

6. Жеребин Ю.Л., Мокан Ю.С. Способ получения водорастворимых меланинов. Киев, 1982. С. 240.
7. Лях С.П. Микробный меланогенез и его функции. М., 1981. С. 76.
8. Щерба В.В., Сенчук В.В., Курченко В.В. и др. // Вести НАН Беларуси. 1999. № 2. С. 49.
9. Остерман Л.А. Хроматография белков и нуклеиновых кислот. М., 1985. С. 535.
10. Климова В.А. Основные микрометоды анализа органических соединений. М., 1967. С. 207.
11. Занис Г.Ф. Функциональный анализ лигнинов и их производных. Рига, 1987. С. 87.
12. Сиггия С. Инструментальные методы анализа функциональных групп органических соединений. М., 1974. С. 80.
13. Дарбре А. Практическая биохимия белка. М., 1989. С. 250.
14. Белиньска Б., Симонович Б., Вильчок Т., Вучелич Д. // Биологические науки. 1991. № 5. С. 30.
15. Бокучаева М.А., Скобелева Н.И. Техническая биохимия. М., 1981. С. 241.
16. Ермаков А.И. Методы биологического исследования растений. Л., 1987. С. 343.
17. Чеботарев А.Н., Земляухин А.А. // Микробиология. 1973. Т. XLII. Вып. 5. С. 845.
18. Жданова Н.Н., Василевская А.И. Меланинсодержащие микромицеты в экстремальных условиях. Киев, 1988. С. 195.
19. Agodi S., Stefani S., Corsaro C., Campanile F. // Res. Microbiol. 1996. 147. №3. P. 167.
20. Панина Л.К., Бадалян А.Г. // Микология и фитопатология. 1997. Т. 31. Вып. 1. С. 46.

Поступила в редакцию 25.09.2000.

Курченко Владимир Петрович – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник НИЛ биохимии и обмена веществ БГУ.

Новиков Дмитрий Алексеевич – младший научный сотрудник НИЛ биохимии и обмена веществ БГУ.

УДК 579.841.11

Е.А. ХРАМЦОВА, Н.П. МАКСИМОВА

РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ БИОСИНТЕЗА ТРИПТОФАНА У БАКТЕРИЙ *PSEUDOMONAS MENDOCINA* VKMB1299 И *PSEUDOMONAS MARGINATA* VKMB1298

The regulation of tryptophan biosynthesis enzymes was studied in *Pseudomonas mendocina* and *Pseudomonas marginata*. Allosteric regulation of 3-deoxy-D-arabinoheptulosonate-7-phosphate-synthase (DAHPS) and anthranilate-synthase (AS) was demonstrated. AS of both bacteria is inhibited by tryptophan. DAHPS in *P. mendocina* is inhibited by tryptophan and tyrosine, whereas in *P. marginata* – by tyrosine and phenylalanine.

Общий участок ароматического пути у бактерий включает семь этапов, начинающихся реакцией конденсации фосфоенолпирувата и эритрозо-4-фосфата (рис. 1). Последующие шесть ферментативных реакций приводят к образованию хоризмата, который в свою очередь является общим предшественником для триптофана, фенилаланина, тирозина, убихинонов и других ароматических соединений. Непосредственно триптофановый путь включает шесть этапов последовательного превращения хоризмата в триптофан. Регуляция ферментов этого пути у бактерий осуществляется, как правило, на транскрипционном уровне путем репрессии, а также с помощью аллостерического ингибирования [1]. При изучении генетической регуляции биосинтеза триптофана у бактерий *P. mendocina* VKMB1299 и *P. marginata* VKMB1298 ранее нами было показано, что синтез ферментов шикиматного пути у них протекает конститутивно [2], а триптофановый путь регулируется репрессией синтеза трех ферментов – АС, ФРТ и ИнГФС [3]. Активности указанных ферментов в условиях избытка триптофана были низкими, что свидетельствовало о блокировании транскрипции генов *trpE*, *trpD* и *trpC*. Активности остальных ферментов триптофанового пути оставались практически неизменными независимо от концентрации триптофана в среде, что указывает на конститутивный характер их синтеза.



