

Раздел 5

БИОХИМИЯ И ФИЗИОЛОГИЯ

РОЛЬ МЕЖКЛЕТЧНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ ЧЕРЕЗ ПРОНИЦАЕМЫЕ КОНТАКТЫ В ПОЛЯРИЗОВАННОМ ВЕРХУШЕЧНОМ РОСТЕ

Алексеевский А. В., Потапова Т. В., Смолянинов В. В.
НИИ Физико-химической биологии имени А. Н. Белозерского
МГУ имени М. В. Ломоносова
119899, Москва, Воробьевы горы, МГУ, Лабораторный корпус «А»
Институт машиноведения РАН

С использованием методов микроэлектродной электрофизиологии выявлено и количественно охарактеризовано явление гетерогенности мембранных потенциалов и входных сопротивлений гиф *Neurospora crassa* на участках поляризованного верхушечного роста и зависимость этих параметров от величины коэффициентов электрической связи между клетками. Разработана экспериментальная модель гифального мини-дерева, представляющего собой верхушку гифы, изолированную электрически и диффузионно от мицелия на расстоянии от точки роста, близком к величине пространственной кабельной постоянной эквивалентного электрического кабеля (500-700 м). С помощью этой модели исследована зависимость от связи с мицелием: величины гифальной единицы роста (отношение суммарной длины всех ветвей к числу верхушек), скорости роста лидирующей верхушки, скоростей удлинения боковых ветвей мини-дерева и частоты ветвлений у генетически различных линий *N. crassa* на среде нормального состава, а также в условиях дефицита по глюкозе и азоту. Сравнительный экспериментальный и теоретический анализ электрофизиологических и морфометрических данных позволил охарактеризовать минимальную ростовую единицу гифы (фрагмент верхушки длиной 350 нм) и высказать предположение о функциональной роли электрической гетерогенности в области верхушечного роста как механизме энергетической кооперации между клетками.

Установлена независимость величины гифальной единицы роста от длины изолированного фрагмента и прямая корреляция скорости удлинения лидирующей верхушки с длиной фрагмента. Обнаружен эффект блокады роста боковых ветвей мини-дерева, расположенных на расстоянии менее 450 м от места изоляции. Построена математическая модель, позволяющая идентифицировать электрические параметры гифы с учетом ее древовидной организации; на базе этой модели. получен простой критерий оценки критической длины фрагмента гифы с неоднородным распределением источников тока, хорошо согласующийся с экспериментальными данными. Разработана и успешно апробирована с группой студентов 5 курса кафедры микологии и альгологии Биофака МГУ учебная программа специального практикума по использованию микрохирургических технологий для изучения роста грибного мицелия.

Работа поддерживалась грантами РФФИ: 94-04-12324; 96-04-49567; 99-04-49115.

Публикации по теме:

1. Potapova T. V. et al. // FEBS Lett. 1988. V. 241. P. 173-176.
2. Асланиди К. Б. и др. // Биол. мембр. 1997. Т. 14 №3. С. 285-298.
3. Алексеевский А. В. и др. // Доклады РАН 1999. Т. 369. №6. С. 549-552.
4. Смолянинов В. В. Математические модели биол. тканей. М., Наука, 1980, 368 с.

ВОЗМОЖНОСТИ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ РОСТА ГРИБНОЙ ГИФЫ

Асланиди К. Б.
Институт теоретической
и экспериментальной биофизики РАН
142240, Пущино, Моск. обл.

По современным представлениям грибная гифа является открытой неравновесной термодинамической системой, пространственная структура которой

поддерживается потоком энергии из внешней среды. Материальным эквивалентом потока энергии в гетеротрофной клетке являются потоки метаболитов че-

рез плазматическую мембрану.

Рост мицелиальных грибов — сложное явление, включающее процессы синтеза, везикулярного и трансмембранного транспорта ионов и метаболитов, а также различные движения клеточных органелл. При этом важно, что ключевые этапы накопления биомассы, а именно процессы трансмембранного транспорта сахаров, аминокислот и неорганических ионов реализуются за счет электрохимического потенциала ионов водорода. Однако исторически сложилось так, что исследования метаболических превращений веществ в клетке многие годы практически не пересекались с исследованиями транспорта неорганических ионов через плазматическую мембрану. По этой причине в настоящее время отсутствуют достаточно общие представления о связи мембранного электрогенеза с метаболизмом гифальной клетки.

Целью работы явился анализ простейшей модели метаболизма гифы, включающей, как необходимый компонент, мембранный электрогенез.

В докладе рассматривается теоретическая модель роста гифы *Neurospora crassa* в условиях полного сопряжения транспорта субстратов и неорганических ионов. Предложен минимальный комплект мембран-

ных транспортеров, необходимых и достаточных для удовлетворения потребности метаболизма гифы. Предполагается, что основными субстратами, потребляемыми гифой, являются глюкоза, аминокислоты и кислород, а продуктами метаболизма — белки, липиды, нуклеиновые кислоты, углекислый газ и вода. Модель предполагает, что увеличение биомассы гифы неизбежно сопровождается непрерывным замещением и репарацией различных молекулярных структур во всех клетках. Для описания электрических явлений, сопровождающих рост гифы, использована модель, соответствующая эквивалентному одномерному электрическому кабелю с неоднородным продольным распределением источников тока, отражающая активность протонных насосов и переносчиков субстратов.

В работе обосновывается предположение о связи величины потенциала на клеточной мембране с потребляемыми из внешней среды субстратами и продуктами клеточного синтеза.

Показана корреляция экспериментально регистрируемой скорости удлинения регенерирующих фрагментов гифы с расчетной величиной электрического тока, втекающего в апикальный участок.

NEUROSPORA CRASSA КАК МОДЕЛЬНЫЙ ОБЪЕКТ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ МЕХАНИЗМА ДЕЙСТВИЯ СТРЕССОРОВ НА ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ МИЦЕЛИЯ

Белозерская Т. А., Соколовский В. Ю.

Институт биохимии имени А. Н. Баха РАН
117071, Москва, Ленинский пр., д. 33

N. crassa представляет собой удобную модель для исследования действия внешних агентов как на бесполой, так и на половой цикл развития грибного организма. Разные пути развития *N. crassa* запускаются простым изменением концентрации питательных веществ в среде культивирования. Так, углеродное голодание в агаризованной поверхностной культуре приводит к бесполому воспроизведению и формированию конидий на вегетативном мицелии. Однако в случае лимитирования по источнику азота в тех же условиях развитие идет по пути полового воспроизведения и на мицелии формируются женские половые органы — протоперитеции. Свет сине-фиолетовой области (350-500 нм) спектра является сильным стимулятором развития как на пути полового, так и бесполого характера развития. В стационарной жидкой культуре на голодной среде мицелий формирует воздушные гифы, образующие конидиофоры и конидии. В жидкой культуре при встряхивании, при азотном или углеводном голодании дифференцировка и формирование конидий происходят непосредственно на концах гиф. Кроме того, развитие *N. crassa* контролируется внутренними циркадными ритмами. Формирование конидий на вегетативном мицелии гриба происходит в несколько этапов, каждый из ко-

торых запускается АФК и связан с экспрессией генов защитных механизмов от окислительного стресса. Действие сигнала голода и света осуществляется с помощью разных факторов транскрипции, и, по-видимому, разными путями передачи сигнала. Факторы внешней среды передают сигнал белковым регуляторам экспрессии генов при участии вторичных посредников, в первую очередь, сАМР, а также Ca²⁺ и инозитолфосфатов. Белковые регуляторы транскрипции участвуют, по-видимому, и в перекрестной защите от стресса, вызванного действием неблагоприятных факторов внешней среды. Системы сигнальной трансдукции эволюционно консервативны. Например, передача сигнала в ответ на внешние воздействия при участии системы сАМФ, с помощью которой запускаются процессы дифференцировки у животных клеток, функционирует и у представителей разных классов грибов, запуская процессы дифференцировки у аскомицетов и базидиомицетов. Только у *N. crassa* система передачи внешнего сигнала, связанная с функционированием системы сАМФ регулирует формообразовательные процессы в мицелии, конидиогенез, процесс спаривания при половом воспроизведении, ответы на тепловой шок и окислительный стресс.

Работа поддержана грантом РФФИ 01-04-48567

ДВА ПУТИ ТРАНСПОРТА ВНЕКЛЕТОЧНЫХ КИСЛЫХ ФОСФАТАЗ У ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Блинникова Е. И., Мирющенко Ф. Л., Егоров С. Н.

Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова
119899, Москва, Воробьевы горы, МГУ, биологический факультет

С помощью нового метода получены два типа секреторных везикул из дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, различающиеся по плотности и фактуре поверхности. Метод основан на осмотическом лизисе протопластов с последующим разделением везикул в градиенте плотности Урографина. В качестве маркеров секреторных везикул использовали кислые фосфатазы. Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* синтезируют две кислые фосфатазы — так называемую конститутивную, кодируемую геном *PHO3* и репрессибельную, кодируемую тремя генами, *PHO5*, *PHO10* и *PHO11*. Оба фермента секретируются в среду. Показано, что конститутивная кислая фосфатаза доставляется к поверхности клетки в менее плотных везикулах, а репрессибельная — в более плотных. Для выяснения, что может служить причиной сортировки кислых фосфатаз, были получены везикулы из штаммов, синтезирующих гомомерные формы репрессибельной кислой

фосфатазы — фосфатазу А (ген *PHO5*), фосфатазу В (ген *PHO10*) и фосфатазу С (ген *PHO11*). Показано, что фосфатаза А доставляется к поверхности клетки в менее плотных везикулах. В нативном ферменте полипептид, кодируемый геном *PHO5*, составляет около 86% по массе, а на продукты двух других генов приходится не более 14%. Таким образом, основной полипептид репрессибельной кислой фосфатазы перемещается к поверхности в тех же везикулах, что и конститутивная кислая фосфатаза. Можно предположить, что этот полипептид не играет роли в выборе направления движения. Фосфатазы В и С доставляются к поверхности в более плотных везикулах, так же как нативная репрессибельная кислая фосфатаза. Мы предполагаем, что именно минорные полипептиды репрессибельной кислой фосфатазы играют главную роль в выборе альтернативного пути транспорта этого внеклеточного фермента.

ВЛИЯНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА МИНЕРАЛОВ НА РОСТ И МОРФОЛОГИЮ ЛИТОБИОНТНЫХ МИКРОМИЦЕТОВ

**Богомолова Е. В., Ольховая Е. А., Панина Л. К.,
Сухаржевский С. М.**

Санкт-Петербургский государственный университет
199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9

Изучение микобиоты каменистых субстратов, проводимое геомикологической рабочей группой СПбГУ с 1991 года, выявило определенные различия в видовом составе и морфологии грибов-обитателей камня на разных минералах. Влияние химического состава и структуры субстрата представляется нам более значимым по сравнению с влиянием географического фактора. В связи с этим наблюдением было решено провести экспериментальное моделирование роста литобиионтных грибов на различных минералах и горных породах (мрамор, кварц, кальцит, плагиоклаз (полевой шпат), гранит ракакиви, луговит, флогонит, биотит, микролин). Микологическая часть работы включала оценку морфологических изменений, возникающих при росте грибов на данных минералах, а геологическая часть работы заключалась в химическом анализе исследуемых пород.

В эксперименте были задействованы 3 штамма микромицетов, ранее изолированных с поверхности мрамора *Torula herbarum* (штамм Ch 34), *Phaeococcomyces exophialae* (штамм — Ch 49) и с поверхности кварца — *Trimmatostroma* sp. (штамм Vz-1). Фрагменты минералов инокулировались выбранными штаммами грибов и культивировались в течение 11 месяцев. В качестве минимального источника углерода использовали однократное орошение поверхности минералов 0.1%

раствором глюкозы. Оценка роста грибов и их морфологии велась с учетом следующих критериев: рост по отношению к различным граням кристаллов, связь с микро топографией, интенсивность роста в целом, степень ветвления, толщина гиф и их форма, интенсивность пигментации, форма и размер образующихся колоний. Данные признаки сопоставлялись с таковыми при росте на плотных питательных средах в культуре и в природе.

Обнаружено, что активность роста и «благополучие» гриба в значительной степени зависят от химической природы минерала и от структуры его поверхности. Наилучший рост наблюдался на кальций-содержащих минералах — сером неполированном мраморе, плагиоклазе (полевом шпате) — кристаллическая структура, кальците — кристаллическая структура, а также на молочно-белом жильном кварце (поверхность шероховатая). На данных минералах грибы обнаруживали наиболее активный рост, ветвление, сильную пигментацию, а также морфологию, наиболее сходную с таковой, характерной для данных грибов в природных условиях. Кальций-содержащие минералы, в которых имелись примеси токсичных для грибов ионов (например, Mn), оказались слабо пригодными для роста грибов. Отмечено также, что рост грибов в основном приурочен к неровностям субстра-

та и скоплениям мелких отколовшихся фрагментов минералов, что мы связываем с наличием конденсационной влаги, необходимой для роста грибов.

Предполагается дальнейшее изучение содержания микроэлементов в биомассе выращенных на минералах грибов.

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЧЕРНЫХ ДРОЖЖЕПОДОБНЫХ ГРИБОВ-ЭКСТРЕМОФИЛОВ

Василевская А. И., Школьный А. Т., Захарченко В. А., Курченко И. Н., Артышкова Л. В.
Институт микробиологии и вирусологии НАН Украины
Украина, 03143, Киев, ул. Заболотного, д. 154

Черные дрожжеподобные грибы широко распространены в природе, встречаются на разнообразных субстратах и характеризуются сложностью их идентификации. Из указанных грибов наиболее часто изолируются представители рода *Aureobasidium* и сравнительно редко — родов *Hormonema* и *Exophiala*. Среди грибов этой группы наиболее полно изучен *A. pullulans*, являющийся продуцентом ряда биологически активных веществ. У этого вида доказана меланиновая природа темного пигмента. Биологические особенности видов других родов грибов этой группы изучены недостаточно. Объектами нашего исследования были штаммы *A. pullulans* и впервые обнаруженные в микробиоте Украины *H. dematioides* и *E. cf. jeanselmei*. Грибы были выделены главным образом из экстремальных местообитаний (радиационно загрязненная почва, лесная подстилка, поверхность стен помещений 4-го блока ЧАЭС, засоленные почвы и др.). Идентификация ряда штаммов, выполненная по морфологическим признакам, была подтверждена молекулярно-генетическим методом сиквинирования в CBS (Нидерланды).

Изучено влияние ряда источников углерода и азота, принадлежащих к различным классам соединений (24 и 30 веществ соответственно), на количество накопленной в условиях глубинного культивирования биомассы исследованных штаммов грибов и ее пигментацию. Наиболее активный рост отмечали на средах с полисахаридами (картофельным и кукурузным) и природных средах (жидкое сусло и картофельно-глюкозная). Большинство изученных штаммов не росли на среде с глицерином. Органические источники азота были более благоприятными для накопления биомассы грибами по сравнению с неорганическими источниками.

В условиях роста на средах с различными источниками азота, и особенно углерода, отмечали широкий диапазон изменений пигментации грибной биомассы.

Наблюдающиеся изменения были выражены количественно путем использования метода ЭПР, который позволяет регистрировать содержание стабильных свободных радикалов (парамагнитных центров) меланинового пигмента, обуславливающего окраску биомассы. Показано, что при росте на средах с различными источниками углерода и азота образуется меланиновый пигмент, характеризующийся разным количеством парамагнитных центров. Полученные результаты могут быть полезными при создании оптимальных режимов культивирования черных дрожжеподобных грибов — продуцентов меланинового пигмента.

Изучение линейного роста грибов в диапазоне температур от 5 до 37°C показало, что большинство из них принадлежат к мезофилам. Исключением были некоторые штаммы, изолированные из высоко радиоактивных экотопов, которые проявили психротолерантность. Изменения содержания парамагнитных центров меланина в меньшей мере зависели от влияния температурного режима, чем при росте штаммов на различных источниках питания.

При УФ-облучении в течение длительного времени взвеси конидий изученных штаммов показана неоднородность, гетерогенность их по уровню и характеру кривых выживаемости. Наиболее устойчивыми к УФ-облучению были большинство штаммов *A. pullulans* и менее устойчивыми — виды родов *Hormonema* и *Exophiala*.

В результате качественного и количественного (использовано 11 различных субстратов) определений тирозиназной и лакказной активностей у изученных штаммов установлена эндогенная природа этих ферментов. Показано, что пигмент исследованных штаммов принадлежит главным образом к меланину катехольного типа.

Работа выполнена при финансовой поддержке Международным фондом INTAS (грант INTAS 97 — №726).

БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ АПОПТОЗА У ДРОЖЖЕВЫХ ОРГАНИЗМОВ

Галынкин В. А., Миндукшев И. В., Цыган В. Н., Ильина Ю. В.
Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия
Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14

Процесс развития низших грибов включает в себя ряд альтернативных программ: программа роста (развитие и организация клеточного цикла); программа

индукции de novo ферментных систем и программа гибели (апоптоз или некроз). Изучение взаимосвязи параметров клеточного цикла с механизмами актива-

ции апоптоза расширяет возможности управления процессом культивирования грибов.

Объектом внимания исследователей в последнее время стал клеточный цикл, в частности, прохождения клеткой точки старта в G_1 -фазе (S) или переход в состояние покоя (G_0 , фаза) с последующим возвращением в клеточный цикл, или переход в апоптоз. G_0 -фаза интересна тем, что клетки в этой фазе способны синтезировать вторичные метаболиты, в том числе БАВ, при меньших затратах субстратов.

Учитывая, что в настоящее время нет еще достаточных данных, подтверждающих наличие апоптоза у грибов, мы изучали данное явление у дрожжеподобных грибов *Rhodotorula rubra* ВКМУ341 вар. 203-3.

Изучение возрастной структуры синхронной дрож-

жевой популяции проводили морфометрическим способом и методом проточной цитофлуорометрии. Кривые распределения клеток по содержанию ДНК имеют различный вид: с одним максимумом, с двумя максимумами, с одним максимумом и коротким плато, ордината которого соответствует двойному хромосомному набору ДНК.

В отличие от гистограмм животных, распределение дрожжевых клеток характеризуется отсутствием широкого плато между максимумами. В работе исследовано изменение содержания количества дрожжевых клеток в состоянии апоптоза при культивировании популяции, что подтверждено как морфометрическими методами, так и анализом биохимических маркеров.

ПАРАМЕТРЫ РОСТА ДРОЖЖЕЙ В СОСТОЯНИИ ОСМОТИЧЕСКОГО СТРЕССА И ГИПОКСИИ

Гейдебрехт О. В., Арзуманян В. Г.

Институт микробиологии РАН

117811, Москва, пр. 60-летия Октября, д. 7/2

В условиях многих природных экосистем микроорганизмы способны выживать при одновременном воздействии нескольких стрессорных факторов — супраоптимальных температуре и рН среды, голодании по основным субстратам, высокой осмолярности, гипоксии и др. Критериями «благополучия» популяции считают количественные параметры роста (время генерации, количество клеток, выход биомассы). Целью настоящей работы явилась оценка ростовых параметров дрожжей в условиях различной осмолярности и аэрации среды.

