

СИСТЕМЫ СЕКРЕЦИИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ФИТОПАТОГЕНОВ И МУТУАЛИСТОВ (ОБЗОР)

*Л. А. Ломоватская*¹, *А. С. Романенко*^{1,*}

¹ Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского
отделения РАН
664033 Иркутск, Россия

* E-mail: rom@sifibr.irk.ru

Поступила в редакцию 01.04.2019

После доработки 09.09.2019

Принята к публикации 01.10.2019

Аннотация

В настоящее время у бактерий выделяют девять систем секреции белков через клеточные мембраны, существенно различающиеся по сложности функционирования. Большинство данных о таких системах получено на патогенах животных, тогда как фитопатогенам, и, тем более, мутуалистическим видам бактерий посвящены лишь отдельные работы, не дающие общего представления об их роли в реализации вирулентности, а также их сходстве и различиях с аналогичными системами у бактериальных патогенов животных. В обзоре представлено современное состояние исследований о структурных и функциональных особенностях систем секреции фитопатогенов и мутуалистов, а также их значение в подавлении фитоиммунитета.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: системы секреции, фитопатогены, микросимбионты, субстраты секреции

DOI: 10.31857/S0555109920020105

БИОЧИП ДЛЯ ОДНОВРЕМЕННОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ ГЕНОВ БЕТА-ЛАКТАМАЗ И КАРБАПЕНЕМАЗ, ОБУСЛАВЛИВАЮЩИХ УСТОЙЧИВОСТЬ БАКТЕРИЙ К БЕТА-ЛАКТАМНЫМ АНТИБИОТИКАМ

М. Ю. Рубцова^{1,*}, *М. М. Уляшова*¹, *Ю. И. Поболелова*¹, *Г. В. Преснова*¹, *А. М. Егоров*¹

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

* E-mail: mrubtsova@gmail.com

Поступила в редакцию 05.09.2019

После доработки 15.10.2019

Принята к публикации 01.11.2019

Аннотация

Бактериальные бета-лактамазы и карбапенемазы обуславливают устойчивость возбудителей инфекционных заболеваний к классу бета-лактамных антибиотиков, включающих пенициллины, цефалоспорины, карбапенемы и монобактамы. Их широкое распространение среди бактерий-возбудителей инфекционных заболеваний человека и животных представляет глобальную угрозу. Разработан биочип с колориметрической детекцией на основе пероксидазы хрена для одновременной идентификации генов всех клинически значимых бета-лактамаз класса А и карбапенемаз классов А, В и D. На биочипе также определялись 25 замен в нуклеотидной последовательности бета-лактамаз класса А, кодирующие их ключевые замены аминокислотных остатков. Оптимизированы условия аллель-специфической гибридизации меченных биотином ДНК-мишеней с олигонуклеотидными зондами, иммобилизованными на поверхности биочипа. Для получения ДНК-мишеней разработан метод мультиплексной амплификации всех исследуемых генов в одной реакции с одновременным введением биотина. Апробация биочипа проведена с использованием смесей генов бета-лактамаз и карбапенемаз, а также 68 образцов ДНК, выделенных из клинических штаммов грамотрицательных бактерий. Общее время анализа образца ДНК составляло ~4 ч. Продемонстрирована высокая специфичность идентификации комбинаций генов исследуемых ферментов, что может быть использовано для исследования мультирезистентных бактерий.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: биочип, бета-лактамазы, карбапенемазы, гибридизационный анализ ДНК, мультиплексная ПЦР, пероксидаза, колориметрическая детекция

DOI: 10.31857/S0555109920020129

ДЕЙСТВИЕ Hg^{2+} НА HYDSL ГИДРОГЕНАЗУ ПУРПУРНОЙ СЕРНОЙ БАКТЕРИИ *Thiocapsa roseopersicina* BBS

Н. А. Зорин^{1,*}, А. С. Стародубов¹, А. А. Цыганков¹

¹ Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки “Федеральный исследовательский центр “Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук” 142290 Московской обл., Пушкино, Россия

