

ГЛЮКОЗОИЗОМЕРАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ ФОТОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ

А.А. ЭЛИАЗЯН, А.Х. ПАРОЦЯН

Институт микробиологии НАН Армении, 378510, г.Абовян

Выявлена способность фототрофных бактерий превращать глюкозу во фруктозу. Подобраны оптимальные условия выращивания бактерий для биосинтеза фермента. Установлено, что активность глюкозоизомеразы зависит от возраста культуры, наличия и концентрации индуктора в питательной среде. Скорость изомеризации глюкозы зависит от ее концентрации в реакционной смеси, pH и температуры.

Բացահայտվել է ֆոտոտրոֆ բակտերիաների գլյուկոզ-ֆրոկտոզային ակտիվությունը: Ունիվերսը են գլյուկոզ-ֆրոկտոզա ֆերմենտի կենսասինթեզի օպտիմալ պայմանները: Հաստատվել է, որ ֆերմենտի ակտիվությունը կախված է կուլտուրայի հասակից, սննդամիջավայրում ինդուկտորի առկայությունից և նրա քանակից: Գլյուկոզի ֆրոկտոզիզացիայի արագությունը կախված է սեպկիոն լիանությունից, pH-ից և քերամոտիվից:

The glucose isomerase activity of phototrophic bacteria has been revealed. The optimal conditions for biosynthesis of enzyme were selected. The glucose-isomerase activity was depended on age of bacterial culture, on presence and concentration of inducer in cultivation medium. The rate of isomerization was depended on glucose concentration, pH and temperature of reaction mixture.

Фототрофные бактерии - глюкозоизомераза.

Фермент глюкозоизомераза используется в производстве сахаристых продуктов для превращения глюкозы во фруктозу. Глюкозоизомераза была обнаружена у ряда бактерий, относящихся к родам *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Aerobacter*, *Nocardia* и др. [1-3,4]. Сведения о представителях фототрофных бактерий в этом аспекте в литературе отсутствуют.

Целью данной работы являлось изучение глюкозоизомеразной активности у представителей несерных фототрофных бактерий.

Материал и методика. Объектом исследований были несерные пурпурные бактерии *Rhodospirillum rubrum* (3 шт.), *Rhodospirillum rubrum* (1 шт.), *Rhodospirillum rubrum* (1 шт.), *Rhodospirillum rubrum* (1 шт.), всего 12 культур из коллекции ИМИА и ИГУ.

Культуры выращивали на среде Ормеруда [5] с добавлением ионов металлов кобальта - $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,05г/л) и магния - $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,5г/л) в течение двух-трех суток в анаэробных условиях в темноте при освещении 2000 люкс и температуре 30°. Биомассу собирали центрифугированием, дважды промывали фосфатным буфером (0,05M, pH 7,0). В 2 мл реакционной смеси, содержащей 1M глюкозы, 0,001M $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ и 0,01M $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, обычно вносили 20-25 мг сухой биомассы. Смесь инкубировали при 60° в течение 2 ч в водяной бане, перемежая с помощью магнитной мешалки. После инкубации ее охлаждали, центрифугировали и в натасалочной жидкости определяли концентрацию фруктозы тюрбарбиуровым методом [6]. Глюкозоизомеразную активность выражали в мкг фруктозы, образующейся в течение 1 ч на 1 мг сухой биомассы.

Результаты и обсуждение. Отмытые клетки всех изученных нами несерных пурпурных бактерий в той или иной степени способны к изомеризации глюкозы во фруктозу. Среди них отмечались некоторые штаммы *Rh. capsulata*, *Rh. sphaeroides* и *Rhodospirillum rubrum* (табл. 1).