Объектом исследования явились дрожжи, выделенные из природных экосистем с высоким содержанием солей. *Candida lipolytica* — из Бондюжского нефтяного месторождения (Татарстан); *Rhodotorula aurantiaca* — из соленой воды Сакского лимана (Крым); *Malassezia* spp. — с поверхности кожи здорового человека. Видовую идентификацию дрожжей *C. lipolytica* и *R. aurantiaca* проводили классическими методами [Бабьева И. П., 1979; Yagrow D., 1998], используя программу Барнета [Barnett, 1996]. Результаты идентификации были подтверждены методом ПЦР рибосомальной ДНК [Lieckfeldt, 1993]. Видовую идентификацию липофильных дрожжей *Malassezia* spp. проводили методом Guillot и Gueho [Guillot J., Gueho E, 1996] и путем кариотипирования ядерной ДНК [Johnston, 1986; Voekhout, 1993]. На основании полученных данных можно предположить, что полученный изолят представляет собой один из подвидов *M. furfur* либо новый вид *Malassezia*.

Дрожжи *C. lipolytica* и *R. aurantiaca* выращивали в жидкой ГПД, *Malassezia* spp. — в среде Диксона [Guillot, Gueho, 1996]. В аэробных вариантах — флаконы закрывали ватными пробками; микроаэробных — флаконы были укупорены резиновыми пробками, проколотыми шприцевыми иглами диаметром 0,8 мм с ватными шариками. Различные концентрации соли

в среде культивирования создавали добавлением NaCl.

Обнаружено, что при выращивании в аэробных условиях у всех исследуемых культур скорость роста была относительно постоянной в широком диапазоне концентрации NaCl: в фазе замедления роста (4 сутки) для *Malassezia* spp. этот диапазон составлял 0-12 %, для *C. lipolytica* — 0-13 %, для *R. aurantiaca* — 0-15%. Дальнейшее повышение концентрации соли приводило к снижению оптической плотности на два порядка. То есть все три изолята проявляли свойства *галотолерантных микроорганизмов* по классификации Кашнера.

В микроаэробных условиях у всех культур наблюдали снижение оптической плотности примерно на порядок по сравнению с аэробными, но при этом рост исследуемых культур имел ряд особенностей. Так, у *Malassezia* spp. отмечено уменьшение диапазона оптимальных концентраций NaCl до 7,5% при сохранении скорости роста в этом диапазоне на постоянном уровне (*уменьшение галотолерантности*). У *R. aurantiaca* в этих условиях отмечено плавное снижение скорости роста в диапазоне 0-15% NaCl (*уменьшение галотолерантности*). Самой необычной была зависимость скорости роста от концентрации соли у *C. lipolytica*: помимо расширения диапазона оптимальных концентраций до 14%, отмечено появление выраженного максимума при 7,5% NaCl. Иными словами в микроаэробных условиях *C. lipolytica* приобретает свойства умеренно галофильного микроорганизма.

Таким образом, сочетанное действие двух стрессорных факторов приводит к изменению ростовых параметров и свойств культур по сравнению с условиями действия одного фактора. Установленные различия в направленности этих изменений, возможно, обусловлены особенностями природных экосистем изученных микроорганизмов.

БИОПОЛИМЕРЫ КЛЕТочНОЙ СТЕНКИ ВЫСШИХ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ*Горовой Л. Ф., Бурдюкова Л. И.**Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины
Украина, 03143, Киев, ул. Заболотного, д. 148*

Клеточная стенка грибных гиф — это сложная по строению и развитию полифункциональная органелла. На долю клеточной стенки приходится значительная, а у многих видов и большая часть биомассы гриба. В настоящее время основная масса накопленных знаний относится к клеточной стенке низших грибов. Клеточная стенка обширной и разнообразной группы высших базидиомицетов изучена относительно слабо.

Наиболее разработана морфология клеточной стенки высших базидиомицетов, поскольку этот признак давно используется в систематике и таксономии. Однако по ультратонкой структуре до сих пор много вопросов. Использование послойного химического и ферментативного разрушения в сочетании с электронной микроскопией и другими методами анализа не позволяет полностью и достоверно проследить за взаимопроникновением компонентов соседних слоев.

Основным структурным биополимером клеточной стенки высших базидиомицетов принято считать хитин. По рентгеновским, ИК-спектрам и химическому составу он очень близок к хитину ракообразных. Содержание хитина в клеточной стенке колеблется в довольно широких пределах. Наиболее высокое — до 65% — оно у некоторых афиллофоровых грибов. Грибной хитин имеет форму микрофибрилл, которые образуют в клеточной стенке пространственную решетку.

Вторым основным компонентом клеточной стенки высших базидиальных грибов являются глюканы — разнообразная группа полисахаридов D-глюкозы.

Различают несколько фракций глюканов: водорастворимые, щелочерастворимые и нерастворимые. Грибные глюканы привлекают внимание исследователей, прежде всего, своей высокой иммуномодулирующей и противоопухолевой активностью. Физиологическая роль глюканов в клеточных стенках высших базидиомицетов изучена недостаточно. Очевидной является их роль как запасных веществ, в удержании воды вокруг гифы, «цементируя» микрофибриллы хитина они формируют скелет клеточной стенки. Не вызывает сомнения и участие их в транспорте веществ.

Важным компонентом клеточной стенки высших грибов являются меланины, обеспечивающие грибам устойчивость к неблагоприятным условиям среды обитания. Содержание меланинов может сильно варьировать. Они трудно поддаются точному количественному и качественному определению, поскольку известные методы не позволяют провести их полную количественную экстракцию.

Нами разработанные методы выделения фракций отдельных биополимеров клеточной стенки высших базидиомицетов и их комплексов. Изучение свойств этих биополимеров показало большие перспективы их практического использования в разных областях. Наибольший интерес представляют антибактериальные и противовирусные свойства грибных комплексов, которые по своей эффективности не уступают современным антибиотикам, но в отличие от них не обладают токсичностью.

**ВЛИЯНИЕ АГЕНТОВ, ДЕПОЛЯРИЗУЮЩИХ
ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКУЮ МЕМБРАНУ НА ФОРМООБРАЗОВАНИЕ
МИЦЕЛИЯ *THIELAVIA TERRESTRIS* (APINIS) MALLOCH ET CAIN***Грозозова Е. Н., Войчук С. И.**Институт микробиологии и вирусологии НАН Украины
Украина, 003143, Киев, ул. Заболотного, д. 154*

Использование мембранно-активных антибиотиков (типа нистатина) и протонаторов (ДНФ, FCCP, СССР) для деполяризации мембраны является универсальным методом исследования её участия в процессах жизнедеятельности микроорганизмов различных филогенетических групп, в том числе и грибов.

Исследование проводилось на термофильном микромикете *Thielavia terrestris* (Apinis) Malloch et Cain, способным образовывать, в зависимости от условий глубинного культивирования, следующие типы мицелия: нитчатый, пеллетный и в виде «крупы». Поскольку внесение в среду исследуемых веществ (кроме хлористого калия) полностью блокировало развитие гриба, мы ограничились их кратковременным воздействием в различные периоды развития организма.

Установлено, что внесение на ранних этапах культивирования конидий (2-4 часа) хлористого калия в высоких концентрациях (200-900 мМ), нистатина (3 мкг/мл), 2,4-динитрофенола (0,3 мкМ) и FCCP (30 мкМ) приводило к изменению морфологии в направлении развития нитчатой формы мицелия. Внесение указанных агентов на более поздних этапах культивирования (18 час) не оказывало столь выраженного эффекта на морфологию мицелия. Это, по-видимому, свидетельствует об участии цитоплазматической мембраны в восприятии и передаче информационного сигнала у *Thielavia terrestris* (Apinis) Malloch et Cain в определённом временном интервале. Предложена схема участия энергизации цитоплазматической мембраны в рецепции морфогенного сигнала и его преобразовании в форме увеличения пула цАМФ.

МИТОХОНДРИИ ДРОЖЖЕЙ *ENDOMYCES MAGNUSII* ЛИШЕНЫ ФЕНОМЕНА Ca^{2+} -ЗАВИСИМОЙ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ МЕМБРАННОЙ ПРОНИЦАЕМОСТИ

Дерябина Ю. И., Исакова Е. П., Звягильская Р. А.
Институт биохимии имени А. Н. Баха РАН,
117071, Москва, Ленинский пр., д. 33

Известно, что Ca^{2+} -зависимая неспецифическая мембранная проницаемость (Ca^{2+} -зависимая пора) возникает в присутствии ионов Ca^{2+} и широкого ряда индуцирующих агентов — неорганического фосфата, разобщителей, ингибиторов, агентов, вызывающих окисление никотинамид- и адениннуклеотидов. Важнейшими признаками возникновения этого феномена являются высокоамплитудное набухание митохондрий, связанное с проникновением в митохондриальный матрикс низкомолекулярных соединений (Mg J 1500 Да) и падение митохондриального мембранного потенциала, которые в совокупности свидетельствуют о снижении параметров сопряжения вследствие нарушения мембранной интактности.

