

РОЛЬ ФОСФАТ-АККУМУЛИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ В БИОЛОГИЧЕСКОЙ ОЧИСТКЕ СТОЧНЫХ ВОД ОТ ФОСФОРА (ОБЗОР)

*А. Г. Дорофеев^{1, 2, *}, Ю. А. Николаев¹, А. В. Марданов³, Н. В. Пименов¹*

¹ Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Федеральный исследовательский центр “Фундаментальные основы биотехнологии” Российской академии наук
119071 Москва, Россия

² АО “Мосводоканал”
105005 Москва, Россия

³ Институт биоинженерии, Федеральный исследовательский центр “Фундаментальные основы биотехнологии” Российской академии наук
119071 Москва, Россия

*E-mail: DorofeevAG@mail.ru

Поступила в редакцию 22.06.2019

После доработки 24.07.2019

Принята к публикации 30.08.2019

Аннотация

Обзор посвящен микробиологическим аспектам биологического удаления фосфора из сточных вод. Кратко изложена история становления биотехнологии и открытия физиологической группы фосфат-аккумулялирующих бактерий (ФАО), осуществляющих биологическое удаление фосфора путем поглощения фосфатов и запасания их в виде внутриклеточных полифосфатов. Для ФАО характерен циклический тип метаболизма, реализующийся при циклической смене анаэробных/аэробных условий. В анаэробных условиях ФАО поглощают и запасают органические соединения за счет энергии деградации внутриклеточных полифосфатов. При смене анаэробных условий на аэробные или появлении альтернативного акцептора электронов, ФАО поглощают фосфаты и синтезируют внутриклеточные полифосфаты, используя для этих процессов накопленные в анаэробных условиях внутриклеточные полимерные источники углерода и энергии. Описаны основные представители ФАО, их метаболические модели и физиологические особенности. Рассмотрены основные принципы реализации

биотехнологии, используемые в практике очистки сточных вод от фосфора и других биогенных элементов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: биологическое удаление фосфора, фосфат-аккумулирующие организмы, *Candidatus Accumulibacter phosphatis*
DOI: 10.31857/S0555109920010055

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ БАКТЕРИЙ – ПРОДУЦЕНТОВ ЛИПОПЕПТИДОВ ДЛЯ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ (ОБЗОР)

И. В. Максимов^{1,*}, *Б. П. Сингх*^{2,**}, *Е. А. Черепанова*¹, *Г. Ф. Бурханова*¹, *Р. М. Хайруллин*¹

¹ Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Уфимского федерального исследовательского центра РАН
450054 Уфа, Россия

² Департамент биотехнологии Университета Мизорам
Аизавл, Индия

* E-mail: igor.mak2011@yandex.ru

** E-mail: bhimpratap@gmail.com

Поступила в редакцию 25.04.2019

После доработки 21.08.2019

Принята к публикации 30.08.2019

Аннотация

В обзоре приводятся современные сведения о липопептидах бактерий, преимущественно продуцируемых представителями рода *Bacillus*, играющих важную роль в защите растений от болезней грибной, бактериальной и вирусной этиологии, проявляющих фунгицидные, антибиотические, антивирусные и инсектицидные свойства, а также фитоиммунотенезирующую активность. Приведена структурная характеристика липопептидов, описаны гены, ответственные за их синтез, принципиальные методы выделения и количественного и качественного анализа антибиотиков. Указаны защитные механизмы растений, реагирующие на липопептиды и связанные с сигнальными системами, регулируемые салицилатами и жасмонатами. Обзорное сообщение обосновывает перспективность поиска штаммов среди ризосферных и эндофитных бактерий с целью создания

биопрепаратов для защиты растений от комплекса вредных организмов, стимуляции роста и продуктивности культур.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: защита растений, микроорганизмы, стимулирующие рост растений, липопептиды, патогены, системная устойчивость растений
DOI: 10.31857/S0555109920010134

КОНФОРМАЦИЯ МАКРОМОЛЕКУЛ ПОЛИМЕРА-НОСИТЕЛЯ И АКТИВНОСТЬ ИММОБИЛИЗОВАННОГО ФЕРМЕНТА

И. Л. Валув^{1,*}, *Л. В. Ванчугова*¹, *Л. И. Валув*¹

¹ Институт нефтехимического синтеза им. А.В.Топчиева Российской академии наук
119991 Москва, Россия