Таблица 1. Глюкозоизомеразная активность фототрофных бактерий

Культура	Штаммы	мкг фруктозы/час/мл сухой биомассы
<i>Rhodospseudomonas capsulata</i>	3764	7,6
<i>Rh. capsulata</i>	B10	11,4
<i>Rh. capsulata</i>	1	15,0
<i>Rh. palustris</i>	1	6,2
<i>Rh. palustris</i>		7,1
<i>Rh. palustris</i>	Ф-255	9,3
<i>Rh. sphaeroides</i>	SN 9/3	25,0
<i>Rh. sphaeroides</i>	2K	17,5
<i>Rh. sphaeroides</i>	8259	10,0
<i>Rh. sphaeroides</i>	2R	16,0
<i>Rhodospirillum rubrum</i>		20,0
<i>Rhodanicrobium vannielii</i>		6,0

Сравнительно высокую активность проявил *Rhp. sphaeroides* SN 9/3. Дальнейшие исследования проводили с указанным штаммом. Изучали влияние возраста культуры на глюкозоизомеразную активность. Максимальная активность наблюдалась у 48-часовой культуры, что соответствует началу стационарной фазы роста (рис. 1). Прямой зависимости между образованием фермента и накоплением биомассы не замечено. Так, максимальное накопление биомассы происходит через трое суток, а наивысшая активность проявляется через двое суток, на третий сутки роста ферментативная активность значительно снижается.

Подобляющее большинство продуцентов глюкозоизомеразы для биосинтеза фермента нуждается в индукторах [3]. В табл. 2 приведены

Таблица 2. Влияние ксилиты на глюкозоизомеразную активность *Rh. sphaeroides*, шт. SN 9/3

Концентрация ксилиты, г/л	Накопление биомассы, мг/мл	Активность, мкг фруктозы/час/мл сухой биомассы
Контроль	5,2	24,5
3,0	4,9	29,7
7,0	4,2	31,2

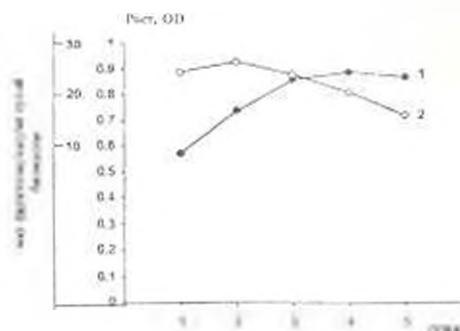


Рис. 1. Динамика накопления биомассы (1) и глюкозоизомеразной активности (2) в течение роста культуры.

данные о влиянии различных концентраций D-ксилозы в качестве индуктора на глюкозоизомеразную активность *Rh. sphaeroides*. Видно, что уровень активности глюкозоизомеразы повышается, когда в качестве индуктора в питательную среду вносится D-ксилоза в концентрации 7 г/л. Наличие ксилозы в питательной среде Ормеруда наряду с полноценным и легкоусвояемым источником углерода малатом не способствует увеличению роста фототрофных бактерий.

Скорость ферментативного превращения глюкозы во фруктозу зависит от начальной концентрации глюкозы в реакционной смеси. Нами были испытаны три концентрации - 1, 2 и 3М (рис. 2). При 2-часовой продолжительности инкубации оптимальной концентрацией глюкозы является 1 М.

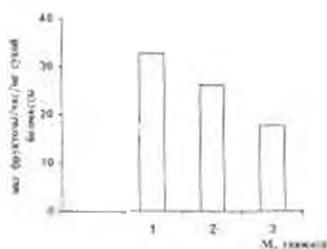


Рис. 2. Влияние концентрации глюкозы на глюкозоизомеразную активность *Rh. sphaeroides*, шт. SN 9/3: 1-1М, 2-2М, 3-3М.

заражения посторонней микрофлорой [1,2].

При проведении изомеризации выбрали три режима температуры - 40, 60 и 80°. Активность фермента при температуре 60 и 80° находилась почти на одном уровне - 31,0 и 32,3 мг фруктозы/час/мг сухой биомассы соответственно. При температуре 40° клетки были малоактивны. Таким образом, показано, что глюкозоизомераза фототрофной бактерии обладает относительной термостабильностью и в этом отношении не отличается от глюкозоизомераз других микроорганизмов.

