

РОЛЬ МОНООКСИГЕНАЗНЫХ ФЕРМЕНТНЫХ СИСТЕМ БАКТЕРИЙ В БИОТРАНСФОРМАЦИИ И БИОДЕГРАДАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ

В. Н. Леонтьев, Т. И. Ахрамович, И. М. Бурак, О. С. Игнатовец

*Белорусский государственный технологический университет,
г. Минск, Беларусь, leontiev@bstu.unibel.by*

Различные углеводороды и их производные, являющиеся одним из наиболее распространенных классов ксенобиотиков, могут быть подвержены либо полной биodeградации, либо биотрансформации в ценные химические вещества. Клетки бактерий родов *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Xanthobacter*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, способные окислять алифатические, алициклические и ароматические углеводороды, содержат монооксигеназные ферментные системы с цитохромом P-450 в качестве терминальной оксидазы [1]. Причем, очевидно, что роль монооксигеназных цитохром P-450-содержащих ферментных систем бактерий в биотрансформации и биodeградации ксенобиотиков различна и не до конца выяснена.

Функционирование цитохром P-450-содержащей монооксигеназной ферментной системы требует участия оксидоредуктаз НАДФН·Н⁺- и НАДН·Н⁺-зависимых электронтранспортных цепей, цитохромов b₅ и P-450.

Аэробные процессы биотрансформации углеводов осуществляются главным образом через стадии их окисления до эпоксидов, спиртов, диолов. Монооксигеназная ферментная система микроорганизмов используется в этом случае в качестве катализатора стереоселективных превращений углеводов в ценные химические продукты.

Механизмы биodeградации алифатических, ароматических углеводов и их производных также достаточно хорошо изучены.

В настоящей работе мы попытались выявить отличительные особенности функционирования монооксигеназных ферментных систем бактерий, осуществляющих трансформационные и деградационные процессы.

В качестве биотрансформационных были выбраны процессы эпоксидирования алкенов бактериями рода *Pseudomonas*. Стереохимия образовавшихся эпоксидов описана в работе [2]. В качестве ростовых субстратов использовали глюкозу, гексан или нонан, а в качестве трансфор-

мационных – гексен-1 и нонен-4. В клетках бактерий *P. aeruginosa* PAO1 и *P. fluorescens* B-22, выращенных на различных субстратах до середины экспоненциальной фазы роста, определяли содержание цитохромов b_5 и P-450, а также активности оксидоредуктаз (табл. 1 и 2 соответственно).

В качестве субстратов деградации были выбраны ароматические углеводороды – бензол, хлорбензол, бромбензол, 4-бромфенол, а также пестициды триазинового ряда – симазин и прометрин. За биодеградацией бензола и его производных следили с помощью метода ГЖХ, а за биодеградацией пестицидов – с помощью метода ВЭЖХ [3].

Результаты измерения содержания цитохромов b_5 и P-450 в клетках бактерий родов *Pseudomonas* и *Rhodococcus*, осуществляющих деградацию бензола, его галогенпроизводных и гетероциклических ксенобиотиков, представлены в табл. 1, а активностей оксидоредуктаз – в табл. 3.

Как видно из представленных данных, замена углеводного субстрата на углеводородные приводит к увеличению содержания цитохромов b_5 и P-450 в клетках бактерий *P. aeruginosa* PAO1 и *P. fluorescens* B-22, причем это увеличение особенно заметно у *P. fluorescens* B-22 при эпексидировании гексена-1, а у *P. aeruginosa* PAO1 – при эпексидировании нонена-4. Кроме этого, в клетках бактерий, осуществляющих деградацию ксенобиотиков, увеличение содержания цитохромов b_5 и P-450 не такое значительное, как при трансформации алкенов в их эпексипроизводные. Причем при деградации хлорбензола клетками *R. opacus* B-2243 наблюдается наиболее существенный прирост содержания цитохрома P-450, тогда как для цитохрома b_5 такой эффект отмечается при деградации 4-бромфенола.