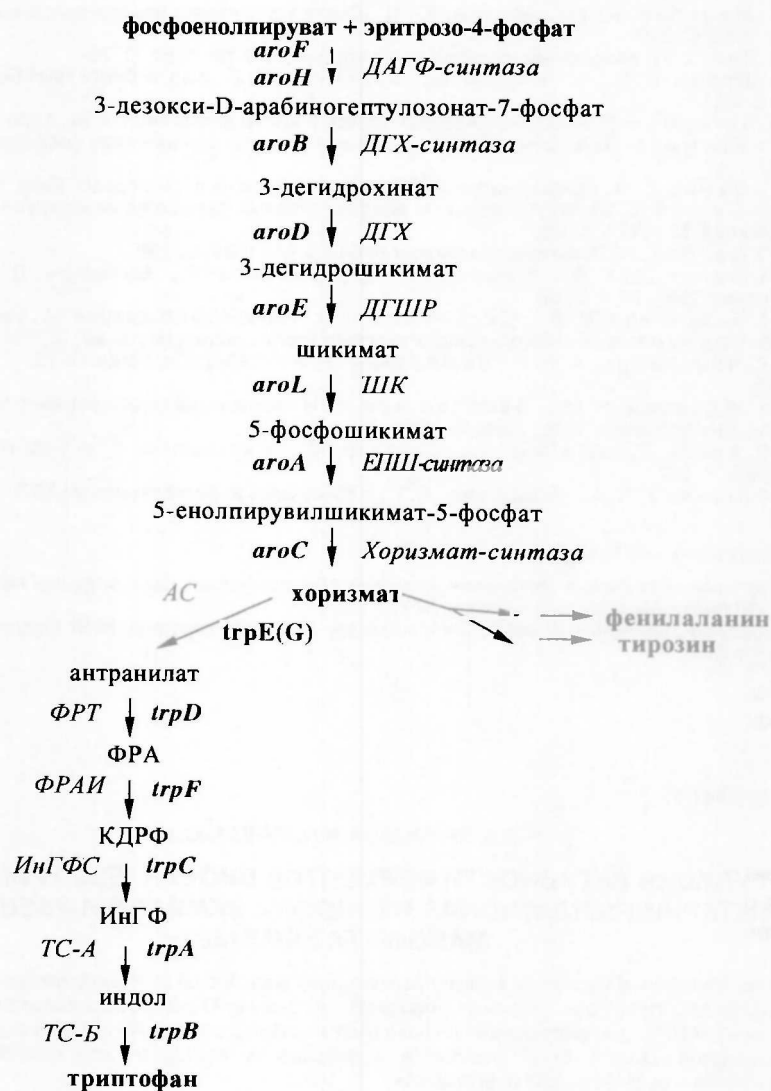


Рис. 1. Путь биосинтеза триптофана у бактерий *P. mendocina* ВКМВ1299:
 ДАГФ-синтаза – 3-дезоксид-Д-арабиногептулозонат-7-фосфат-синтаза; ДГХ-синтаза – дегидрохинат-синтаза; ДГХ – дегидрохинат; ДГШР – дегидрошикимат-редуктаза; ШК – шикимат-киназа; ЕПШ-синтаза – 3-енолпирувилшикимат-5-фосфат-синтаза; ФРА – N-5-фосфорибозилантранилат; КДРФ – 1-(o-карбоксифениламино)-1-дезоксидрибулозо-5-фосфат; ИнГФ – индол-3-глицерофосфат; АС – антранилат-синтаза; ФРТ – фосфорибозилтрансфераза; ФРАИ – фосфорибозилантранилатизомераза; ИнГФС – индол-3-глицерофосфат-синтаза; ТС-А – триптофан-синтаза-А; ТС-Б – триптофан-синтаза-Б

Целью данной работы было изучение регуляции активности ферментов биосинтеза триптофана у бактерий *P. mendocina* ВКМВ1299 и *P. marginata* ВКМВ1298.

