

АНТИСТРЕССОВОЕ ПЕРЕКРЕСТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ БАКТЕРИЙ, АРХЕЙ И ДРОЖЖЕЙ (ОБЗОР)

© 2013 г. Л. И. Воробьева*, Е. Ю. Ходжаев*, Т. М. Новикова**, Е. М. Чудинова***

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

** Институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ, Москва, 119899

*** Институт белка РАН, г. Пуццино, 142290

e-mail: nvvorobjeva@mail.ru

Поступила в редакцию 12.12.2012 г.

В обзоре рассмотрены примеры специфических и глобальных ответов микроорганизмов и особенности стрессовых ответов с участием внеклеточных метаболитов сигнального действия. Обобщена информация о защитном и реактивирующем действии активных экзометаболитов представителей доменов бактерий, архей и эукариот и показаны междоменные перекрестные стрессовые ответы.

DOI: 10.7868/S0555109913040144

УДК 612.08

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ АКТИВАТОРОВ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО АТФ-ЗАВИСИМОГО КАЛИЕВОГО КАНАЛА С ПОМОЩЬЮ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ИНДИКАТОРА AMPLEX RED

© 2013 г. С. В. Мурзаева*, С. П. Белова**, Г. Д. Миронова**

* Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пуццино, 142290

** Пуццинский государственный университет, Пуццино, 142290

e-mail: svmurzaeva@rambler.ru

Поступила в редакцию 19.12.2012 г.

Проведено тестирование адаптогенов — антигипоксантов, участвующих в активировании митохондриального АТФ-зависимого калиевого канала (миток_{АТФ}), на окисление флуорогенного индикатора Amplex Red (AR) в пероксидазной системе. Показано, что экстралайф, гипоксен, таурин и синтетический антиоксидант ионол по активности ингибирования флуоресценции располагаются в ряд: экстралайф > гипоксен > ионол > таурин и их действие зависит от концентрации. Расчетные показатели K_i флуоресценции показывают быструю и медленную фазы ингибирования окисления AR экстралайфом и гипоксеном. Быстрая фаза происходит в присутствии микродоз адаптогенов (0.05—3 мкг/мл) и связана с конкуренцией за H_2O_2 , что согласуется с нашими предыдущими данными об активировании миток_{АТФ} такими дозами адаптогенов, связанными с расходом H_2O_2 . Медленная фаза характерна высокими концентрациями адаптогенов и ионола и связана с конкуренцией за феноксил радикалы резорфина, образуемые при окислении AR. Полученные результаты дают основание использовать высокочувствительную модельную пероксидажную систему с AR для предварительной оценки веществ, обладающих свойствами активаторов миток_{АТФ} канала.

DOI: 10.7868/S0555109913040107

UDC 577.156

DIFFERENTIAL FUSION EXPRESSION AND PURIFICATION OF A CYSTATIN IN TWO DIFFERENT BACTERIAL STRAINS

©2013 A. Gholizadeh

Research Institute for Fundamental Sciences (RIFS), University of Tabriz, Tabriz, Iran

e-mail: aghzjbioch@yahoo.co.in

Received October 1, 2012

To date, the identification of the novel multifunctional properties of cysteine proteinase inhibitors "known as cystatins" is the great of interests for molecular biologists. The efficient production, purification and correctly

folded form of these proteins are the most important requirements for their any basic research. To the best of our knowledge, maltose-binding protein (MBP) fusion tags are being used to overcome the impediment to their heterologous recombinant expression in *Escherichia coli* as insoluble and bio-inactive inclusion bodies. In the present work, to evaluate the expression efficiency of a cystatin molecule in *E. coli* cells by using MBP tags, the expression of *Celosia* cystatin was studied in two different strains of this bacterium. The quantitative analysis results based on the one-step purification yield of the fused product showed the excellency of the *E. coli* TBI strain in comparison to *E. coli* DH5 α for the high-level production of active product.