* E-mail: ivaluev@ips.ac.ru

Поступила в редакцию 27.02.2019

После доработки 22.06.2019

Принята к публикации 30.08.2019

Аннотация

Изучена зависимость активности иммобилизованного трипсина от конформации макромолекулы полимера-носителя. Методом флуоресцентной спектроскопии показано, что иммобилизация фермента на жесткой полимерной глобуле предотвращала ассоциацию его молекул и обеспечивала доступность активных центров даже для высокомолекулярного субстрата.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: трипсин, иммобилизация, декстран, полиакриламид
DOI: 10.31857/S0555109920010158

ОЧИСТКА ПРОТЕАЗЫ – АКТИВАТОРА ПРОТЕИНА С ПЛАЗМЫ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА, ПРОДУЦИРУЕМОЙ МИКРОМИЦЕТОМ *ASPERGILLUS OCHRACEUS* ВКМ F-4104D

С. К. Комаревцев¹, Е. А. Попова¹, В. Г. Крейер¹, К. А. Мирошников², А. А. Осмоловский^{1,*}

¹ Биологический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова
119234 Москва, Россия

² Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук
117997 Москва, Россия

* E-mail: aosmol@mail.ru

Поступила в редакцию 19.05.2019

После доработки 23.08.2019

Принята к публикации 30.08.2019

Аннотация

Разработан метод очистки протеазы – активатора протеина С плазмы крови человека из культуральной жидкости микромицета *Aspergillus ochraceus* ВКМ F-4104D. Свойства этого белка близки свойствам активатора протеина С из яда змеи *Agkistrodon contortrix contortrix*, который используется в современной лабораторной диагностике протеина С. Метод представляет собой комбинацию фракционирования сульфатом аммония и гидрофобной, ионообменной и гель-проникающей хроматографии. В результате был получен высокоочищенный препарат активатора протеина С, удельная активность которого в процессе очистки возросла более чем в 350 раз.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: активатор протеина С, хроматография, протеазы микромицетов

DOI: 10.31857/S0555109920010092

КЛОНИРОВАНИЕ ГЕНОВ НУКЛЕОЗИДФОСФОРИЛАЗ ИЗ ЭКСТРЕМОФИЛЬНОЙ БАКТЕРИИ *HALOMONAS CHROMATIREUCENS* AGD 8-3, КОНСТРУИРОВАНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ШТАММОВ-ПРОДУЦЕНТОВ ЭТИХ БЕЛКОВ И ИССЛЕДОВАНИЕ ИХ ФЕРМЕНТАТИВНЫХ СВОЙСТВ

А. Н. Антипов¹, Н. Н. Мордкович¹, Т. В. Хижняк², Н. А. Окорокова¹, В. П. Вейко^{1,*}

¹ Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр “Фундаментальные основы биотехнологии” Российской академии наук 119071 Москва, Россия

² Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Федеральный исследовательский центр “Фундаментальные основы биотехнологии” РАН 119071 Москва, Россия

* E-mail: vladveiko@yahoo.com

Поступила в редакцию 14.06.2019

После доработки 20.08.2019

Принята к публикации 30.08.2019

Аннотация

Клонированы гены тимидинфосфорилазы (*deoA*) и пурииннуклеозидфосфорилазы (*deoD*) из экстремофильной бактерии *Halomonas chromatireducens* AGD 8-3. Сконструированы экспрессионные плазмиды и получены высокоэффективные рекомбинантные штаммы – продуценты этих белков. Рекомбинантные нуклеозидфосфорилазы выделены методами ионообменной хроматографии в гомогенном состоянии, исследованы их физические и ферментативные свойства. Показано, что изучаемые тимидинфосфорилаза (HrTRP) и пурииннуклеозидфосфорилаза (HrPNP) формируют димерную и гексамерную формы, соответственно. Выявлена повышенная по отношению к тимидину (в сравнении с ее аналогом из *Escherichia coli*) удельная активность тимидинфосфорилазы из экстремофильной бактерии *H. chromatireducens* AGD 8-3.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: тимидинфосфорилаза, пурииннуклеозидфосфорилаза, *Halomonas chromatireducens* AGD 8-3, ферментативный катализ