В представленной работе изучалась возможность Ca^{2+} -зависимой пермеабилзации митохондрий дрожжей *Endomyces magnusii*. Показано, что ионы Ca^{2+} не индуцировали высокоамплитудное набухание митохондрий дрожжей в присутствии целого ряда индукторов поры — неорганического фосфата (2-10 мМ), гидроперекиси *tert*-ВОН (500 мМ), SH-реагента *N*-этилmaleимида (500 мМ), окислителя эндогенных никотинамиднуклеотидов оксалоацетата (1 мМ), ингибитора транслоказы адениновых нуклеотидов атрактилозида (33 мМ) и разобщителя СССР (1 мМ). Индукция неспецифической проницаемости не наблюдалась

даже в случае использования надпороговых концентраций Ca^{2+} (600-1000 нмоль на 1 мг митохондриального белка). Подобным образом вели себя дезэнергизованные по модели Халестрапа (кратковременная преинкубация митохондриальной суспензии с антимицином А (8 мкг на 1 мг белка) и А23187 (2 мМ)) и истощенные по адениннуклеотидам митохондрии (выделение митохондрий осуществлялось в присутствии пиррофосфата), находящиеся в условиях, наиболее благоприятных для открытия поры.

Ионы кальция не вызывали коллапс мембранного потенциала митохондрий. Поглощение Ca^{2+} митохондриальной суспензией стимулировало незначительное падение потенциала вследствие поглощения иона, который постепенно восстанавливался и поддерживался на постоянном уровне в течение всего времени эксперимента и падал только в результате анаэробноза. Интересно отметить, что митохондрии проявляли нечувствительность к циклоспоруину А — специфическому ингибитору Ca^{2+} -зависимой поры.

На основании полученных данных сделан вывод, что митохондрии дрожжей *Endomyces magnusii* не обладают феноменом Ca^{2+} -зависимой мембранной проницаемости в наиболее известных экспериментальных моделях.

СОТИНГ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ БЕЛКОВ ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Егоров С. Н.
Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова
119899, Москва, Воробьевы горы, МГУ, биологический факультет

Большое количество информации накоплено за последние десятилетия о механизмах и путях экскреции внеклеточных белков эукариот. Транспортные потоки внеклеточных белков у разных организмов похожи и общая их направленность идет от эндоплазматического ретикулума через аппарат Гольджи к поверхности клетки. Одним из обсуждаемых в литературе отличий в организации потока внеклеточных белков у дрожжевой клетки и клеток животных, является отсутствие регулируемого потока транспортных везикул у дрожжей. Для компонентов клеточной поверхности дрожжевой клетки, в том числе и белков, не были обнаружены сигналы сортировки и считается, что регуляция содержания единого потока транспортных везикул в почку определяется на уровне транскрипции генов.

В качестве модельных внеклеточных гликопротеинов нами были выбраны кислые фосфатазы. Эти ферменты являются стандартными маркерами внеклеточного транспортного пути, кодируются четырьмя структурными генами и разделены на две группы по степе-

ни зависимости биосинтеза от концентрации внеклеточного свободного фосфата. Нами изучены зависимости экскреции кислых фосфатаз с различным полипептидным набором. Статистически достоверно показана связь экскреции конститутивной кислой фосфатазы (кКФ) с процессом почкования и отсутствие такой зависимости для репрессибельной кислой фосфатазы (рКФ). Выделены два типа транспортных везикул, определяющих экскрецию кКФ и рКФ. Показано, что распределение ферментативной активности по данным типам везикул зависит от полипептидного состава кислых фосфатаз. Полипептиды рPho10 и рPho11, определяют направление транспорта характерное для нативной рКФ. Проведено сравнительное изучение кинетических свойств всех ферментов, входящих в состав внеклеточных кислых фосфатаз.

Полученные результаты подтверждают высказанную нами ранее гипотезу о различной функциональной роли отдельных кислых фосфатаз дрожжей, которая не ограничена только добычей фосфора необходимого для метаболизма клетки.

ШТАММОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЧИСТЫХ КУЛЬТУР ТРУТОВИКА ЛАКИРОВАННОГО *GANODERMA LUCIDUM (FR.) KARST*

Завьялова Л.А., Антимонова А.В., Гарибова Л.В., Краснополянская Л.М.
Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова,
НИИНА РАМИ имени Г. Ф.Гаузе
Биологический факультет МГУ, каф. микологии и альгологии
119899, Москва, Воробьевы горы, МГУ, дом 1, кор. 12

Трутовик лакированный — ксилотрофный базидиомицет, вызывающий белую гниль листовых пород, в настоящее время интенсивно изучается в ряде стран. Связано это с обнаруженным у данного вида широким спектром фармакологических свойств. Экстракты базидиом, мицелия и культуральной жидкости в разной степени обладают антиопухолевым действием, гипополипидемической и антибактериальной активностью. Кроме того, они обладают способностью нормализовать кровяное давление и терапевтическим действием при сердечно-сосудистых заболеваниях, способствуют снижению уровня сахара в крови и др. (Феофилова, 1996; Краснополянская, 1998).

Исследованы морфолого-культуральные и микроскопические особенности чистых культур штаммов разного географического происхождения с помощью светового и электронного сканирующего микроскопов, их отношение к диапазону температур от +15°C до +30°C и способность к образованию базидиом *in vitro*.

Оптимальная температура для роста всех исследованных штаммов на агаризованной среде (сусло 4° по Баллингу) 24–25°C. При этом штаммы по диаметру колоний на 10-е сутки роста разделились на две группы: I — медленно растущие и II — быстро растущие.

Отмечены значительные различия по морфолого-культуральным признакам: I группа имела зональную колонию с порошистым краем и тяжистым центром желтовато-серого цвета, инверзум в центре колонии светло-коричневый; II группа образует незональную колонию в виде плотной пленки на поверхности субстрата с порошистой поверхностью, инверзум белый.

У быстрорастущих штаммов при микроскопировании обнаружены стабильно присутствующие многочисленные структуры в виде лимонovidных толсто-стенных образований, в 1,5–2 раза превышающие по толщине мицелий, сидящие на коротких ножках. Предположительно, эти структуры могут быть терминальными хламидоспорами. У штаммов медленно растущих такие структуры наблюдались очень редко. В стандартных условиях *in vitro* были получены базидиомы штаммов быстрорастущих, медленно растущие не плодоносили.

Можно предположить, что отмеченные штаммовые различия связаны с их географическим происхождением и могут оказать влияние на фармакологические характеристики отдельных культур.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований и программы «Университеты России»

КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПОЛИАМИНОСАХАРИДОВ КЛЕТЧНОЙ СТЕНКИ ГРИБОВ С КАТИОНАМИ МЕТАЛЛОВ

Ильченко Н. Н., Горовой Л. Ф.
Институт клеточной биологии
и генетической инженерии НАН Украины
Украина, 03143, Киев, ул. Заболотного, д. 148

Феноменальная способность грибов накапливать тяжелые металлы и радионуклиды широко известна. Эту способность связывают с наличием в клеточной стенке грибов полиаминосахаридов, представляющих собой неразветленные цепи связанных остатков N-ацетил-D-глюкозамина (хитин) или D-глюкозамина (хитозан). Общеизвестно, что основной вклад в связывание n-валентных катионов металлов этими полимерами вносит образование координационной связи между свободной электронной парой атома азота и вакантными орбитальными катиона металла по донорно-акцепторному механизму. Однако, важное значение имеет взаимодействие катиона металла с OH-группами или атомами кислорода глюкопиранозных колец.

В работе предпринята попытка привлечения аппарата квантовой химии для понимания природы взаимодействия и определения мест локализации катио-

нов металлов при их связи с полиаминосахаридами. В качестве первого шага проведено моделирование взаимодействия в системе катион металла — D-глюкозамин. Для расчетов использовались катионы Na⁺, Zn²⁺ и Cd²⁺. Такой ряд металлов был выбран целенаправленно, поскольку известно, что щелочные элементы практически не адсорбируются на полиаминосахаридах. При этом мы также попытались понять природу и определить места избирательного связывания катионов тяжелых металлов. Проведено также изучение влияния первой гидратной оболочки вокруг катионов металла, которая моделировалась двумя и четырьмя молекулами воды, на особенности комплексообразования в изучаемой системе. Неэмпирические HF расчеты в полноэлектронном 6-31G(d) и псевдопотенциальном SDD базисных наборах с использованием энергии корреляции на MP2 уровне выполнены по программе GAUSSIAN 98. Все расчеты проведены в

режиме полной оптимизации геометрических параметров исследуемой системы. Стартовыми точками для оптимизации служили структуры, в которых использовался 4C_1 конформер D-глюкозамина, а катион металла располагался возле аминогруппы и ОН-группы, которая принадлежит атому C_1 (структура 1) или атома кислорода кольца (структура 2).

Расчеты показали, что во всех случаях энергетически более выгодными являются структуры, в которых катионы металла, независимо от природы, заряда и атомного радиуса располагаются возле атома кис-

лорода D-глюкозамина. Однако, следует отметить, что увеличение числа молекул в гидратной оболочке катиона приводит к тому, что уменьшается разница между полными энергиями структур 1 и 2. Так, например, для «голового» катиона Cd^{2+} , гидратированного двумя и четырьмя молекулами воды, эта величина равняется соответственно 10.09, 4.41, 1.13 ккал/моль. Это свидетельствует о том, что дальнейшее увеличение размера гидратной оболочки вокруг катиона делает равновероятным нахождение его в двух различных положениях.