* E-mail: zorin-na@mail.ru

Поступила в редакцию 10.07.2019

После доработки 20.09.2019

Принята к публикации 01.11.2019

Аннотация

Изучено ингибирующее действие хлорида ртути (II) на активность и структуру гидрогеназы *Thiocapsa roseopersicina* BBS (HydSL). Определена кинетика ее инактивации в присутствии различных концентраций ингибитора. Установлен необратимый характер действия Hg^{2+} и определены константы ингибирования гидрогеназы при разных температурах. Присутствие этого ингибитора в растворе фермента значительно снижало его стабильность и вызывало денатурацию при температуре выше 50°C. В течение процесса инкубации фермента с Hg^{2+} происходило обесцвечивание полосы поглощения в видимой области спектра, что указывало на разрушение железосерных кластеров. Сравнительный анализ ИК-Фурье-спектров гидрогеназы без добавления ингибитора и после инкубации с ним свидетельствовал о разрушении NiFe-активного центра.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: хлорид ртути (II), водород, гидрогеназа, инфракрасные спектры, NiFe-активный центр, железосерные кластеры
DOI: 10.31857/S0555109920020154

ВЫДЕЛЕНИЕ В ГОМОГЕННОМ СОСТОЯНИИ КОНСТИТУТИВНЫХ ИЗОФЕРМЕНТОВ СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ ИЗ ЩИТКОВ КУКУРУЗЫ И ИССЛЕДОВАНИЕ ИХ ХАРАКТЕРИСТИК

А. Т. Епринцев^{1,*}, *Д. Н. Федорин*¹

¹ “Воронежский государственный университет”
394018 Воронеж, Россия

* E-mail: bc366@bio.vsu.ru

Поступила в редакцию 02.09.2019

После доработки 30.09.2019

Принята к публикации 01.11.2019

Аннотация

Применение модифицированной 4-стадийной схемы очистки позволило получить электрофоретически гомогенные препараты конститутивных форм сукцинатдегидрогеназы из щитков кукурузы на поздних стадиях прорастания. Установлено, что изоферменты значительно отличались четвертичной структурой. Так, сукцинатдегидрогеназа 1 оказалась гетеротетрамером, а сукцинатдегидрогеназа 2 – гетеродимером. Обнаружено, что их основные каталитические и кинетические характеристики также различались, в частности, их сродство к субстрату (сукцинат) и значение рН-оптимума катализируемой реакции. Сукцинатдегидрогеназа 2 отличалась повышенной устойчивостью к специфическому ингибитору, малонату.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: изоформы, сукцинатдегидрогеназа, ДЭАЭ-целлюлоза, субъединица, константа Михаэлиса, рН-оптимум, ингибирование
DOI: 10.31857/S0555109920020063

ВТОРИЧНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ СИБИРСКИХ ШТАММОВ ГРИБОВ *Heterobasidion annosum* sensu LATO

Т. В. Антипова¹, В. П. Желифонова¹, Ю. А. Литовка^{2, 3}, И. Н. Павлов^{2, 3}, Б. П. Баскунов¹, А. А. Тимофеев^{2, 4}, А. Г. Козловский^{1, *}

¹ Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки “Федеральный исследовательский центр “Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук” 142290 Пушкино, Россия

² Институт леса им. В.Н. Сукачева Сибирского отделения Российской академии наук 660036 Красноярск, Россия

³ Сибирский государственный университет науки и технологий им. М.Ф. Решетнева 660049 Красноярск, Россия

⁴ Федеральный исследовательский центр “Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук” 660036 Красноярск, Россия

* E-mail: kozlovski@ibpm.pushchino.ru

Поступила в редакцию 29.09.2019

После доработки 15.10.2019

Принята к публикации 01.11.2019

Аннотация

Изучен состав вторичных метаболитов у базидиальных грибов рода *Heterobasidion*, выделенных на территории Средней и Западной Сибири, а также Южной Кореи. На основе морфолого-культуральных и молекулярно-генетических методов установлена принадлежность исследуемых культур к видам *H. annosum* (Fr.) Bref. (5 штаммов), *H. abietinum* Niemelä & Korhonen (4 штамма) и *H. ecrustosum* Tokuda, T. Hatt. & Y.C. Dai (1 штамм). В профиле метаболома трех штаммов *H. annosum* и всех штаммов *H. abietinum* преобладал фоманноксин. Два штамма *H. annosum* синтезировали близкие по структуре к фоманноксину соединения 2-(2-гидроксипропан-2-ил)-2,3-дигидробензофуран-5-карбальдегид и 2-(2-гидроксипропан-2-ил)-бензофуран-5-карбальдегид. У *H. annosum* 45-2 были идентифицированы фоманнозин и его предшественники. Показано, что состав ферментационной среды оказал влияние на количество и состав синтезируемых метаболитов. В условиях *in vitro* все исследуемые штаммы *H. annosum* и *H.*