DOI: 10.7868/S0555109913040053

УДК 577.66:579.222

ТРАНСФОРМАЦИЯ 2- И 4-ЦИАНОПИРИДИНОВ СВОБОДНЫМИ И ИММОБИЛИЗОВАННЫМИ КЛЕТКАМИ НИТРИЛГИДРОЛИЗУЮЩИХ БАКТЕРИЙ

© 2013 г. Ю. Г. Максимова*, Д. М. Васильев**, Г. В. Овечкина*, А. Ю. Максимов*,**, В. А. Демаков*,**

* Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, 614081; e-mail: maks@iegm.ru

**Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, 614990

Поступила в редакцию 25.12.2012 г.

Изучена динамика трансформации 2- и 4-цианопиридина суспендированными и адсорбированными на неорганических носителях клетками штамма *Rhodococcus ruber* gtl, обладающего нитрилгидратазной активностью, и *Pseudomonas fluorescens* C2, содержащими нитрилазу. Определено, что и нитрилгидратазная, и нитрилазная активность по 2-цианопиридину у иммобилизованных клеток в 1.5—4 раза ниже, чем таковая по 4-цианопиридину, и в 1.6—2 раза ниже, чем активность свободных клеток по 2-цианопиридину. Показана возможность получения изоникотиновой кислоты при совместной конверсии 4-цианопиридина смешанной суспензией клеток штамма *R. ruber* gtl с высокой нитрилгидратазной активностью и *R. erythropolis* 11-2 с выраженной амидазной активностью. Показано, что иммобилизация клеток родококков на угле-сырце и клеток псевдомонад на каолине позволяет получить гетерогенный биокатализатор для эффективной трансформации цианопиридинов в соответствующие амиды и карбоновые кислоты.

УДК 759.873.088.5:661.185

ДЕЙСТВИЕ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ *Acinetobacter calcoaceticus* ИМВ В-7241, *Rhodococcus erythropolis* ИМВ Ас-5017 И *Nocardia vaccinii* К-8 НА ФИТОПАТОГЕННЫЕ БАКТЕРИИ

© 2013 г. Т. П. Пирог*,**, А. Д. Конон**, А. П. Софилканич**, Г. А. Иутинская*

* Институт микробиологии и вирусологии НЛН Украины, Киев, 03680

**Национальный университет пищевых технологий, Киев, 01601

e-mail: tapirog@nuft.edu.ua

Поступила в редакцию 5.07.2012 г.

Исследовано влияние поверхностно-активных веществ (ПАВ) *Rhodococcus erythropolis* ИМВ Ас-5017, *Acinetobacter calcoaceticus* ИМВ В-7241 и *Nocardia vaccinii* К-8 на фитопатогенные бактерии. Показано, что после обработки в течение 2 ч препаратами ПАВ (0.15—0.4 мг/мл) штаммов ИМВ Ас-5017 и ИМВ В-7241 выживаемость клеток (10^5 — 10^7 в мл) фитопатогенных бактерий родов *Pseudomonas* и *Xanthomonas* составляла 0—33%. В присутствии препаратов ПАВ (0.085—0.85 мг/мл) *N. vaccinii* К-8 количество клеток большинства исследуемых фитопатогенных бактерий снижалось на 95—100%. Полученные данные показывают перспективность использования микробных ПАВ для разработки экологически безопасных препаратов для контроля численности фитопатогенных бактерий.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА MFS-ТРАНСПОРТЕРА БЕТА-ЛАКТАМНЫХ АНТИБИОТИКОВ CefT В *Acremonium chrysogenum* И *Saccharomyces cerevisiae*

© 2013 г. М. В. Думина*, А. А. Жгун*, И. В. Керпичников*, А. Г. Домрачева*, М. И. Новак*, А. Я. Валиахметов**, Д. А. Кнорре***, Ф. Ф. Северин***, М. А. Эльдаров*, Ю. Э. Бартошевич*

* Центр "Биоинженерия" РАН, Москва, 117312; e-mail: DuminaMaria@gmail.com

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

*** Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ, Москва, 119899

Поступила в редакцию 26.12.2012 г.