ХАРАКТЕРИСТКА ТРАНСПОРТНОГО МУТАНТА *NEUROSPORA CRASSA*–*NAP*

*Исакова Е. П., Горпенко Л. В., Шурубор Е. И., Ершов Ю. В.,
Потапова Т. В.,* Звягильская Р. А., Белозерская Т. А.*

*Институт биохимии имени А. Н. Баха РАН
117071, Москва, Ленинский пр., д. 33*

**Институт физико-химической биологии имени А. Н. Белозерского
119899, Москва, МГУ, ул. акад. Р. В. Хохлова, д. 4.*

Транспортный мутант *nap* был выделен в 1968 г. [1]. Представленный штамм оказался результатом мутации одного гена, который был в дальнейшем клонирован и секвенирован и его белковый продукт охарактеризован как пермеаза аминокислот. Было выявлено, что у *nap* на 30–60% снижен транспорт аминокислот, уридина и глюкозы, вдвое снижена активность H^+ -АТФазы плазматической мембраны и понижен мембранный потенциал. Плейотропный характер этой мутации стимулировал развитие исследований по характеристике этого штамма. Оказалось, что у мутанта скорость роста была ниже, чем у дикого типа, *nap* синтезировал вдвое больше нейроспороксантина, а под влиянием света, стимулирующего каротиногенез у грибов, количество каротиноидов как у мутанта, так и у дикого типа возрастало вдвое. В мицелии *nap* содержание внутриклеточного АТФ в полтора раза превышало его количество в клетках дикого типа, по-видимому, ввиду снижения активности H^+ -АТФазы плазмалеммы, обычно расходующей на свою работу до 50% внутриклеточного АТФ. Однако нельзя исключать второго возможного источника этого повышения — дыхательной цепи митохондрий. В связи с этим, был разработан метод выделения

прочно-сопряженных митохондрий из мицелия *N. crassa* дикого типа и мутанта на разных стадиях роста — логарифмической и стационарной. Выделенные митохондриальные препараты были физиологически интактными. В дыхательной цепи митохондрий обоих типов функционировали все три пункта энергетического сопряжения. Степень участия альтернативной оксидазы в окислении субстратов возрастала при переходе культур к стационарной фазе роста. В митохондриях из мицелия мутанта как уровень цианидрезистентного дыхания (не сопряженного с фосфорилированием), так и уровень ротенон-нечувствительного дыхания оказались ниже, чем в митохондриях из клеток дикого типа. Таким образом, вклад альтернативных (нефосфорилирующих) путей окисления в общее дыхание оказался меньше в мицелии мутантного штамма, у которого увеличен и коэффициент потребления субстрата. Не исключено, что эти свойства дыхательной цепи митохондрий, хотя и в меньшей степени, чем ослабление транспортной активности плазматической мембраны, могли способствовать увеличению внутриклеточного АТФ в мицелии мутантного штамма.

Работа поддержана грантом РФФИ 01-04-48567

КЛЕТочНАЯ СТЕНКА ДРОЖЖЕЙ: СТРОЕНИЕ, БИОСИНТЕЗ КОМПОНЕНТОВ И СБОРКА

Калёбина Т. С., Кулаев И. С.

*Московский Государственный Университет имени М. В. Ломоносова
119899, Москва, Воробьевы Горы, МГУ, Биол. факультет
Каф. молекулярной биологии.*

Клеточная стенка (КС) дрожжей представляет собой динамичную, полифункциональную и физиологически активную органеллу. КС выполняет функцию наружного скелета клетки, в ней располагаются фер-

менты и закреплено большое количество ферментов, а также белков с иной метаболической активностью. Основными структурными компонентами КС дрожжей являются полисахариды (хитин, глюканы)

и маннопротеины. Наиболее примечательной особенностью биогенеза КС является тот факт, что синтез составляющих ее компонентов происходит внутри клетки или на цитоплазматической мембране, в то время как формирование молекулярного ансамбля осуществляется за пределами цитоплазматической мембраны. В докладе представлены современные схемы строения КС дрожжей и рассматриваются основ-

ные этапы биосинтеза и сборки ее компонентов в единую молекулярную структуру. Отдельно обсуждается роль маннопротеинов в формировании молекулярного ансамбля КС дрожжей. Приводятся новые экспериментальные данные, свидетельствующие о важной структурной роли белков КС дрожжей.

Работа поддержана грантами РФФИ № 00-04-48356 и 00-15-97851.

СОПРЯЖЕНИЕ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ С ДЕГРАДАЦИЕЙ ЛИГНИНА У ДЕРЕВОРАЗРУШАЮЩИХ БАЗИДИОМИЦЕТОВ: ОТ ГИПОТЕЗЫ К ФАКТУ

Капич А. Н., Шишкина Л. Н.*

Международный экологический университет имени А. Д. Сахарова, 220009, Минск, ул. Долгобродская, д. 23

**Институт биохимической физики имени Н. М. Эмануэля РАН*

**119991, Москва, ул. Косыгина, д. 4*

В 1990 г. на основании изучения состава липидов мицелия дереворазрушающих базидиомицетов нами впервые было предложено (Капич, 1990; Капич и др. 1990), что полиненасыщенные жирные кислоты, входящие в состав липидов мицелия этих грибов, могут окисляться с продукцией перекисных радикалов, которые способны принимать участие в атаке на лигнин, входящий в состав древесины. Впоследствии это предположение было развито в гипотезу сопряжения перекисного окисления липидов мицелия ксилотрофных базидиомицетов с деградацией лигнина (Капич, 1993; Капич и Шишкина, 1995). Предлагалось, что свободно-радикальное окисление лигнина, инициируемое лигнинолитическими ферментами, может заметно усиливаться перекисными радикалами липидов, что и обеспечивает сопряжение процессов ПОЛ с деструкцией лигнина. Первые экспериментальные доказательства возможности такого сопряжения были получены американскими учеными (Бао et al. 1994). Оказалось, что марганец пероксидаза, продуцируемая грибами белой гнили, способна инициировать перекисное окисление ненасыщенных жирных кислот, входящих в состав сурфактанта Твин 80. В такого рода системах происходило окислительное разрушение наиболее устойчивых нефенольных модельных соединений лигнина, которые в нормальных условиях этим ферментом не окисляются. Замена Твина 80 на Твин 20, который содержит только насыщенные жирные кислоты, приводила к потере этого свойства. Дальнейшие исследования показали, что в системах с ини-

цированным марганец пероксидазой перекисным окислением липидов идет окислительное разрушение разнообразных устойчивых к окислению ксенобиотиков (Moen and Hammel 1994; Bogan et al. 1996) и даже минерализация полимерных модельных соединений лигнина (Kapich et al. 1999a). Судя по всему, марганец пероксидаза обладает субстратной специфичностью по отношению к линолевой кислоте. Таким образом, способность грибов белой гнили к преимущественному накоплению линолевой кислоты в их фосфолипидах может рассматриваться как своего рода биохимическая адаптация, обеспечивающая им возможность более эффективного разрушения лигнина, а сами грибные липиды, и в частности линолевая кислота, как «масло», которое подливается в огонь ферментативного горения лигнина. Роль перекисных радикалов как потенциальных низко молекулярных медиаторов, способных разрушать лигнин, была продемонстрирована в экспериментах с химическими системами, генерирующими эти радикалы (Kapich et al., 1999b). Установлено также (Watanabe et al. 2000), что грибные марганец пероксидазы способны окислять линолевую кислоту с продукцией ацильных радикалов, которые также рассматриваются в качестве возможных агентов, участвующих в атаке на лигнин. Таким образом, экспериментальные данные, полученные в разных лабораториях мира, подтверждают предложенную нами гипотезу о сопряжении перекисного окисления липидов с деградацией лигнина у дереворазрушающих базидиомицетов.

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ УЧАСТИЯ РИАНОДИНОВОГО РЕЦЕПТОРА В АВТОКОЛЕБАНИЯХ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ПЛАЗМОДИЯ *PHYSARUM POLYCEPHALUM*

Клюева А. А., Матвеева Н. Б., Теплов В. А., Бейлина С. И.

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН 142290, Пущино, Московская область

Исследования, проведенные на клетках различных организмов, показали наличие двух типов возбужденных внутриклеточных каналов, высвобождающих Ca^{2+}

из внутриклеточных хранилищ. Первый активируется инозитол-1,3,5-трифосфатом и является основным каналом, осуществляющим высвобождение кальция

в ответ на химические стимулы, рецептируемые на плазматической мембране. Другой — рианодиновый рецептор (RuR), был впервые обнаружен в мышцах, где он функционирует как элемент системы электро-механического сопряжения. Позднее каналы этого типа были открыты во многих клетках животных и растений. Целью наших исследований было выяснение наличия и определение роли RuR в автоколебаниях сократительной активности плазмодия *Physarum polycephalum*.

Physarum polycephalum, штамм LU 887хМА 362 выращивали в виде суспензии микроплазмодиев — округлых многоядерных клеток размерами 100-200 мкм.

Коррелирующие с изменениями внутриклеточной концентрации Ca^{2+} колебания толщины и пульсирующее перемещение края микроплазмодия регистрировали по изменению интенсивности проходящего через объект физиологически неактивного красного света. Регистрирующий элемент монтировался на одном из окуляров бинокулярной лупы, что позволяло одновременно с выводом на самописец колебаний освещенности в регистрируемом участке визуально оценивать поле зрения.

Показано, что активатор RuR кофеин в концентрациях 10-30 мМ вызывает временное увеличение скорости возвратно-поступательного потока протоплазмы и возрастание частоты колебаний сократительной активности. Часто за этой реакцией следует выход из

колебательного режима длительностью от 10 до 30 мин, сопровождающийся сокращением и откреплением микроплазмодиев от подложки. Возобновившиеся автоколебания имеют, как правило, больший период, чем в контроле. В 50 мМ концентрации кофеин вызывает быстрое и необратимое прекращение сократительной активности.