Материал и методика

В работе использовали бактериальные штаммы *Pseudomonas mendocina* ВКМВ1299 и *Pseudomonas marginata* ВКМВ1298 из коллекции НИЛ молекулярной генетики бактерий. Культивирование бактерий осуществляли в жидкой минимальной среде М9 либо на агаризованных средах, содержащих 1,5 % агара [4]. Приготовление экстрактов клеток проводили как описано ранее [5]. Очистку клеточных экстрактов осуществляли на колонке с сефадексом G-25 (1x10 см). Активность 3-дезоксид-Д-арабиногептулозонат-7-фосфат-синтазы и триптофан-синтазы (Б-субъединицы) определяли стандартными методами [6, 7].

Результаты и их обсуждение

Известно, что у большинства бактерий *Pseudomonas* синтез первого фермента ароматического пути – ДАГФ-синтазы – регулируется путем ретроингибирования [8]. Изучение аллостерической регуляции этого фермента у бактерий *P. mendocina* и показало, что его активность ингибируется двумя аминокислотами – триптофаном и тирозином (таблица). При этом наиболее сильным ингибитором фермента оказался тирозин.

Ингибирование активностей ДАГФ-синтазы

Ароматические аминокислоты	Ингибирование %		
	2,5 мМ	1,0 мМ	0,5 мМ
<i>P. mendocina</i>			
Тирозин	75	69,9	63,7
Триптофан	51	45,6	42,5
Фенилаланин	0	0	0
<i>P. marginata</i>			
Тирозин	73	66,7	62
Триптофан	0	0	0
Фенилаланин	58	53	48

Примечание. * Концентрация ингибитора в реакционной смеси.

При изучении ретроингибирования ДАГФ-синтазы у *P. marginata* было показано, что в этом случае ингибиторами являются тирозин и фенилаланин, причем, как и в случае с *P. mendocina*, тирозин в наибольшей степени ингибировал активность фермента (см. таблицу). Выявление двух ингибиторов ДАГФ-синтазы у каждого из изучаемых штаммов, во-первых, указывает на относительное сходство их метаболических систем, а во-вторых, согласуется с известными данными о наличии у этих бактерий двух изоферментных форм ДАГФ-синтазы: ДАГФС-Tyr и ДАГФС-Phe для *P. mendocina*, что характерно для представителей 1а группы *Pseudomonas*, и ДАГФС-Tyr и ДАГФС-Trp для *P. marginata* – характерно для 2 группы *Pseudomonas* [8].

Ингибирование активности ферментов триптофанового пути, как уже указывалось, является универсальным механизмом регуляции синтеза триптофана у бактерий. Подобный тип регуляции свойствен большинству представителей *Pseudomonas* [5, 9, 10]. Как правило, ингибированию подвергается один фермент – анранилат-синтаза и в редких случаях дополнительно триптофан-синтаза (например, у бактерий *P. putida* M) [5].

При выполнении данной работы была изучена регуляция активности ферментов анранилат-синтазы и триптофан-синтазы у бактерий *P. mendocina* и *P. marginata*. Установлено, что, в отличие от *P. putida* M, у клеток изучаемых штаммов ингибируется триптофаном только анранилат-синтаза (рис. 2). Триптофан в концентрации 10 мМ вызывал почти полное ингибирование активности анранилат-синтазы у бактерий обоих штаммов, а 50 % ингибирование достигалось при концентрации триптофана 0,01 и 0,6 мМ соответственно.



Рис. 2. Ретроингибирование анранилат-синтазы (1) и триптофан-синтазы (2) у бактерий *P. mendocina* ВКМВ1299 (а) и *P. marginata* ВКМВ1298 (б)

Таким образом, анранилат-синтаза бактерий *P. mendocina* и *P. marginata*, так же как и у других *Pseudomonas*, ингибируется триптофаном, причем концентрация аминокислоты, вызывающая 50 % ингибирование у *P. mendocina*, почти такая же, как и для *P. putida* [5], а у бактерий *P. marginata* не-

сколько ниже. Как видно из рис. 2, в клетках *P. mendocina* и *P. marginata* фермент триптофан-синтаза не ингибируется триптофаном.