DOI: 10.31857/S055510992001002X

СКРИНИНГ УСЛОВИЙ РЕФОЛДИНГА И ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО АНТИСТАФИЛОКОККОВОГО ЭНДОЛИЗИНА LYSK_{CA} В АКТИВНОЙ ФОРМЕ ИЗ ТЕЛЕЦ ВКЛЮЧЕНИЯ *E. COLI*

А. В. Жидецкий^{1, *}, С. Г. Голенченко¹, В. А. Прокулевич¹, М. В. Шолух¹

¹ Белорусский государственный университет, биологический факультет
220030 Минск, Беларусь

* E-mail: Zhydzenski@gmail.com

Поступила в редакцию 17.04.2019

После доработки 29.07.2019

Принята к публикации 30.08.2019

Аннотация

Предложен пошаговый скрининг основных характеристик рефолдинг-буфера, с использованием которого из телец включения *E. coli* получен в активной форме рекомбинантный антистафилококковый эндолизин LysK, содержащий два каталитических домена – СНАР и амидазу-2. Определены оптимальные значения рН, температуры, окислительно-восстановительного потенциала рефолдинг-буфера и установлены оптимальные конечные концентрации белка, мочевины и тип антиагрегационного соединения. Выяснен состав системы ренатурации антистафилококкового эндолизина, который при 10°C и разведении целевого белка до конечной концентрации 150 мкг/мл содержал 20 мМ натрий-фосфатного буфера, рН 7.4, содержащего 2.5 мМ ДТТ и 0.4 М сахарозы. Выход рефолдинга после масштабирования составил $29.5 \pm 6.7\%$, что позволило получить 16 ± 2.3 мг целевого белка из 2.25 г отмытых телец включения с ферментативной активностью $1.8 \pm 0.73 \times 10^3$ МЕ/мг.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: рекомбинантный эндолизин LysK_{CA}, рефолдинг белков, тельца включения, скрининг условий ренатурации
DOI: 10.31857/S055510992001016X

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА СИНТЕЗ ПОЛИ-3-ГИДРОКСИБУТИРАТА КЛУБЕНЬКОВЫМИ БАКТЕРИЯМИ *RHIZOBIUM PHASEOLI*

О. В. Космачевская¹, Е. В. Осипов¹, Чан Ван Ту², Фам Тхи Туэт Май², А. Ф. Топунов^{1,*}

¹ Институт биохимии им. А.Н.Баха, Федеральный исследовательский центр “Фундаментальные основы биотехнологии” Российской академии наук
119071 Москва, Россия

² Университет сельского и лесного хозяйства
251210 Тхайнгуен, Вьетнам

* E-mail: aftopunov@yandex.ru

Поступила в редакцию 09.07.2019

После доработки 20.08.2019

Принята к публикации 30.08.2019

Аннотация

Изучен синтез поли-3-гидроксимасляной кислоты (ПГБ) в клетках клубеньковых бактерий *Rhizobium phaseoli*, выращенных в глубинной культуре. Модифицирован метод Лоу для определения ПГБ, что позволило выделить и определить количество полимера непосредственно в биомассе. Только S-формы клеток *R. phaseoli* были способны к синтезу ПГБ. На богатой углеродом среде накопление ПГБ шло сильнее (примерно на 50%), а гранулы полимера были более ярко выражены. Синтез ПГБ увеличивался при понижении аэрации, а максимум содержания достигался к 35–40 ч роста. Было изучено влияние окислительного стресса, вызываемого пероксидом третбутила и бензилвиологеном на рост бактерий, синтезирующих ПГБ. Оба вещества негативно влияли на рост бактерий, при этом рост восстанавливался только у S-формы, синтезирующей ПГБ. Можно сделать вывод, что ПГБ является протектором для клубеньковых бактерий при окислительном стрессе. Максимальное содержание ПГБ в клетках *R. phaseoli* достигало 54% от сухой массы клеток, что превышает значения, ранее описанные для клубеньковых бактерий. Эта величина близка к значениям, характерным для бактериальных штаммов – продуцентов полимера, использующихся в биотехнологии. Можно сделать вывод, что клубеньковые бактерии, выращенные в глубинной культуре, могут быть потенциальными продуцентами ПГБ и других полигидроксиалканоатов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: клубеньковые бактерии, *Rhizobium phaseoli*, поли-3-гидроксибутират, R- и S-формы бактерий, окислительный стресс
DOI: 10.31857/S0555109920010109