Ингибитор RuR прокаин в концентрации 50 мМ, добавленный за 15-20 мин до кофеина или одновременно с ним, не только предотвращает остановку колебаний, вызываемую 50 мМ кофеином, но и полностью устраняет все описанные выше эффекты. Модулятор RuR рианодин в концентрациях 50-100 мкМ, ингибирующий рецептор, также полностью или частично устраняет эффекты кофеина. Сами по себе оба ингибитора не подавляют сократительной активности, однако, применительно к половине популяции микроплазмодиев они вызывают изменения режима автоколебаний.

Проведенные эксперименты показали наличие в плазмодии *Physarum polycephalum* возбудимых внутриклеточных каналов, фармакологические свойства которых характерны для RuR. Такие каналы не являются обязательным компонентом автоколебательной системы плазмодия, однако, при определенных физиологических условиях они могут быть вовлечены в регуляцию автоколебаний.

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований.

ВЫБОР ПОЛОВОГО ИЛИ БЕСПОЛОГО ПУТИ РАЗВИТИЯ У *NEUROSPORA CRASSA* ЗАВИСИТ ОТ ОСВЕЩЕНИЯ И ЧУВСТВИТЕЛЕН К ИНГИБИТОРУ ДНК-МЕТИЛИРОВАНИЯ

**Крицкий М. С., Филиппович С. Ю.,
Афанасьева Т. П., Бачурина Г. П.,
Руссо В. Э. А.***

*Институт биохимии имени А. Н. Баха РАН
119071, Москва, Ленинский проспект, д. 33
*Max-Planck-Institut für molekulare Genetik
Германия, Berlin D-14195, Ihnestrasse, 73*

Исследовали интенсивность образования репродуктивных структур на поверхностно растущем мицелии *Neurospora crassa* после индукции формирования этих структур переносом мицелия с полноценной среды (модифицированный агар Фогеля) на среду, лишенную источников азота. Кратковременное (2 мин.) освещение мицелия синим светом (1 350-500 nm, 1 Вт/см²) подавляло спороношение бесполого типа (конидиогенез) и приводило к увеличению количества образовавшихся женских половых структур — протоперитециев. Обработка ингибитором ДНК-метилирования 5-азациитидином (концентрация в среде в диапазоне от 3 до 300 мМ) вызывала эффект противоположный действию света, т. е. тормозила образование протоперитециев и стимулировала конидиогенез. Изменение количества репродуктивных структур под влиянием освещения и действия ингибитора проявлялось очень сильно. Так, в присутствии 300 мМ 5-азациитидина количество протоперитециев, образовавшихся в темноте, снижалось на два порядка величин, а конидио-

генез в опытах со световой экспозицией интенсифицировался почти на три порядка по сравнению с мицелием, не обработанным ингибитором. Как в темноте, так и в подвергнутом освещению мицелии, количество конидий и протоперитециев образовавшихся после воздействия разных концентраций 5-азациитидина было связано обратной логарифмической зависимостью. Полученные результаты дают основание полагать, что выбор грибным организмом развития по половому или бесполому циклу был связан с функционированием светозависимого ДНК-метилирования. Поскольку в вегетативном мицелии 5-азациитидин лишь в слабой мере (до 30 %) стимулировал фотокариогенез, находящийся под контролем того же фоторецепторного белка (WC-1), что и фотостимулируемое образование протоперитециев, можно думать, что в вегетативном мицелии и при образовании репродуктивных структур функционируют разные ферментные системы ДНК-метилирования.

Работа поддержана грантом РФФИ 01-04-48268

О РАЗЛИЧИЯХ В МОЛЕКУЛЯРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ КЛЕТОЧНЫХ СТЕНОК ДРОЖЖЕЙ *CANDIDA UTILIS* И *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Лауринавичюте Д. К., Алексеева О. В., Моренков О. С.*, Калебина Т. С.
 Московский Государственный Университет им. М.В.Ломоносова,
 кафедра молекулярной биологии, Биологический Факультет,
 119899, Москва, Воробьевы Горы
 *Институт Биофизики Клетки РАН
 142290, Пущино

Клеточная стенка (КС) дрожжей участвует в поддержании формы клетки, защите ее от повреждений и осмотического шока, а также, у патогенных дрожжей, участвует во взаимодействии микроорганизма с хозяином. Считается, что молекулярная структура КС аскомицетных дрожжей весьма консервативна. В то же время молекулярная структура КС, по всей вероятности, индивидуальна для дрожжей различных родов и видов. Различия в структурной роли белков и полисахаридов в молекулярном ансамбле КС дрожжей — один из малоисследованных аспектов указанной индивидуальности.

В данной работе был проведен сравнительный ана-

лиз КС дрожжей *Candida utilis* и *S.cerevisiae*. Выделены и охарактеризованы белки глюкантрансфераза Bgl2p и инвертаза КС дрожжей *C.utilis*. С помощью антител показано, что белок Bgl2p из КС дрожжей *C.utilis* гомологичен охарактеризованному ранее белку КС дрожжей *S.cerevisiae*, в то время как инвертаза в КС дрожжей *S.cerevisiae* не обнаруживается. Биохимический, а также электронномикроскопический анализы показали, что в формировании и функционировании КС *C.utilis* маннопротеины могут быть более важны, чем в КС *S.cerevisiae*.

Работа поддержана грантами РФФИ № 00-04-48356, 01-04-06571 и 00-15-97851.

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ГРИБА *PENICILLIUM FUNICULOSUM* (ТНОМ) К НИКЕЛЮ И ЦИНКУ НА РАЗЛИЧНЫХ СТАДИЯХ ЕГО РАЗВИТИЯ

Левинская Л.
 Институт ботаники
 Литва, Вильнюс, 2021, Жалюю эжяру ул., д. 4

Грибы рода *Penicillium* Link распространены в почве и активно участвуют в микробиологических процессах. Загрязнение среды тяжелыми металлами негативно влияет на видовое разнообразие грибов и их функционирование. Чувствительность грибов к разным токсическим веществам различна не только между разными видами, но зависит и от стадии индивидуального развития организма.

Целью работы являлось определение влияния двух двухвалентных металлов (никеля и цинка) на онтогенез гриба *Penicillium funiculosum* 6AL Thom, который был отобран как один из микромицетов наиболее устойчивых к данным металлам. Изучено влияние металлов на следующие стадии развития гриба: прорастание спор, развитие зачатков гиф, рост колоний и споруляцию. Применяли 0,2 — 5 мМ концентрации никеля ($\text{NiCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) и 0,2 — 40 мМ цинка (ZnCl_2).

В результате проведенных исследований установлено, что уже при концентрации 0,5 мМ никеля в жидкой среде Чапека проявилось незначительное ингибирование прорастания спор гриба *P. funiculosum* 6AL. Резкое снижение индекса прорастания конидий отмечено при наличии 1 мМ никеля — проросло только 30% конидий по сравнению с контролем. Значительно меньшее влияние на прорастание спор оказал цинк. Увеличение концентрации цинка до 5 мМ проявилось в стимулировании прорастания спор. Только при более высоких концентрациях установлено негативное влияние цинка на прорастание спор. Рост зачатков

гиф под влиянием 0,2, 2, и 5 мМ никеля снизился соответственно до 77,4, 48,4 и 8,3% по сравнению с контролем. Цинк при 0,2 — 1 мМ концентрации стимулировал развитие зачатков, тогда как при более высоких концентрациях установлено торможение развития зачатков. Определение скорости роста колоний гриба показало, что 2 и 5 мМ никеля значительно снизили радиальный рост гриба — до 142 и 35 мкм Ч⁻¹ (68,3 и 16,3%). Цинк до 2 мМ стимулировал рост колоний, а наиболее выраженное подавление скорости радиального роста до 61 мкм Ч⁻¹ (27,4%) установлено при наличии 40 мМ цинка. Исследование специфичности конидиогенеза показало, что в большинстве случаев под влиянием металлов в возрастающих концентрациях проявилось замедление формирования конидий, споруляция была скудной, отмечались редуцированные конидионосцы и короткие цепочки конидий.

Результаты показали, что исследованные металлы влияли на все стадии развития *P. funiculosum* 6AL. Негативное влияние цинка было значительно меньше, чем никеля. Наибольшая чувствительность гриба к металлам установлена в фазе развития зачатков гиф. Значительно меньшее влияние металлов отмечено при прорастании конидий. Прорастание спор, по-видимому, в большой степени зависело от эндогенных резервов и были меньше подвержены к экзогенным стресс-факторам. Рост более зрелых гиф также меньше угнетался, чем развитие зачатков.

ПОДАВЛЕНИЕ АВТОКОЛЕБАНИЙ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ПЛАЗМОДИЯ *PHYSARUM POLYCEPHALUM* ИНГИБИТОРАМИ ФОСФОЛИПАЗЫ С

Матвеева Н. Б., Теплов В. А., Бейлина С. И.

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,
142290, Пущино, Московская область

Автоколебания сократительной активности в плазмодии *Physarum polycephalum* могут поддерживаться как в бескальциевых средах, так и в присутствии ингибиторов рианодинного рецептора — одного из двух возбуждаемых внутриклеточных Ca^{2+} каналов. Это позволяет предполагать наличие в плазмодии другого канала, наиболее вероятным кандидатом на роль которого является канал, активируемый инозитол-1,4,5-трифосфатом (IP_3 -рецептор). Высвобождение Ca^{2+} из внутриклеточных депо через IP_3 -рецептор связано с активностью фосфолипазы С (PLC) — фермента, гидролизующего фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат (PIP_2) до IP_3 .