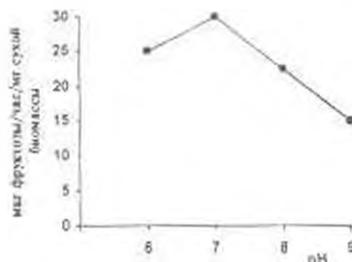


Рис. 3. Зависимость глюкозоизомеразной активности *Rh. sphaeroides*, шт. SN 9/3 от рН.

Влияние значения рН проверялось в зоне от 6,0 до 9,0 при оптимальной температуре. Клетки проявляли максимальную активность в фосфатном буфере при рН 7,0 (рис. 3).

Таким образом, в результате проведенных исследований у фототрофных бактерий была обнаружена глюкозоизомеразная активность. Среди изученных представителей наиболее активной является культура *Rh. sphaeroides* SN 9/3.

ЛИТЕРАТУРА

1. Грачева И.М., Мосичев М.С., Гавристов А.В., Филиппов С.А. Глюкозонзомераза. Обзор. М., 1976.
2. Окунев О.Н., Аляншин В.М., Головлев Е.А., Виноградова К.А., Скрыбин Т.К. Прикл. биохим. и микробиол., 14, 1, 44-48, 1978.
3. Улезло И.В., Тулеува Е.Т., Безбородов А.М. Прикл. биохим. и микробиол., 16, 4, 561-569, 1980.
4. Blasco R., Castillo F. Appl. and Environ. Microbiol., 58, 2, 690-695, 1992.
5. Ormerod I.G., Ormerod S.F., Gest H. Arch. Biochem. and Biophys., 94, 2, 449-463, 1961.
6. Percheron I. Comptes Rendues, Acad. Sci., 255, 19, 2521-2522, 1962.

Получена 21 V 1997

Биолог. журн. Армении, 3-4 (50), 1997

УДК 582.281.212.043

ВЛИЯНИЕ ИНТЕНСИВНОСТИ ОСВЕЩЕНИЯ НА РОСТ И ОБРАЗОВАНИЕ КАРОТИНОИДОВ *RHODOPSEUDOMONAS SPHAEROIDES* Д-10

А.Х. ПАРОНИАН

Институт микробиологии НАН Армении, 378510, г. Абовян

Изучено влияние интенсивности освещения на рост и образование каротиноидных пигментов *Rh. sphaeroides* Д-10, выделенных из минеральных источников Джермука. Установлено благоприятное влияние невысоких интенсивностей освещения на каротиногенез, при этом максимальное накопление каротиноидов не коррелирует с максимальным выходом биомассы. Показано, что преобладающим каротиноидом при фотосинтетическом росте является сфероидин и его содержание составляет около 60% от общей суммы каротиноидов независимо от интенсивности освещения.

Ուսումնասիրվել է լույսի ինտենսիվությունը հերթուկի հանրային աղբյուրներից անջատված *Rh. sphaeroides* Д-10 շտամի աճի և կարոտինոիդային պիգմենտների առաքացման վրա: Հաստատվել է լույսի ոչ բարձր ինտենսիվությունների բարենպաստ ազդեցությունը կարոտինոիդների առաքացման վրա, ընդ որում կարոտինոիդների մաքսիմալ կուտակումը չի համընկնում կենսազանգվածի մաքսիմալ ելքի հետ: Ցույց է տրվել, որ ֆոտոսինթետիկ աճի պայմաններում գերակշռող կարոտինոիդը սֆերոիդենն է և նրա պարունակությունը կազմում է կարոտինոիդների ընդհանուր քանակի մոտ 60%-ը անկախ լույսի ինտենսիվությունից:

The influence of illumination intensity on the growth and carotenoid pigments formation of *Rh. sphaeroides* str. D-10, isolated from mineral sources of Dzhermuik has been investigated. The efficiency of low intensity illuminations on the carotenoides formation was revealed. The maximal accumulation of carotenoids was not correlated with maximal yield of