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИЦЕЛИЯ И АНТИГЕНОВ РЯДА ВИДОВ МИКРОМИЦЕТОВ В ПОЧВЕННЫХ ЭКСТРАКТАХ МЕТОДОМ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

А. Е. Иванова^{1, 2, *}, А. С. Шутова¹, А. В. Ганнесен³, Ю. С. Лебедин⁴, С. А. Ерёмин¹

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова
119991 Москва, Россия

² Институт проблем эволюции и экологии им. А.Н. Северцова, РАН
119071 Москва, Россия

³ Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Федеральный
исследовательский центр “Фундаментальные основы биотехнологии” РАН
117312 Москва, Россия

⁴ ООО “ХЕМА”
105264 Москва, Россия

* E-mail: ivanovaane@gmail.com

Поступила в редакцию 24.12.2018

После доработки 20.08.2019

Принята к публикации 30.08.2019

Аннотация

Изучены 16 вариантов тест-систем (двухсайтовый сэндвич- и конкурентный иммуноферментный анализ) для определения в экстрактах почв концентрации антигенов микромицетов, некоторые из которых известны как условно-патогенные для человека. Проведена оценка корреляция количества биомассы грибов (длины растущего мицелия) и концентраций антигенов. Показано, что методы иммуноферментного анализа (ИФА) обладали высокой эффективностью при длительной (более 5 сут) инкубации образцов почвы для доразрастания микромицетов: количество антигенов, выявляемых данными методами, варьировало от 22 ед./мл (*Fusarium solani* F-142) до 540 ед./мл (*Aspergillus niger* F-273). Методы оказались малоэффективными при кратковременной инкубации, поскольку корреляции между увеличением длины гиф и количеством детектируемых антигенов в первые сутки культивирования не выявлено. Гифы грибов вырастали в среднем на 20–25 мм (до 53 мм у *A. niger* F-273), тогда как количество выявляемых антигенов в первые сутки не изменялось относительно контроля. Показана перспективность обоих методов ИФА для детекции ряда почвенных микромицетов – представителей родов *Aspergillus* (*A. flavus*, *A. fumigatus* и *A. niger*), *Fusarium* (*F. solani* и *F. poae*), и др. (*Alternaria alternata*, *Phoma*

lingham и *Mucor hiemalis*), при этом конкурентный ИФА оказался более эффективным.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: почвенные микроскопические грибы, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Alternaria*, антиген, антитело
DOI: 10.31857/S0555109920010080

**ВЛИЯНИЕ СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОГО СУБСТРАТА И
ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА
ПРОДУКТИВНОСТЬ, БИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ И
ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ ПРОФИЛИ
ЭКСТРАКТОВ *STAGONOSPORA CIRSI* S-47**

А. О. Берестецкий^{1,*}, М. Ю. Белозерова¹, Д. С. Прокофьева²

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений
196608 С.-Петербург, Россия

² Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии
человека ФМБА России
188663 Ленинградская обл., п., Кузьмоловский, Россия

* E-mail: aberestetskiy@vizr.spb.ru

Поступила в редакцию 27.02.2019

После доработки 01.08.2019

Принята к публикации 30.08.2019

Аннотация

Для определения токсигенного потенциала микогербицида на основе гриба *Stagonospora cirsi* S-47 исследовали влияние состава твердых и жидких питательных субстратов на выход экстрактивных веществ (ВЭВ) из культур этого микромицета, а также спектр биологической активности и хроматографические профили полученных экстрактов. Максимальный ВЭВ из культурального фильтрата (около 250 мг/л) был получен через 2 нед. культивирования *S. cirsi* S-47 на жидкой питательной среде с соевой мукой. Такое же время инкубации было необходимо для получения максимального ВЭВ (около 1.5 г/кг) при культивировании гриба на перловой крупе. Экстракты из культуральных фильтратов проявляли более широкий спектр биологической активности, по сравнению с экстрактами из твердофазных культур *S. cirsi* S-47. Максимальная фитотоксическая и антибиотическая