В настоящей работе исследовалась возможность вовлечения в цепи обратных связей, ответственных за автоколебания, регуляторного пути, приводящего к активации IP_3 -рецептора. С этой целью был выяснен характер действия на сократительную активность микроплазмодиев двух ингибиторов PLC, имеющих разный механизм подавления активности фермента. Использованы микроплазмодии штамма LU 887xMA 362, регистрация автоколебаний проводилась оптическим методом.

Показано, что неомицин — положительно заряженный аминогликозид, формирующий с PIP_2 электронейтральный комплекс и таким образом блокирующий его связывание с PLC, постепенно подавляет автоколебания сократительной активности микроплазмодиев. Колебания становятся нерегулярными, их амплитуда снижается и, с течением времени, эти изменения захватывают все большую часть клеточной популяции. За первые 90 мин после добавления ингибитора в концентрации 0,1 мМ колебания прекращаются в 67 % микроплазмодиев ($n = 27$), в концентрации

1 мМ — в 82 % ($n = 11$). Поскольку время затухания колебаний на разных микроплазмодиях варьирует от 5 мин до 2 часов, их подавление, по-видимому, зависит не только от концентрации неомицина, но от внутриклеточного содержания PIP_2 . Следует отметить, что популяция микроплазмодиев случайным образом распределена по фазам клеточного цикла, в ходе которого содержание PIP_2 изменяется в несколько раз.

Другой ингибитор PLC — аминостероид 1-(6-((17beta-3-methoxyestra-1,3,5(10)-trien-17yl)amino)-hexyl)-1H-pyrgole-2,5,-dione (U-73122), являющийся мощным сульфгидрильным реагентом, вызывал значительно более быстрое подавление колебаний, чем неомицин. Между 30 и 60 мин после добавки U-73122 в концентрации 1-2 мМ колебания сократительной активности полностью прекращались на 30% исследованных клеток ($n = 23$), при 5 мМ — на 46% ($n = 13$), а при 10 мМ — на 95% микроплазмодиев ($n = 19$). В соответствии с механизмом ингибирования PLC действие U-73122 на сократительную активность устранялось при предварительной добавке дитиотрейтола — агента, восстанавливающего тиоловые группы. После удаления U-73122 автоколебания возобновлялись, что позволяет исключить возможность его воздействия на неспецифические мишени, важные для жизнедеятельности плазмодия.

Полученные данные позволяют предполагать, что регуляторный путь, включающий гидролиз PIP_2 до IP_3 , активацию IP_3 рецептора и высвобождение Ca^{2+} из соответствующего пула входит в цепи обратных связей, обеспечивающих автоколебания сократительной активности плазмодия.

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований.

ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ВЗАИМОСВЯЗИ СЕКРЕЦИИ ЭКЗОФЕРМЕНТОВ И ПОЧКООБРАЗОВАНИЯ У ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Мирющенко Ф. Л., Блиникова Е. И., Егоров С. Н.

Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова
119899, Москва, Воробьевы горы, МГУ, биологический факультет

Почкующиеся дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* синтезируют два типа внеклеточных кислых фосфатаз — так называемую конститутивную, кодируемую одним структурным геном *Pho 3*, и репрессибельную, кодируемую тремя структурными генами — *Pho 5*, *Pho 10* и *Pho 11*. Экспрессия *PHO3* гена осуществляется при высокой концентрации неорганического фосфата в среде, в то время как экспрессия генов репрессибельной кислой фосфатазы происходит только при фосфатном голодании. Ранее было показано, что существует высокая степень корреляции (сравнивались

удельная фосфатазная активность и доля почкующихся клеток) между почкообразованием и секрецией конститутивной кислой фосфатазы. Вместе с тем корреляции между почкообразованием и секрецией репрессибельной кислой фосфатазы не наблюдалось, что указывает на возможность транспорта нативного фермента не в почку (конститутивный путь секреции), а к клеточной поверхности по альтернативному пути.

Отдельные структурные гены репрессибельной кислой фосфатазы были клонированы и осуществлена их экспрессия в клетках дрожжей. Для выяснения

роли отдельных субъединиц фермента в выборе им транспортного пути была изучена взаимосвязь секреции полученных гомомерных форм кислых фосфатаз с процессом почкообразования дрожжей.

Нами был разработан метод анализа коррелятивной зависимости этих процессов, позволяющий получать статистически достоверные данные, даже в случае относительно низких удельных активностей кислых фосфатаз, основанный на сравнении абсолютно-го числа почек в дрожжевой культуре и прироста энзиматической активности.

Были получены результаты, указывающие на различные пути транспорта гомомерных форм кислых фосфатаз к клеточной поверхности. Секретция гомомерной формы кислой фосфатазы, образованной про-

дуктом гена *Pho 5*, имела высокую положительную корреляцию с процессом почкообразования, что означает транспорт такого фермента по конститутивному пути секреции в растущую почку. Вместе с тем, секретия продуктов генов *Pho10* и *Pho11* практически не была связана с процессом почкообразования в клетках дрожжей, что предполагает их транспорт к клеточной поверхности путем, отличным от конститутивного.

Мы предполагаем, что продукт гена *Pho10* отвечает за выбор альтернативного транспортного пути репрессибельной кислой фосфатазой. Продукт гена *Pho11* вероятно усиливает функцию сортировки нативного фермента, осуществляемую субъединицей, кодируемой геном *Pho10*.

ДИМОРФИЗМ И СОСТАВ ЛИПИДОВ МУКОРОВЫХ ГРИБОВ

Мысякина И. С., Фунтикова Н. С.

Институт микробиологии РАН

Москва, просп. 60-летия Октября, д. 7, кор. 2

Способность к диморфизму свойственна многим представителям рода *Mucor*, но есть виды, в число которых входит *M. hiemalis*, у которых такой способности отмечено не было. Ранее нам удалось вызвать диморфный рост у двух штаммов *M. hiemalis* при выращивании в жидкой среде с 4-хлоранилином и обнаружить различия в составе липидов дрожжеподобных и мицелиальных клеток. Дальнейшие исследования показали, что *M. hiemalis* способен в жидкой среде без 4-хлоранилина интенсивно образовывать артроспоры, которые давали начало дрожжеподобным клеткам, когда в качестве инокулята использовали спорангиоспоры культуры, выращенной в течение длительного времени на пшеничных отрубях. Это свидетельствует о том, что для некоторых грибов рода *Mucor*, по литературным данным считающихся мноморфными, еще не определены условия, в которых возможен диморфный рост.

Исследование состава классов липидов и жирных кислот артроспор, дрожжеподобных и гифальных клеток показало, что общие липиды разных типов клеток имели одинаковый качественный состав, однако различались по количественному содержанию отдельных фракций и жирных кислот.

Преобладающими жирными кислотами были пальмитиновая, пальмитолеиновая, стеариновая, олеиновая, линолевая и г-линоленовая. Липиды артроспор по составу жирных кислот на 3-4 сут роста были похожи на липиды мицелия, но на более позднем этапе (9сут) содержание насыщенных и моноеновых кислот было выше, а полиненасыщенных — ниже. Липиды дрожжеподобных почкующихся клеток в течение всего периода культивирования имели более высокий уровень насыщенных жирных кислот и более низкий — ненасыщенных по сравнению с липидами мицелия.

Липиды артроспор по сравнению с почкующимися клетками содержали меньше насыщенных и больше мононенасыщенных кислот при одинаковом содержании полиеновых.

В составе классов нейтральных липидов *M. hiemalis* обнаружены диацилглицерины (ДАГ), свободные десметил- и метилстерины, свободные жирные кислоты (СЖК), хиноны, триацилглицерины (ТАГ) и эфиры стеринов (ЭС). Показаны различия между артроспорами и почкующимися клетками в содержании ТАГ (52% и 30% соответственно), эфиров стеринов (18% и 7%) и ДАГ (4,6% и 12%). Артроспоры отличались от мицелия более высоким уровнем ЭС и метилированных стеринов.

В составе полярных липидов *M. hiemalis* обнаружены фосфатидилхолин (ФХ), фосфатидилэтанолламин (ФЭА), кардиолипин (КЛ), гликолипиды (ГЛ), фосфатидилсерин (ФС), фосфатидная кислота (ФК). Полярные липиды артроспор и почкующихся клеток имели более низкое относительное содержание ФС и более высокое — КЛ по сравнению с мицелием. В полярной фракции липидов артроспор преобладал ФХ — до 41%, КЛ не превышал 8%, тогда как в дрожжеподобных почкующихся клетках уровень ФХ был менее 23%, а КЛ — 14%.

На основании полученных данных можно сделать выводы, что, во-первых, в определенных условиях по меньшей мере отдельные штаммы *M. hiemalis* способны к дрожжеподобному росту; во-вторых, липиды артроспор отличаются от липидов как мицелиальных, так и почкующихся клеток. Это подтверждает, что артроспоры физиологически и функционально отличны от почкующихся дрожжеподобных клеток и являются отдельной стадией в морфогенезе гриба.

РЕПАРИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ НУКЛЕОПРОТЕИНОВЫХ КОМПЛЕКСОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ДРОЖЖЕЙ

Потехина Т. С., Корзенко М. А., Шатаева Л. К.

*Санкт-Петербургская химико-фармацевтическая академия
197376, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14*

Проведена оценка репарирующей активности нуклеопротеиновых комплексов (НПК) на клетках *Saccharomyces cerevisiae*, подверженных воздействию УФ-облучения и раствора перекиси водорода.