Созданы вектора для экспрессии MFS транспортера CefT в *Acremonium chrysogenum*, продуцента бета-лактамного антибиотика цефалоспориноса С, в дрожжах *Saccharomyces cerevisiae* в виде гибридного белка, слитого с синим флуоресцентным белком CFP. Исследован характер субклеточной локализации CefT-CFP гибрида в клетках дрожжей. Показано, что гибридный белок CefT-CFP способен комплементировать функции генов *qdr3*, *tpo1*, *tpo3*, кодирующих ортологичные MFS-транспортеры сахаромикетов, обеспечивая устойчивость соответствующих штаммов к спермидину, бромистому этидию, гигромицину В. Методом агробактериального переноса получены трансформанты высокопродуктивного штамма *A. chrysogenum* ВКМ F-4081D, экспрессирующие ген *cefT-cfp*. Показано, что конститутивная экспрессия CefT в *A. chrysogenum* ВКМ F-4081D приводит к изменению профиля биосинтеза цефалоспориноса С и его предшественников: снижению содержания конечного продукта в культуральной жидкости на 25—35% при одновременном росте содержания его интермедиатов.

ВЛИЯНИЕ СТРУКТУРЫ СТЕРОИДНОЙ МОЛЕКУЛЫ НА НАПРАВЛЕНИЕ ГИДРОКСИЛИРОВАНИЯ ГРИБОМ *Curvularia lunata*

© 2013 г. В. А. Андрушина, В. В. Ядерец, Т. С. Стыщенко, А. В. Дружинина, Н. Е. Войшвилло

Центр "Биоинженерия" РАН, Москва, 117312

e-mail: andryushina@rambler.ru

Поступила в редакцию 08.11.2012 г.

Идентифицированы с помощью N^1 ПМР-спектроскопии, а также сравнением со стандартными образцами, основные и побочные продукты гидроксилирования мицелием *C. lunata* ВКМ F-981 четырнадцати Δ^4 -3-кетостероидов рядов эстрана, андростана и прегнана и шести их Δ^5 -3 β -гидроксиданалогов. Полученные экспериментальные данные рассмотрены с точки зрения треугольной модели субстрат-ферментного взаимодействия.

Выявлена зависимость направления гидроксилирования стероидной молекулы и ориентации гидроксигрупп от структуры исходного субстрата.

INDUCING EFFECT OF SALICIN FOR EXTRACELLULAR ENDOGLUCANASE SYNTHESIS IN *Rhizopus oryzae* PR7 MTCC 9642

© 2013 M. Karmakar and R. R. Ray

Microbiology Research Laboratory, Department of Zoology, Molecular Biology & Genetics,

Presidency University, Kolkata, 1700 073, India

e-mail: rina_ray64@yahoo.co.in

Received September 20, 2012

The induction of endoglucanase of *Rhizopus oryzae* PR7 MTCC 9642 has been observed in cultivation medium using a batch-fermentation technique. The effect of various experimental parameters such as use various carbon sources as inducers, concentration of inducer and effect of different additives were investigated. Salicin at concentrations from 0.25 to 0.75% (w/v) was found to bring about a remarkable increase in endoglucanase synthesis when used as a sole carbon source and thought to act as a gratuitous

inducer of the enzyme. Endoglucanase activity increased within 24 h after the addition of salicin, reached maximum after 48 h and maintained high level even after 120 h of fungal growth. Repression of enzyme synthesis by glucose could partially be restored by addition of salicin at an early phase of growth. The carboxymethyl cellulose induced enzyme was inhibited by cyclohexamide and ethidium bromide and partially recovered by the salicin which indicated that salicin might act at the transcriptional but not translational level.

DOI: 10.7868/S0555109913040077

UDC 577.154

PURIFICATION AND CHARACTERIZATION OF PECTIN LYASE SECRETED BY *Aspergillus flavus* MTCC 10938

