЬ С ТЕХНОЛОГИЧЕСКИМИ СВОЙСТВАМИ МУКИ

© 2007 г. В.А.Труфанов*, М.Д.Пермякова*, Т.А.Пшеничникова**, М.Ф.Ермакова**, В.А.Давыдов*, А.В.Пермяков*, Е.В.Березовская*

**Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, 664033; e-mail: gluten@sifibr.irk.ru*

***Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, 630090; e-mail: wheatpsh@bionet.nsc.ru*

Изучено действие межсортового замещения отдельных пар хромосом (кроме 1В, 6D и 7A) у разнокачественных сортов пшеницы Саратовская 29 и Janetzki Probat на удельную активность липоксигеназы, зерновую продуктивность колоса и основные технологические свойства муки и теста. Показано, что замещение определенных хромосом у сорта-реципиента Саратовская 29 на гомологичные хромосомы сорта-донора Janetzki Probat приводит к достоверному изменению активности липоксигеназы и ряда показателей

качества. Определены корреляционные связи между активностью липоксигеназы и показателями физических свойств теста. Методом нативного ПААГ-электрофореза установлены три молекулярные формы липоксигеназы (Lpx-1, Lpx-2 и Lpx-3), различающиеся величиной поверхностного заряда и ферментативной активностью.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ К ИММУНОГЛОБУЛИНУ ЛОШАДИ В ИММУНОФЕРМЕНТНОМ АНАЛИЗЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ТОКСИНОВ И АНАТОКСИНОВ

© 2007 г. М.А.Буркин, И.А.Гальвидис, И.В.Яковлева, В.В.Свиридов

*Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва
РАМН e—mail: vsviridov@mtu-net.ru*

В результате иммунизации BALB/c мышей лошадиной противодифтерийной сывороткой получены IgG₁ моноклональные антитела (МК-АТ) 2В7Е4 к легким цепям иммуноглобулина лошади. В отличие от ряда коммерческих препаратов антител к лошадиным иммуноглобулинам, специфичных к цельной молекуле или Fc-фрагменту Ig, пероксидазный конъюгат МК-АТ 2В7Е4-ПХ не взаимодействовал с иммуноглобулинами человека, мыши, кролика, барана, а также лошадиным альбумином. Вместе с МК-АТ к бактериальным токсинам и коммерческими лошадиными антитоксинами полученный конъюгат использован как универсальный реагент в сэндвич-ИФА бактериальных токсинов/анатоксинов. Чувствительность определения дифтерийных токсина/анатоксина составила 0.0005 Lf/мл, столбнячных токсина и анатоксина - 20 LD₅₀/мл и 0.005 ЕС/мл соответственно. Аналогичный сэндвич-ИФА ботулинических анатоксинов при их групповом определении позволил выявлять до 0.02, 0.002, 0.001 ЕС/мл для типов А, В и Е, а селективный вариант возможен был лишь в отношении типа Е анатоксина (0.001 ЕС/мл).

О ВОЗМОЖНОСТИ ПЕРОРАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ РАСТВОРОВ БЕЛКОВ

© 2007 г. И.Л.Валуев*, Л.К.Старосельцева**, Л.И.Валуев*, Г.А.Сытов*,
М.В.Ульянова*, Л.В.Ванчугова*, Ю.А.Талызенков*, Н.А.Платэ*

**Институт нефтехимического синтеза им. А. В. Топчиева РАН, Москва, 119991; e-mail:
ivaluev@ips.ac.ru*

***Эндокринологический научный центр РАМН, Москва, 117335*

В опытах на животных показана принципиальная возможность проникновения в кровотоки нативных белков при пероральном введении их разбавленных растворов. Эксперименты, проведенные *in vitro*, позволили предположить, что использование разбавленных растворов приводит к уменьшению скорости протеолитического гидролиза белков, а также ускоряет их диффузию через слизистую оболочку кишечника.

УСОВЕРШЕНСТВОВАННЫЙ МЕТОД ФОТОМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ ЦИКЛОДЕКСТРИНГЛЮКАНОТРАНСФЕРАЗЫ

© 2007 г. Н.Г.Усанов, Е.А.Гильванова, П.А.Елизарьев, Е.А.Пруцакова, А.И.Мелентьев
Институт биологии УНЦ РАН. г. Уфа, 450054; e-mail: nikusa@anrb.ru

Усовершенствована методика спектрофотометрического определения активности циклодекстринглюканотрансферазы (**ЦГТазы**, КФ 2.4.1.19) с использованием в качестве окрашенного реагента фенолфталеина. Процедура включает в себя проведение ферментативной реакции в 2%-ном растворе крахмала при 40°C в течение 60 мин, внесение в реакционную смесь (0.5 мл) фенолфталеинового реагента (3.0 мл), приготовленного на основе 0.1 М калий-карбонатного буфера (рН 11.0) по особой методике и измерение оптической плотности полученной смеси при 553 нм. Активность вычисляли по формуле экспоненциального роста, связывающей величину падения оптической плотности относительно контроля и степень разведения фермента. Описываемый метод пригоден для работы в сравнительно широком диапазоне удельной активности β -ЦГТазы и не требует точного подбора степени разбавления анализируемых растворов.