abietinum проявляли фитопатогенное действие в отношении сеянцев *Pinus sylvestris* L., вызывая различной степени некротическое поражение стеблей и гибель растений. Более высокая фитопатогенность была характерна для штаммов *H. annosum*, максимальная агрессивность, наибольшее разнообразие соединений в профиле метаболома и активная продукция фоманноксина отмечена у *H. annosum* 45-2.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: *Heterobasidion annosum* sensu stricto, *Heterobasidion abietinum*, корневая губка, фитопатогенность, фоманноксин, фоманнозин
DOI: 10.31857/S0555109920020038

ВЛИЯНИЕ БЕЛОГО ФОСФОРА НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ, ПРОТЕОМ И КЛЕТочНУЮ МОРФОЛОГИЮ *Aspergillus niger*

А. З. Миндубаев^{1,*}, С. В. Кузнецова², В. Г. Евтюгин², А. Г. Даминова², Т. В. Григорьева², Ю. Д. Романова², В. А. Романова², В. М. Бабаев¹, Д. Н. Бузурова¹, Э. В. Бабынин², Е. К. Бадеева¹, С. Т. Минзанова¹, Л. Г. Миронова¹

¹ Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова ФИЦ Казанский научный центр РАН
420088 Казань, Россия

² “Казанский (Приволжский) федеральный университет”
420008 Казань, Россия

* E-mail: mindubaev-az@yandex.ru

Поступила в редакцию 21.06.2019

После доработки 10.10.2019

Принята к публикации 01.11.2019

Аннотация

В работе исследовали механизмы устойчивости штаммов *Aspergillus niger* AM1 и AM2 к белому фосфору. Показано, что присутствие белого фосфора в концентрации 0.25% в среде мало влияло на соотношение живых и мертвых клеток при выращивании грибов, то есть устойчивость к токсиканту у грибов была достаточно высока. Методами электронной микроскопии установлено увеличение толщины клеточной стенки гриба, барьера на пути проникновения белого фосфора в клетку. Методом MALDI показан биосинтез новых белков-ферментов, которые могли участвовать в

обезвреживании белого фосфора. Помимо этого, белый фосфор вызывал активацию метаболизма, сопровождающуюся ростом числа митохондрий в клетках.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: биодegradация, белый фосфор, конфокальная микроскопия, электронная микроскопия, протеомный анализ, масс-спектрометрия, *Aspergillus niger*
DOI: 10.31857/S0555109920020117

ИЗУЧЕНИЕ ДЕГРАДАЦИИ N-ФЕНИЛ-2-НАФТИЛАМИНА БАКТЕРИЯМИ *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*, *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*, *Clavibacter michiganensis* sp. *sepedonicus*

Л. Е. Макарова^{1, *}, А. С. Мориц¹, Н. А. Соколова¹, И. Г. Петрова¹, А. А. Семенов¹, Л. В. Дударева¹, М. С. Третьякова¹, А. В. Сидоров^{1, 2}

¹ Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН
664033 Иркутск, Россия

² Иркутский государственный медицинский университет Минздрава России
664003 Иркутск, Россия

* E-mail: makarova@sifibr.irk.ru

Поступила в редакцию 28.03.2019

После доработки 27.08.2019

Принята к публикации 30.08.2019

Аннотация

Изучен состав ароматических соединений в жидкой культуральной среде и в клетках бактерий *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*, *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*, *Clavibacter michiganensis* sp. *sepedonicus*, выращенных в присутствии негативного аллелопатического соединения N-фенил-2-нафтиламина (N-ФНА), обнаруженного в корневых экссудатах бобовых культур. Показано, что основные продукты его деградации N-ФНА – фталаты. Бактерии могут активно секретировать их во внешнюю среду и преобразовывать одни виды фталатов в другие путем изменения в их молекулах алкильных группировок, связанных эфирной связью с о-фталевой кислотой. Исследуемые бактерии различались по скорости деградации N-ФНА (10 и 100 мкМ), который по разному влиял на их жизнеспособность и рост. Предложены возможные механизмы регуляции состава бактерий и их