© 2013 S. Yadav, A. K. Dubey, G. Anand, and D. Yadav

Department of Biotechnology, D.D.U. Gorakhpur University, Gorakhpur; 273009, India

e-mail: sangeetarahul@rediffmail.com

Received October 29, 2012

An indigenously isolated fungal strain *Aspergillus flavus* MTCC 10938 was subjected to pectin lyase (PNL) production under submerged fermentation conditions. The enzyme was purified to homogeneity from the culture filtrate of the fungus involving concentration by ultrafiltration, anion exchange chromatography on DEAE cellulose and gel filtration chromatography on Sephadex G-100. The purified PNL gave a single protein band in SDS-PAGE analysis with a relative molecular mass corresponding to 50 kDa. Using citrus pectin as the substrate the K_m and k_{cat} values of the enzyme lyase were obtained as 1.7 mg/mL and 66 s⁻¹, respectively. The optimum pH of the purified PNL from *A. flavus* MTCC 10938 was 8.0 and up to 90% of its activity retained in the pH range from 3.0 to 11.0 after 24 h incubation. The optimum temperature of the purified enzyme was revealed at 55°C and it was completely stable up to 40°C when exposed for 30 min. The purified *A. flavus* MTCC 10938 PNL showed efficient retting of *Crotalaria juncea* fibres.

DOI: 10.7868/S0555109913040156

УДК 579.66

БИОЛОГИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ ЗОЛОТЫХ НАНОЧАСТИЦ КСИЛОТРОФНЫМ БАЗИДИОМИЦЕТОМ *Lentinula edodes*

© 2013 г. Е. П. Ветчинкина*, А. М. Буров*, М. В. Агеева**, Л. А. Дыкман*, В. Е. Никитина*

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

**Казанский институт биохимии и биофизики РАН, Казань, 420111

e-mail: elenavetrus@yandex.ru

Поступила в редакцию 05.07.2012 г.

Показано, что лекарственный базидиомицет *Lentinula edodes* восстанавливал ионы золота из тетра-хлороаурат (III) водорода (тетрахлорозолотая кислота) — HAuCl_4 до элементного состояния с образованием сферических наночастиц. При глубинном выращивании культуры в присутствии золото-хлористоводородной кислоты было зафиксировано появление интенсивного сиренево-красного окрашивания мицелиальных гиф *L. edodes*, что может говорить о восстановлении ионов золота до золотых наночастиц. С использованием методов просвечивающей электронной микроскопии и рентгеновской флуоресценции наблюдали накопление коллоидного золота грибным мицелием в виде электронно-плотных сферических наночастиц диаметром от 5 до 50 нм как на поверхности, так и внутри грибных клеток.

DOI: 10.7868/S0555109913040132

ВЛИЯНИЕ АГРОБАКТЕРИАЛЬНЫХ ГЕНОВ *rol* НА СОДЕРЖАНИЕ, СТРОЕНИЕ ПЕКТИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ И АКТИВНОСТЬ ГЛИКАНАЗ В КУЛЬТУРАХ ТРАНСГЕННЫХ КЛЕТОК *Rubia cordifolia*

© 2013 г. Е. А. Гюнтер*, О. В. Попейко*, Ю. Н. Шкрыль**, Г. Н. Веремейчик**, В. П. Булгаков***, Ю. С. Оводов*

* Институт физиологии Коми НЦУрО РАН, Сыктывкар, 167982

e-mail: gunter@physiol.komisc.ru

** Биолого-почвенный институт ДВО РАН, Владивосток, 690022

e-mail: yn80@mail.ru

*** Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, 690950

e-mail: bulgakov@ibss.dvo.ru

Поступила в редакцию 08.10.2012 г.

Экспрессия гена *rolB* приводила к увеличению содержания пектинов в клетках марены сердцелистной (*Rubia cordifolia* L.), тогда как включение гена *rolC* вызывало снижение синтеза пектинов, которое зависело от уровня его экспрессии. В результате экспрессии генов *rolA*, *rolB* и *rolC* происходило увеличение содержания арабиногалактана (АГ) в клетках. С увеличением уровня экспрессии генов *rolB* и *rolC* происходило более существенное снижение содержания остатков арабинозы в пектине, что сопровождалось ростом активности α -L-арабинофуранозидазы в клетках. Кроме того, с увеличением уровня экспрессии гена *rolB* увеличивалось количество остатков галактозы в пектине, которое было обусловлено снижением активности Р-галактозидазы в клетках. Снижение содержания остатков галактуроновой кислоты в пектине усиливалось в ряду от *rolC* к *rolB* и *rolA* трансгенов. Независимо от типа гена снижалось содержание остатков арабинозы в АГ. С увеличением уровня экспрессии гена *rolB* происходило более существенное снижение содержания остатков арабинозы в АГ.

