

32. Timoshenko A.V., Cherenkevich S.N., Gabius H.-J. // Biomed. Pharmacother. 1995. V.49. P.153.
33. Timoshenko A.V., Kayser K., Kaltner H. et al. // Lung Cancer. 1996. V.14. P.75.
34. Timoshenko A.V., Gabius H.-J. // Planta Med. 1995. V.61. P.130.
35. Timoshenko A.V., Gabius H.-J. // Biol. Chem. Hoppe-Seyler. 1993. V.374. P.237.
36. Hajto T., Hostanska K., Frei K. et al. // Cancer Res. 1990. V.50. P.3322.
37. Büssig A., Suzart K., Bergmann J. et al. // Cancer Lett. 1996. V.99. P.59.
38. Hajto T., Hostanska K., Gabius H.-J. // Cancer Res. 1989. V.49. P.4803.
39. Тоневицкий А.Г., Агапов И.И., Фисенко А.П. // Биотехнология. 1995. №11. С.5.
40. Timoshenko A.V., Kayser K., Drings P. et al. // Res. Exp. Med. 1995. V.195. P.153.
41. Boxer L.A., Smolen J.E. // Hematol. Oncol. Clin. North Am. 1988. V.2. P.101.
42. Тимошенко А.В., Черенкевич С.Н. // Биополимеры и клетка. 1994. Т.10. С.58.
43. Erickson R.W., Malawista S.E., Garrett M.C. et al. // J. Clin. Invest. 1992. V.89. P.1587.
44. Тимошенко А.В., Черенкевич С.Н. // Гематол. Трансфузиол. 1995. Т.40. С.32.
45. Lafont V., Dornand J., Covassin L. et al. // J. Leukoc. Biol. 1996. V.59. P.691.
46. Barondes S.H. // Trends Biochem. Sci. 1988. V.13. P.480.
47. Gabius H.-J. // Int. J. Biochem. 1994. V.26. P.469.
48. Blasco E., Barra A., Nicolas M. et al. // Eur. J. Immunol. 1995. V.25. P.2010.
49. Lafont V., Dornand J., d'Angeas A.D. et al. // J. Leukoc. Biol. 1994. V.56. P.521.
50. Xu X.-C., El-Naggar A.K., Lotan R. // Am. J. Pathol. 1995. V.147. P.815.
51. Perillo N.L., Pace K.E., Seilhamer J.J., Baum L.G. // Nature. 1995. V.378. P.736.
52. Yamaoka A., Kuwabara I., Frigeri L.G., Liu F.-T. // J. Immunol. 1995. V.154. P.3479.
53. Schneller M., André S., Cihak J. et al. // Cell. Immunol. 1995. V.166. P.35.
54. Dong X., Amselgruber W.M., Kaltner H. et al. // Eur. J. Cell. Biol. 1995. V.8. P.96.
55. Timoshenko A.V., André S., Kaltner H. et al. // Br. J. Haematol. 1996. V.93. Suppl.2. P.99.
56. Sandberg A.L., Mudrick L.L., Cisar J.O. et al. // Infect. Immun. 1988. V.56. P.267.
57. Mangan D.F., Novak M.J., Vora S.A. et al. // Ibid. 1989. V.57. P.3601.
58. Shain D.C., Satata R.A., Ravdin J.I. // Ibid. 1992. V.60. P.2143.
59. Дуглас С.Д., Куи П.Г. Исследование фагоцитоза в клинической практике. М., 1983. С.112.
60. Segal A.W. // J. Clin. Invest. 1989. V.83. P.1785.
61. Hara N., Ichinose Y., Asoh H. et al. // Cancer. 1992. V.69. P.1682.
62. Itoh K., Nakao A., Kishimoto W. et al. // Gastroenterol. Jpn. 1993. V.28. P.541.
63. Kaplan S.S., Berkow R.L., Joyce R.A. et al. // Acta Haematol. 1992. V.87. P.16.
64. Kaffenberger W., Clasen B.P., van Beuningen D. // Clin. Immunol. Immunopathol. 1992. V.64. P.57.
65. Hara N., Ichinose Y., Motohiro A. et al. // Cancer. 1990. V.66. P.684.
66. Fukushima K., Ando M., Ito K. et al. // J. Clin. Lab. Immunol. 1990. V.33. P.117.
67. Timoshenko A.V., Kayser K., Drings P. et al. // Anticancer Res. 1993. V.13. P.1789.
68. Тимошенко А.В., Тимошенко А.П., Шляга И.Д. и др. // Здравоохранение. 1996. №2. С.10.
69. Тимошенко А.В., Горудко И.Е., Тимошенко А.П. // Тез. докл. IV съезда оториноларингологов Республики Беларусь. Мн., 1996. С.124.
70. Mukherjee N., Biswas T.K., Mitra S. et al. // J. Assoc. Physicians. India. 1991. V.39. P.172.
71. Descamps-Latscha B., Nguyen A.T., Feutren G. // J. Autoimmun. 1990. V.3. P.201.
72. Farinas M.C., Rodriguez-Valverde V., Zarrabeitia M.T. et al. // Cancer. 1991. V.68. P.1279.
73. Coulson I.H., Hurt G.R., Holden C.A. // Br. J. Dermatol. 1991. V.124. P.124.
74. Kindzelskii A.L., Xue W., Todd R.F. et al. // Blood. 1994. V.83. P.1650.
75. Zingde S.M., Anklesaria P.N., Advani S.H. et al. // Blut. 1987. V.55. P.81.
76. Hand W.L., Hand D.L., King-Thompson N.L. // Antimicrob. Agents Chemother. 1990. V.34. P.863.
77. Powell L.D., Varki A. // J. Biol. Chem. 1995. V.270. P.14243. •