численности в ризосфере бобовых растений N-ФНА и фталатами, секретлируемыми корнями в экссудаты, а также фталатами, образовавшимися при деградации N-ФНА в клетках бактерий.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*, *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*, *Clavibacter michiganensis* sps. *Sepedonicus*, N-фенил-2-нафтиламин, фталаты, деградация
DOI: 10.31857/S0555109920010122

ВЛИЯНИЕ ЛЕКТИНОВ АЗОСПИРИЛЛ НА АКТИВНОСТЬ АСКОРБАТПЕРОКСИДАЗЫ И СОДЕРЖАНИЕ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ В КОРНЯХ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ ПРИ АБИОТИЧЕСКИХ СТРЕССАХ

С. А. Аленькина^{1,*}, В. Е. Никитина¹

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

* E-mail: alenkina_s@ibppm.ru

Поступила в редакцию 30.07.2019

После доработки 10.10.2019

Принята к публикации 01.11.2019

Аннотация

Изучали влияние лектинов двух штаммов азоспирилл, *Azospirillum brasilense* Sp7 (эпифит) и *Azospirillum brasilense* Sp245 (эндофит), на активность аскорбатпероксидазы и содержание аскорбиновой кислоты в корнях этиолированных проростков пшеницы (*Triticum aestivum* L.) при смоделированных абиотических стрессах, включающих действие гипо- (+5°C), гипертермии (+42°C), засоления (1%-ным NaCl), засухи (5%-ной сахарозой) и тяжелых металлов (CoSO₄, ZnSO₄, Pb(CH₃COO)₂ и CuSO₄). Показано, что оба лектина вызывали увеличение активности аскорбатпероксидазы и содержания аскорбата в корнях проростков при действии стрессовых факторов. На основании полученных данных высказано предположение, что антиоксидантное действие лектинов азоспирилл при абиотических стрессах вызывало защитный эффект этих белков по отношению к корням проростков пшеницы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ассоциативная азотфиксация, азоспириллы, лектины, корни проростков пшеницы, антиоксидантная система, аскорбатпероксидаза, аскорбиновая кислота, абиотические стрессы
DOI: 10.31857/S0555109920020026

УСИЛЕНИЕ ДОНОРОМ ОКСИДА АЗОТА ХОЛОДОИНДУЦИРОВАННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ И ОСМОПРОТЕКТОРНОЙ СИСТЕМ ЗЛАКОВ

Ю. Е. Колупаев^{1,*}, Е. И. Горелова¹, Т. О. Ястреб¹, Н. И. Рябчун², А. М. Резник²

¹ Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева
62483 Харьков, Украина

² Институт растениеводства им. В.Я. Юрьева Национальной академии
аграрных наук Украины
61060 Харьков, Украина

* E-mail: plant.biology.knau@gmail.com

Поступила в редакцию 30.07.2019

После доработки 10.10.2019

Принята к публикации 01.11.2019

Аннотация

Исследовали влияние прайминга семян озимых ржи (*Secale cereale* L., сорт Память Худоерко) и пшеницы (*Triticum aestivum* L., сорт Досконала) донором оксида азота нитропруссидом натрия на их морозоустойчивость. Донор оксида азота (0.1–0.5 мМ) повышал способность проростков обоих злаков к холодovому закаливанию (6 сут при 2–4°C), вследствие этого значительно увеличивалось их выживание после промораживания при –6 и –8°C. Обработка семян нитропруссидом натрия способствовала повышению содержания в проростках злаков сахаров, пролина, антоцианов и флавоноидов, поглощающих в УФ-В. В них также наблюдали увеличение активности супероксиддисмутазы и гваяколпероксидазы. После холодovого закаливания и особенно после промораживания содержание малонового диальдегида (продукта пероксидного окисления липидов) в проростках, выращенных из семян, праймированных нитропруссидом натрия, было ниже, чем в соответствующих контролях. Сделано заключение об усилении

оксидом азота холодоиндуцированной активации антиоксидантной и осмопротекторной систем злаков.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: оксид азота, прайминг, низкомолекулярные антиоксиданты, антиоксидантные ферменты, морозоустойчивость, озимые злаки