Анализ результатов, представленных в табл.2 и 3, показывает, что в клетках *R.opacus* B-2243 наблюдается повышенная активность как НАДН-, так и НАДФН-2,6-ДХФИФ-оксидоредуктаз и пониженная активность как НАДН-, так и НАДФН-цитохром с-оксидоредуктаз. Следует также отметить, что значения 2,6-ДХФИФ-редуктазных активностей практически не зависят ни от типа донора электронов, ни от типа субстрата, на котором выращены клетки. Это возможно только в том случае, если электроны на 2,6-ДХФИФ поступают с цитохрома b_5 , что может являться следствием более высокого потенциала НАДН·Н⁺-цитохром b_5 -редуктазы и НАДФН·Н⁺-цитохром P-450-редуктазы у данного штамма по сравнению с бактериями рода *Pseudomonas* [4].

Таблица 1

Содержание цитохромов b₅ и P-450 в бактериальных клетках в экспоненциальной фазе роста

Субстрат	Содержание цитохромов b ₅ и P-450, нмоль/мг белка									
	<i>P. aeruginosa</i> PAO1		<i>P. fluorescens</i> B-22		<i>P. aeruginosa</i> B-7		<i>P. aeruginosa</i> B-162		<i>R. oryzae</i> B-2243	
	b ₅	P-450	b ₅	P-450	b ₅	P-450	b ₅	P-450	b ₅	P-450
Глюкоза	0,01	0,03	0,04	0,02	—	—	—	—	0,01	0,02
Гексан	0,02	0,05	0,12	0,10	—	—	—	—	—	—
Гексен-1	0,04	0,02	0,18	0,21	—	—	—	—	—	—
Нонен-4	0,06	0,09	0,05	0,18	—	—	—	—	—	—
Бензол	—	—	—	—	—	—	—	—	0,01	0,03
Бромбензол	—	—	—	—	—	—	—	—	0,02	0,04
4-Бромфенол	—	—	—	—	—	—	—	—	0,05	0,05
Хлорбензол	—	—	—	—	—	—	—	—	0,02	0,08
Прометрин	—	—	—	—	0,02	0,01	—	—	—	—
Симазин	—	—	—	—	—	—	0,02	0,04	—	—

Примечание: представленные значения являются средними из 3-х измерений.

Таблица 2
Активности оксидоредуктаз в клетках бактерий, осуществляющих трансформацию алкенов в эпоксиалканы

Донор/акцептор электронов	Активность оксидоредуктаз, нмоль/мин·мг белка									
	<i>P. aeruginosa</i> PAO 1					<i>P. fluorescens</i> B-22				
	глюкоза	гексан	гексен-1	нонен-4	глюкоза	гексан	гексен-1	нонен-4	гексен-1	нонен-4
НАДН:2,6-ДХФИФ	1,71	2,30	2,70	3,51	4,11	4,94	7,44	3,77	7,44	3,77
НАДФН:2,6-ДХФИФ	2,21	2,94	3,07	1,68	1,65	1,67	2,83	2,09	2,83	2,09
НАДН:цитохром с	1,81	1,98	3,15	0,97	1,66	2,78	4,17	0,37	4,17	0,37
НАДФН:цитохром с	0,52	0,39	1,43	0,40	0,51	0,86	0,84	0,43	0,84	0,43
НАДН: K ₃ Fe (CN) ₆	21,47	79,90	83,24	35,48	50,26	60,46	82,48	28,57	82,48	28,57
НАДФН: K ₃ Fe (CN) ₆	14,24	43,07	26,22	20,54	27,78	31,30	56,10	13,76	56,10	13,76
НАДН: НТ	0,35	0,35	0,06	0,11	0,10	0,17	0,14	0,14	0,14	0,14
НАДФН: НТ	0,14	0,27	0,21	0,03	0,23	0,21	0,12	0,07	0,12	0,07

Примечание: то же, что и в табл. 1.

2, 2,6-ДХФИФ – 2,6-дихлорфенолиндофенолят натрия; НТ – неотетразолий син.