DOI: 10.7868/S0555109913040065

ВЫДЕЛЕНИЕ D-ГЛЮКОЗАМИНА ИЗ ХИТИН-ГЛЮКАНОВЫХ КОМПЛЕКСОВ

© 2013 г. С. Д. Артамонова*, Ф. Ф. Шарнина**

* Институт физической химии и электрохимии им. Л.Н. Фрумкина РАН, Москва, 119071

** Марийский государственный университет, Йошкар-Ола, 424000

e-mail: svetlana.artamonova@gmail.com

Поступила в редакцию 13.03.2012 г.

Изучены особенности кислотного гидролиза хитин-глюкановых комплексов (ХГК) высших грибов и разработана технология выделения и очистки из гидролизата D(+)-глюкозамина гидрохлорида высокого качества. Состав, свойства и чистота продукта проанализированы с использованием комплекса физико-химических методов. Выход конечного продукта составил 20—60% в зависимости от содержания хитина в образцах ХГК. Полученный аминсахар представлял собой белый кристаллический порошок без запаха, легко растворимый в воде, малорастворимый в 95%-ном этиловом спирте, нерастворимый в хлороформе, в других органических растворителях и по основным показателям соответствовал качеству стандартного 0(+)-глюкозамина гидрохлорида.

DOI: 10.7868/S0555109913030045

ВЛИЯНИЕ ЭФИРНОГО МАСЛА ОРЕГАНО НА ПРИВИВАЕМОСТЬ И РАЗВИТИЕ КАРЦИНОМЫ ЛЬЮИС У МЫШЕЙ-ГИБРИДОВ F1 DBA C57 BLACK

© 2013 г. Т. А. Мишарина, Е. Б. Бурлакова, Л. Д. Фаткуллина, Е. С. Алинкина, А. К. Воробьёва, И. Б. Медведева, В. Н. Ерохин, В. А. Семенов, Л. Г. Наглер, А. И. Козаченко

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

e-mail: mish@rambler.ru

Поступила в редакцию 06.11.2012 г.

In vivo изучено влияние приема эфирного масла орегано (*Origanum vulgare* L.) в малых дозах с питьевой водой в течение 3 мес. на степень прививаемости опухоли карциномы Льюис и на некоторые показатели окислительного стресса у мышей-гибридов линии F1 DBA C57 Black. Установлено, что эфирное масло орегано обладало противораковой активностью. Его прием снижал степень прививаемости опухоли в 1.8 раза, уменьшал ее размер в 1.5 раза и существенно ингибировал развитие опухоли у заболевших мышей. Найдено, что прием эфирного масла не влиял на интенсивность перекисного окисления липидов в мозге мышей и приводил к значительному (на 36%) снижению содержания вторичных продуктов окисления липидов по их реакции с тиобарбитуровой кислотой в липидах печени по сравнению с контролем. Установлено, что через 3 мес. приема эфирного масла в печени мышей увеличивалась активность антиоксидантных ферментов (в 1.5—3 раза) по сравнению с контрольной группой. Такое действие эфирного масла подтверждает наличие у него свойств биоантиоксиданта.

DOI: 10.7868/S0555109913040090

РЕЦЕНЗИИ

С.В. ПРУДНИКОВА, Т.Г. ВОЛОВА "ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ ПОЛИГИДРОКСИАЛКАНОАТОВ - АНАЛОГА СИНТЕТИЧЕСКИХ ПЛАСТМАСС: ЗАКОНОМЕРНОСТИ БИОРАЗРУШЕНИЯ В ПРИРОДНОЙ СРЕДЕ И ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С МИКРООРГАНИЗМАМИ". КРАСНОЯРСК: КРАСНОЯРСКИЙ ПИСАТЕЛЬ. 2012. 184 с.

DOI: 10.7868/S0555109913040120