Поступила в редакцию 22.11.96

УДК 577.152.314.14

А.М.КУЛЬБА, А.А.ЭЛЬГАММУДИ

ОБНАРУЖЕНИЕ РЕСТРИЦИРУЮЩИХ ЭНДОНУКЛЕАЗ У БАКТЕРИЙ РОДА AEROMONAS

Fifty two bacterial strains of the genus *Aeromonas* isolated from natural sources were screened for the presence of site-specific endonucleases. It was determined that 3 strains produced type II restriction endonucleases.

Рестрицирующие эндонуклеазы широко используются в различного рода генно-инженерных экспериментах для анализа первичной структуры ДНК, в других молекулярно-биологических и молекулярно-генетических исследовани-

ях. Хотя к настоящему времени описано более 2000 таких ферментов [1], поиск и выделение новых рестриктаз остаются актуальными прежде всего потому, что при этом могут быть обнаружены ферменты с новыми специфичностями. Кроме того, даже при выявлении изоизомеров уже известных рестриктаз обнаружение новых штаммов-продуцентов может оказаться полезным в связи с более дешевыми и простыми методами культивирования или менее сложной процедурой выделения.

Рестриктазы выявлены у бактерий более 70 различных родов, в том числе и представителей семейства Vibrionaceae, к которым относятся и бактерии рода *Aeromonas*. Однако у этих бактерий такие ферменты до сих пор не обнаружены.

В настоящей работе приводятся результаты исследования нуклеолитической активности бактерий *Aeromonas*, выделенных из природных источников.

Материал и методика

В работе использовано 52 штамма бактерий рода *Aeromonas*, для культивирования которых использовали полноценные жидкие и агаризованные среды.

Выявление рестриктаз осуществляли по модифицированному методу [2]. Электрофорез в агарозном геле и рестрикцию ДНК проводили согласно [3].

Результаты и их обсуждение

Способность синтеза рестриктаз бактериями *Aeromonas* выявляли путем электрофоретического анализа ДНК фага λ , обработанной частично очищенными фракциями экстрактов испытуемых клеток, разрушенных ультразвуком. На основании появления на электрофореграммах дискретных полос после воздействия на ДНК фага λ бесклеточными экстрактами анализируемых бактерий был сделан вывод, что бактерии штаммов *Aeromonas* sp.10, 28 и *A.hydrophila* 45 продуцируют рестрицирующие эндонуклеазы.

Остальные штаммы по степени нуклеолитической активности можно разделить на 4 группы (таблица): 1) штаммы, клетки которых характеризуются очень высокой нуклеазной активностью; 2) штаммы, бактерии которых отличаются меньшей активностью неспецифических нуклеаз; 3) штаммы с незначительной активностью неспецифических нуклеаз и 4) штаммы, у которых активность нуклеаз отсутствует.

Нуклеолитическая активность бактерий рода *Aeromonas*

Вид, штамм	Наличие нуклеолитической активности	
	рестрицирующей	неспецифической
<i>A.hydrophila</i> 35,39,41, 47,50, <i>Aeromonas</i> sp.5, 13,34	—	+++
<i>Aeromonas</i> sp.8,9,11,14, 15,20,22,31,32,40	—	++
<i>A.punctata</i> 1, <i>A.hydrophila</i> 2,3,36,52, <i>Aeromonas</i> sp.4,12,19,21,25, 33,48,51	—	+
<i>A.hydrophila</i> 37,38,44, <i>Aeromonas</i> sp.6,7,16,17, 18,24,26,27,29,30,43,46, 49	—	—
<i>A.hydrophila</i> 45, <i>Aeromonas</i> sp.28	+	—
<i>Aeromonas</i> sp.10	+	+

Примечание: "—" означает отсутствие активности, количество знаков "+" — степень активности.