Таким образом, учитывая приведенные результаты, а также данные, полученные ранее при изучении генетической регуляции синтеза триптофана [2, 3], можно сделать вывод, что регуляция биосинтеза триптофана у изучаемых бактерий осуществляется двумя путями: посредством генетической регуляции генов *trpE*, *trpD* и *trpC*, а также с помощью ретроингибирования ферментов ДАГФ-синтазы и антранилат-синтазы. Подобный тип регуляции характерен для большинства представителей *Pseudomonas*.

1. Yanofsky C. // Mol. Biol. Evol. 1984. Vol. 1. P. 143.
2. Олехнович И.Н., Котик Е.А., Фомичев Ю.К. // Генетика. 1994. Т. 30. № 2. С. 285.
3. Котик Е.А., Олехнович И.Н., Фомичев Ю.К. // Там же. 1996. Т. 32. № 8. С. 1051.
4. Миллер Дж. Эксперименты в молекулярной генетике. М., 1976.
5. Олехнович И.Н., Максимова Н.П., Фомичев Ю.К. // Генетика. 1985. Т. 21. № 10. С. 1627.
6. Jensen R., Nester E.W. // J. Biol. Chem. 1966. Vol. 241. P. 3365.
7. Smith O., Yanofsky C. // Meth. Enzym. Ed. W. A. Wood. New York, 1962. Vol. 5. P. 794.
8. Byng G.S., Berry A., Jensen R.A. // J. Bacteriol. 1983. Vol. 156. P. 429.
9. Buvinger W.E., Stone L.C., Heath H. // J. Bacteriol. 1981. Vol. 147. P. 62.
10. Calhoun D.H., Pierson D.L., Jensen R.A. // Mol. Gen. Genet. 1973. Vol. 121. P. 117.

Поступила в редакцию 30.06.2000.

Храмцова Елена Аркадьевна – ассистент кафедры генетики и биотехнологии БГУ.

Максимова Наталья Павловна – кандидат биологических наук, доцент кафедры генетики и биотехнологии БГУ.

УДК 591.43

Л.Д. БУРКО, В.Б. ПЕТУХОВ

ФАУНА ПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ ГОСУДАРСТВЕННОГО ГИДРОЛОГИЧЕСКОГО (ОЗЕРНОГО) ЗАКАЗНИКА "БЕЛОЕ"

The assessment of vertebrates fauna present state in the state hydrological (laky) zakaznik "Beloe" was given. The list of vertebrates fauna includes 10 fish species and 102 species of terrestrial vertebrates including 8 amphibian species, 5 reptile species, 60 bird species and 29 mammalian species. Among the vertebrates both commercial and endangered species with international or national conservation status including 2 bird species (goosander *Mergus merganser* and common goldeneye *Bucephala clangula*) from "The Red Data Book of the Republic of Belarus" were recorded.

Одной из форм сохранения ландшафтного и биологического разнообразия является создание системы особо охраняемых природных территорий (ООПТ), среди которых важное место отводится заказникам – территориям с ограниченным режимом природопользования, целью создания которых является сохранение и восстановление природных комплексов и генофонда биоты [1].

Государственный гидрологический (озерный) заказник "Белое" был организован по предложению ученых и специалистов Белгосуниверситета на основании Постановления Совета Министров БССР от 16 августа 1979 г. № 252 "О создании государственных заказников на торфяных месторождениях и озерах республики".

Основанием для проведения настоящего исследования послужило отсутствие сведений о фауне позвоночных животных в обосновании по организации заказника и длительный срок его существования, за который могли произойти необратимые изменения природных и фаунистических комплексов. Инвентаризация фауны ООПТ необходима для осуществления государственного контроля за состоянием и режимом функционирования заказ-