DOI: 10.31857/S0555109920020099

АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ И ИММУНОМОДУЛИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА НА МОДЕЛИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ТУБЕРКУЛЕЗА МЫШЕЙ

О. В. Калмантаева^{1,*}, В. В. Фирстова¹, Н. С. Грищенко¹, Т. И. Рудницкая¹, В. Д. Потапов¹, С. Г. Игнатов¹

¹ “Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии” Роспотребнадзора
142279 Московская обл., Оболенск, Россия

* E-mail: kalmantaevaov@yandex.ru

Поступила в редакцию 16.09.2019

После доработки 10.10.2019

Принята к публикации 01.11.2019

Аннотация

Исследовали антибактериальную активность наночастиц серебра размером 43.6 ± 10.7 нм в отношении штамма *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv в экспериментах *in vitro* (изученные концентрации наночастиц 0.1, 1.0, 10, 25 и 50 мкг/мл) и на экспериментальной мышинной модели хронического туберкулеза. Показано, что наночастицы серебра в концентрации 50 мкг/мл подавляли рост микобактерий *in vitro* в 2 раза. Ингаляционное введение наночастиц серебра в дозе 0.1 мг/кг мышам, больным туберкулезом, приводило к снижению обсемененности легких и селезенки *M. tuberculosis* на 2 порядка. У этих животных снижалось количество белка в жидкости бронхолегочного лаважа в 2 раза до показателя 1908.5 ± 105.7 ($P < 0.001$), что свидетельствовало об уменьшении воспалительных процессов в легких; увеличивался уровень продукции активных форм кислорода нейтрофилами, отражающий их бактерицидный потенциал, который до лечения был снижен в 2.7 раза по сравнению с контрольной группой животных ($P < 0.001$). После введения наночастиц серебра было отмечено восстановление соотношения

популяций лимфоцитов в селезенке и цитокинового баланса, выраженное в снижении уровней интерферона-гамма (ИФН- γ), фактора некроза опухоли-альфа (ФНО- α) и интерлейкина-4 (ИЛ-4) в сыворотке крови и жидкости бронхо-легочного лаважа у больных туберкулезом мышей. Таким образом, впервые было показано, что ингаляционное введение наночастиц серебра, стабилизированных поливинилпирролидоном, приводило не только к заметному бактерицидному эффекту, но и восстанавливало баланс иммунной системы мышей.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: *Mycobacterium tuberculosis*, наночастицы серебра, лимфоциты, нейтрофилы, проточная цитофлюорометрия, цитокины, окислительный взрыв
DOI: 10.31857/S0555109920020087

ИММОБИЛИЗАЦИЯ МИКРОБНЫХ КЛЕТОК НА ПОЛИМЕРНЫХ МАТРИЦАХ, МОДИФИЦИРОВАННЫХ ПЛАЗМЕННОЙ ОБРАБОТКОЙ

О. И. Гулий^{1, 2, *}, В. В. Симаков³, О. А. Караваева¹, А. В. Смирнов⁴

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 Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского
410005 Саратов, Россия

⁴ Институт радиотехники и электроники им. В.А. Котельникова РАН
125009 Москва, Россия

* E-mail: guliy_olga@mail.ru

Поступила в редакцию 05.09.2019

После доработки 15.10.2019

Принята к публикации 01.11.2019

Аннотация

Показана возможность иммобилизации микробных клеток на полимерных матрицах, модифицированных плазменным травлением. На примере микробных клеток *Azospirillum brasilense* Sp7, *A. lipoferum* Sp59b и *Escherichia coli* XL-1 установлено, что эффективность иммобилизации биологических объектов зависит от времени обработки полимерных пленок в плазме. Обработка пленки полистирола в плазме высокочастотного разряда позволяла существенно увеличить время жизни клеток, иммобилизованных на ее поверхности. Показано, что оптимальное время обработки пленок в плазме составляло 30 с, время для иммобилизации микробных клеток ~ 20 мин, после иммобилизации бактерии сохраняли жизнеспособность до 6 мес. Предложено использование полимерных матриц, модифицированных плазменным травлением, в качестве носителя для иммобилизации клеток при создании биосенсоров.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: иммобилизация, микробные клетки, пленки полистирола, плазменное травление, капиллярная конденсация
DOI: 10.31857/S0555109920020075