Следует отметить невысокое содержание обнаруженных рестриктаз в бесклеточных экстрактах, что затрудняет изучение их свойств. Тем не менее можно заключить, что ферменты, содержащиеся в клетках *Aeromonas* sp.10 и 28, обозначенные в соответствии с принятой номенклатурой Asp10I и Asp28I, относятся к крупнощеплящим, поскольку расщепляют ДНК фага λ на небольшое число фрагментов (4 и 10 соответственно).

В то же время фермент, продуцируемый штаммом *A.hydrophila* 45, *Ahy45I*, можно считать мелкощеплящим, так как он гидролизует ДНК фага λ на очень большое (не поддающееся подсчету) число фрагментов. В связи с этим была предпринята попытка изучения свойств данного фермента с использованием в качестве субстрата рестрикции ДНК плазмиды pBR322. При этом из-за низкого

содержания фермента приходилось прибегать к довольно длительной (4–6 ч) инкубации ДНК в присутствии экстракта. Удалось установить, что максимальная активность фермента проявляется во фракции 8 при температурах 28 и 37°C, а число фрагментов, на которое Ahy45I расщепляет ДНК плазмиды pBR322 – не менее 18. Анализ картин рестрикции ДНК pBR322 всеми 16 ферментами, узнающими последовательность из 4 нуклеотидов, и сравнение их с таковой для фермента Ahy45I позволяет заключить, что ни одна из них не совпадает с картиной рестрикции Ahy45I. Можно предполагать, что последовательность, узнаваемая данным ферментом, содержит 5 нуклеотидов, причем центральный нуклеотид вырожден, т.е. может быть любым из четырех возможных. Ферменты, узнающие такие последовательности, расщепляют ДНК фага λ на 74–380 фрагментов, ДНК плазмиды pBR322 – на 16–26 фрагментов [4].

1. Roberts R. J., Macelis D. // Nucl. Acids Res. 1992. V.20. P.2167.
2. Schleif R. // Meth. Enzymol. 1980. V.65. P.19.
3. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. М., 1984.
4. Kessler C., Neumaier P. S., Wolf W. // Gene. 1985. V.33. P.1.

Поступила в редакцию 17.01.97.

УДК 577.352.

Т.А.КУКУЛЯНСКАЯ, В.П.КУРЧЕНКО

АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА МЕЛАНИНОВЫХ ПИГМЕНТОВ ИЗ ASPERGILUS NIGER

Antioxidation and genoprotection properties of melanin pigments isolated from culture liquid *Aspergillus niger* were researched. Melanin inhibitate metabolic activation of aminobiphenyls on the peroxidation pathway and prevent from damages DNA by products of benzidin oxidation.

Предупреждение онкологических заболеваний, вызванных веществами, применяемыми в современном производстве, является одним из наиболее актуальных вопросов антиканцерогенеза. В анилинокрасочной, резинотехнической и во многих других отраслях промышленности используются органические соединения, обладающие мутагенными и канцерогенными свойствами, в частности ароматические амины [1]. Большинство из них не токсичны, но продукты их метаболической активации проявляют мутагенные и канцерогенные свойства. Образующиеся высокоактивные соединения инициируют процессы перекисного окисления липидов в мембранах, непосредственно взаимодействуют с нуклеиновыми кислотами и белками [2].

Большой интерес исследователей вызывает изучение антиканцерогенного действия антиоксидантов с различными механизмами действия: обладающих непосредственной антирадикальной активностью, связывающих супероксидные радикалы, разрушающих перекиси и др. [3,4]. Очевидна возможность снижения токсичного действия продуктов метаболической активации ароматических аминов с помощью различных антиокислителей.

Многочисленной группой природных антиоксидантов являются фенольные соединения, способные к обратимому окислению. Это обуславливает их участие в окислительно-восстановительных реакциях, в которых они могут быть донорами или акцепторами электронов и протонов. Антиокислительной активностью обладают животные и растительные токоферолы, нафтохиноны, убиноны, флавоноиды, растительные пигменты [5].

Недостаточно изученной, но широко распространенной группой природных антиоксидантов являются меланиновые пигменты. Они встречаются среди организмов практически всех эволюционных уровней. Эти пигменты, выделенные из различных источников, проявляют удивительное единство свойств и мало различаются по основным физико-химическим показателям. Меланины представляют собой гетерополимеры фенольных производных. Они образуются в результате окислительной полимеризации тирозина, диоксифенилаланина и катехоламинов и могут рассматриваться как стабильные радикалы [6,7].

Целью нашей работы было выделение меланиновых пигментов из культуральной жидкости *Aspergillus niger* и изучение их антиоксидантных и генотоксических свойств в процессе метаболической активации ароматических аминов по пероксидазному пути окисления.