Таблица 3

Активности оксидоредуктаз в клетках бактерий, осуществляющих деградацию бензола, его галогенпроизводных и гетероциклических ксенобiotиков

Донор/акцептор электронов	Активность оксидоредуктаз, нмоль/мин·мг белка									
	<i>R. oracius</i> B-2243					<i>P. aeruginosa</i> B-7				
	глюкоза	бензол	бромбензол	4-бром-фенол	хлорбензол	прометрин	прометрин	прометрин	прометрин	прометрин
НАДН:2,6-ДХФИФ	–	8,02	6,89	–	8,48	3,76	3,76	3,32	3,76	3,32
НАДФН:2,6-ДХФИФ	–	7,75	6,14	–	8,80	2,45	2,45	0,54	2,45	0,54
НАДН:цитохром с	–	0,89	0,47	–	0,59	3,69	3,69	3,35	3,69	3,35
НАДФН:цитохром с	–	0,16	0,32	–	0,22	1,92	1,92	1,28	1,92	1,28
НАДН: K ₃ Fe (CN) ₆	–	64,15	148,3	–	98,87	39,52	39,52	36,87	39,52	36,87
НАДФН: K ₃ Fe (CN) ₆	–	39,01	45,34	–	18,73	22,41	22,41	16,04	22,41	16,04
НАДН: НТ	–	0,41	0,20	–	0,46	0,32	0,32	0,37	0,32	0,37
НАДФН: НТ	–	1,65	0,58	–	2,39	0,27	0,27	0,08	0,27	0,08

Примечание: то же, что и в табл. 2

В клетках бактерий рода *Pseudomonas* независимо от того, осуществляют ли они трансформацию или деградацию, наблюдаются в значительной степени близкие значения активностей оксидоредуктаз. Причем, отмечаются случаи более существенных изменений активностей оксидоредуктаз в пределах одного штамма, выращенного на разных субстратах, например, для *P. fluorescens* B-22 НАДФН:K₃Fe (CN)₆-редуктазная активность при переходе от гексена-1 к нонену-4 уменьшается примерно в 4 раза.

1. Munro A.W., Lindsay Y.C. // Mol. Microbiol. 1996. V. 20, № 6. P. 1115–1125.
2. Besse P., Sokoltchik T., Veschambre H. Chemoenzymatic synthesis of α -halogeno-3-octanol and 4-or 5-nonanol. Application to the preparation of chiral epoxydes // Tetrahedron: Asymmetry. 1998. V. 9. P. 4441–4457.
3. Бурак И.М., Леонтьев В.Н., Ахрамович Т.И., Гриц Н.В. Биодеградация симметризиновых пестицидов // Труды БГТУ. Вып. 8. 2000. С. 223–228.
4. Сокольчик Т.И., Леонтьев В.Н., Гриц Н.В. Зависимость активностей оксидоредуктаз и содержания цитохромов b₅ и P-450 у бактерий рода *Pseudomonas* от структуры шестиуглеродного субстрата // Микробиол. 1999. Т. 68, № 3. С. 299–303.

ВЛИЯНИЕ ГЛИФОСАТА НА СОДЕРЖАНИЕ ФЕНИЛОПРОПЕНОИДОВ В РАСТЕНИЯХ МОРКОВИ

Е. М. Лис, И. Ясицка-Мисяк¹, П. Вечёрк¹

Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь

¹*Институт химии, Опольский университет, г. Ополье, Польша
lisa@list.ru*

В настоящее время в сельском хозяйстве используется ряд гербицидов, которые ингибируют синтез ароматических аминокислот – исходных продуктов для синтеза разнообразных групп органических соединений. Одним из таких гербицидов является глифосат, подавляющий действие ключевого фермента синтеза шикимовой кислоты, в ходе которого образуются фенилаланин, тирозин и триптофан. В дальнейшем из ароматических аминокислот образуются фенилопропеноиды, которые, в частности, защищают растение от негативного влияния таких внешних факторов, как гербициды, УФ излучение, микроорганизмы.