активность обнаружена у экстракта (экстрагент – хлористый метилен) трехнедельной культуры гриба на жидкой модифицированной среде Чапека, в таком же экстракте двухнедельной культуры обнаружена антиэстеразная активность. Цитотоксическую активность в отношении линии опухолевых клеток линии U251 проявлял экстракт (экстрагент этилацетат) из культурального фильтрата трехнедельной культуры гриба на жидкой среде ДМГ. Способ культивирования, а также состав питательной среды оказывали существенное влияние на набор продуцируемых грибом метаболитов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: *Stagonospora cirsii*, фитотоксичность, антимикробная активность, цитотоксичность, метаболиты грибов, стагонолид, гербарумин I, микогербицид

DOI: 10.31857/S0555109920010031

ОММОХРОМЫ *HERMETIA ILLUCENS*: ПОЛУЧЕНИЕ, ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК И АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ

А. Е. Донцов^{1,*}, Н. А. Ушакова^{2,**}, В. С. Садыкова^{3,***}, А. И. Бастраков²

¹ Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН
119334 Москва, Россия

² Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН
119071 Москва, Россия

³ Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков
им. Г.Ф. Гаузе РАН
119021 Москва, Россия

* E-mail: adontsovnick@yahoo.com

** E-mail: naushakova@gmail.com

*** E-mail: sadykova_09@mail.ru

Поступила в редакцию 19.02.2019

После доработки 24.05.2019

Принята к публикации 30.08.2019

Аннотация

Разработана методика выделения и очистки оммохромов – пигментов сложного глаза взрослой мухи *Hermetia illucens*. Выделенные оммохромы

проявляли флуоресценцию с максимумами эмиссии при 460–470 нм и 525–535 нм, интенсивность которой резко возрастала при их окислении пероксидом водорода. Методом тушения хемилюминесценции люминола определена антирадикальная активность оммохромов, величина константы составила $(1.2 \pm 0.5) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$. Мелкодисперсная смесь оммохромов в 0.1 М калий-фосфатном буфере, рН 7.4, с 2.0 мг/мл бычьего сывороточного альбумина проявляла антимикробную активность в отношении *B. subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 2091 и *Aspergillus niger* INA 00760. Сделано заключение, что имаго *H. illucens* – перспективный возобновляемый источник природных пигментов с высокими антиоксидантными характеристиками и антибактериальными свойствами.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: оммохромы, *Hermetia illucens*, антимикробная активность, антиоксидантная активность, флуоресценция
DOI: 10.31857/S0555109920010043

АНАЛИЗ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ФАГОВЫХ АНТИТЕЛ С КОМПЛЕМЕНТАРНЫМИ АНТИГЕНАМИ КЛЕТОК *HERBASPIRILLUM SEROPEDICAE* Z78 ЭЛЕКТРООПТИЧЕСКИМ ДАТЧИКОМ

О. И. Гулий^{1, 2, *}, Н. С. Величко¹, Ю. П. Федоненко¹, В. Д. Бунин³

¹ Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН
410049 Саратов, Россия

² Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова
410012 Саратов, Россия

³ EloSystem GbR
13407 Берлин, Германия

* E-mail: guliy_olga@mail.ru

Поступила в редакцию 06.06.2019

После доработки 23.08.2019

Принята к публикации 30.08.2019

Аннотация

Электрооптическим методом с применением фаговых антител к основным антигенам клеток *Herbaspirillum seropedicae* Z78 (ЭПСІ, КПСІ и ЛПС)

проведена оценка их комплементарного взаимодействия в системе антиген–антитело. Показано, что электрооптический анализатор позволяет разграничивать присутствие/отсутствие специфического взаимодействия фаговых антител с основными эпитопами бактериальной поверхности. Выявленные закономерности изменения электрофизических параметров хорошо согласовывались с компонентным составом антигенов *Herbaspirillum*, их топографическим распределением, а также были подтверждены результатами электронной микроскопии и дот-анализа. Продемонстрирована возможность применения метода электрооптического анализа для детекции *Herbaspirillum* spp. с экспонированными на их поверхности антигенами. Полученные результаты могут служить основой при создании теста для быстрого определения данных микроорганизмов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: фаговые антитела, липополисахарид, экстраклеточный липополисахарид, электрооптический датчик, детекция
DOI: 10.31857/S0555109920010079