Известна биорегуляторная функция негистоновых белков хроматина, которые являются универсальными для всех эукариотических организмов. Традиционным сырьем для получения препаратов регуляторного и радиопротекторного действия являются органы и ткани млекопитающих. В связи с известными сложностями при использовании животного сырья актуальной является поиск источников для выделения биорегуляторов из микроорганизмов.

Отработана и оптимизирована схема выделения НПК из дрожжей *S. cerevisiae*, изучен компонентный состав и определена их активность в процессах восстановления поврежденных клеток.

Оценку репарирующей активности проводили на суспензии 2-х суточной культуры пекарских дрожжей в концентрации 10^6 клеток/мл, подверженных действию УФ-облучения с энергией 1300 эрг/мин/мл в течение 2-х минут или 0,1-1,0% перекиси водорода в течение 30 мин. Клетки вносили в жидкую питательную среду, к части из которых добавляли НПК. Контролем служила популяция клеток, подвергавшаяся действию стрессового фактора, но без внесения НПК. Репарационное действие оценивали по следующим показателям: изменение числа клеток во времени (константа скорости роста, время генерации, продолжи-

тельность лаг-фазы), морфологические признаки (размер, форма клеток, число почкующихся, КОЕ), процент живых клеток.

Изучено влияние НПК в концентрации 0,7-70 мкг/мл. Показано, что численность поврежденных клеток, к которым добавлены растворы НПК возрастает со временем, хотя и не достигает количества интактных, в то время как в контроле размножение отсутствует. Время генерации репарированных и клеток, не подвергавшихся стрессовым воздействиям сопоставимы, однако продолжительность лаг-фазы у репарированной популяции в 2-6,5 раз превышает этот показатель для интактных клеток и зависит от концентрации НПК. Наиболее выраженным репарирующим действием обладают НПК в концентрации 1-7 мкг/мл. Число почкующихся и мертвых клеток на 20% больше для популяции, находящейся в среде с НПК, по сравнению с контрольной. В отдельном эксперименте было показано, что НПК не используются дрожжами как источник питательных веществ.

Известно, что выделенные дрожжевые НПК в своем составе содержат РНК, связанную с белком. Нами было проверено репарирующее действие компонентов комплекса. В качестве модели были выбраны РНК, убиквитин, который является регуляторным белком, а также искусственно составленный комплекс РНК+убиквитин. Установлено, что модельные вещества и их комплекс репарирующим действием на поврежденные клетки не обладали.

ОСОБЕННОСТИ РОСТА МИКРОМИЦЕТОВ В УСЛОВИЯХ СТРЕССА

Ребрикова Н. Л., Дмитриева М. Б.

*Государственный научно-исследовательский институт реставрации
107014, Москва, ул. Гастелло, д. 44*

На переплетах старопечатных книг в музее-заповеднике «Ростовский Кремль», на иконах, на предметах прикладного искусства в музее-заповеднике «Царицыно», на экспонатах в фонде деревянной скульптуры Государственной Третьяковской галереи, на картинах в музее-усадьбе «Архангельское», на экспонатах Российского этнографического музея были обнаружены неокрашенные диаметром от менее одного до двух миллиметров колонии грибов. Грибы развивались на поверхностях предметов, плохо впитывающих влагу. На находящихся в этих же условиях гигроскопичных материалах, например на бумаге, признаков роста грибов не было. Параметры температуры и влажности в фондохранилищах находились в пределах допустимых значений, но подвижность воздуха около экспонатов, на которых началось развитие колоний, была минимальна. Низкая подвижность воздуха способствует образованию конденсата на поверхности предметов. Условия для образования

конденсационной влаги в музейных фондах носят непостоянный характер, количество влаги ограничено, поэтому колонии грибов, использующие ее, имеют выраженные морфологические и физиологические отличия от колоний грибов, развивающихся на музейных предметах в ситуациях, более благоприятных для их роста.

Микологические посевы показали, что в большинстве случаев грибы, образующие микроколонии на экспонатах нежизнеспособны. В тех случаях, когда результаты посевов были положительны, развивались колонии *Aspergillus versicolor*. При микроскопировании материала, отобранного на месте роста грибов, в препаратах было обнаружено много одинаковых, крупных, слегка овальных конидий, реже встречались конидиеносцы, характерные для рода *Aspergillus* уродливой формы с небольшим количеством фиалид (стеригм) необычно большого размера. Известно, что образование гипертрофированных клеток характерно для

жизнедеятельности микроорганизмов в условиях стресса на том этапе, когда экстремально воздействующий фактор вызывает торможение размножения клеток, но не роста. Необычные размеры конидий, образовавшихся в условиях стресса, являются свидетельством их физиологической незрелости, и, следовательно, большей уязвимости при смене условий окружающей среды (исчерпания небольшого количества конденса-

ционной влаги), поэтому, несмотря на то, что микроколонии образуют большое число конидий, большая их часть нежизнеспособна.

Условия хранения, при которых возможен ограниченный рост грибов на музейных предметах, не могут быть признаны допустимыми, так как даже микроколонии выделяют метаболиты, оказывающие воздействие на состояние экспонатов.

ИЗМЕНЕНИЕ ПУЛА НЕОРГАНИЧЕСКИХ ПОЛИФОСФАТОВ У МИКРООРГАНИЗМОВ — ДЕСТРУКТОРОВ ПРОМЫШЛЕННЫХ МАТЕРИАЛОВ — В УСЛОВИЯХ ТЕПЛООВОГО ШОКА

Смирнов В. Ф., Перцева А. Д., Абзалова Ю. Р.
Нижегородский госуниверситет имени Н. И. Лобачевского
Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23, корп. 1

Поскольку биохимические механизмы, обеспечивающие устойчивость к действию стрессовых факторов, энергозависимы, исследование влияния экстремальных воздействий на энергетические процессы организмов представляет интерес в связи с выяснением механизмов устойчивости к стрессорным факторам. Известно, что у микроскопических грибов имеет место преобладание высокомолекулярных неорганических полифосфатов (ПФ) над системой адениловых нуклеотидов. Так как одной из основных функций неорганических полифосфатов является участие в процессах запасаения и расходования энергии, им отводится существенная роль в энергетическом обмене микровицетов как в нормальных условиях, так и в условиях стресса.

В качестве объектов исследования были выбраны два вида микроскопических грибов — активных деструкторов промышленных материалов, с различной термотолерантностью: факультативный термофил *Aspergillus niger* и мезофил *Penicillium ochro-chloron*.

Исследовалось содержание различных фракций ПФ у обоих видов грибов в нормальных условиях и в условиях теплового шока. Обнаружено, что в нормальных условиях у обоих видов грибов около 50% ПФ приходится на щелочерастворимые ПФ.

Результаты экспериментов по воздействию теплового шока показали, что действие данного фактора не приводит к изменению пула неорганических ПФ, а имеет место перераспределение ПФ по фракциям. Действие теплового шока на содержание ПФ у термофила отличается от действия этого фактора на мезофильный гриб *P. ochro-chloron*. В частности, обнаружено, что в условиях теплового шока количество ПФ кислоторастворимой фракции у *A. niger* уменьшается, тогда как у *P. ochro-chloron* количество ПФ данной фракции остается без изменения. Наибольшие изменения при действии теплового шока приходятся на щелочерастворимые ПФ у *A. niger*, что может быть связано с их особой ролью в процессе адаптации к стрессовому воздействию.

АКТИВНОСТЬ ОТДЕЛЬНЫХ КОМПОНЕНТОВ СИСТЕМЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ У ГРИБОВ ПРИ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ

Соколов А. В., Гесслер Н. Н., Белозерская Т. А.
Институт биохимии имени А. Н. Баха РАН
117071, Москва, Ленинский пр-т, д. 33

Изменение активности супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы (КАТ), а также содержания каротиноидов под действием света и соединений, увеличивающих уровень активных форм кислорода (АФК), исследовали у представителей двух разных классов грибов *Blakeslea trispora* и *Neurospora crassa*

В ответ на увеличение АФК в темноте у *N. crassa* происходила активация СОД, а под действием света, помимо активации СОД и КАТ, наблюдалось увеличение уровня каротиноидов. Активность СОД у *B. trispora* была ниже, чем у *N. crassa*, и снижалась на фоне окислительного стресса. При стрессе у *B. trispora*

было отмечено также и снижение КАТ. Различия в изменении активности ферментов антиоксидантной защиты у *B. trispora* и *N. crassa* в ответ на действие света или других факторов, увеличивающих уровень АФК, вызвано, по-видимому, нестабильностью ферментов антиоксидантной защиты у *B. trispora*. Полученные результаты свидетельствуют, что в-каротин у *B. trispora* в условиях окислительного стресса выполняет функцию основного протектора на фоне деструкции ферментов, детоксицирующих АФК, тогда как у *N. crassa* каротиноиды действуют как фотопротекторы.

Работа поддержана грантом РФФИ № 01-04-48567.

ДЕЙСТВИЕ ГАДОЛИНИЯ И ЛАНТАНА НА АВТОКОЛЕБАНИЯ И МЕХАНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПЛАЗМОДИЯ *PHYSARUM POLYCEPHALUM*

Теплов В. А., Матвеева Н. Б., Бейлина С. И.

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН
142290, Пущино, Московская область

Трехвалентные катионы Gd^{3+} и La^{3+} широко используются в качестве блокаторов ряда Ca^{2+} каналов плазматической мембраны возбудимых и невозбудимых клеток. В число таких каналов входят механочувствительные Ca^{2+} каналы, наиболее эффективным блокатором которых считается гадолиний. Возможность наличия на мембране *Physarum polycephalum* кальциевых каналов, чувствительных к La^{3+} и Gd^{3+} , до настоящего времени не исследовалась. Вместе с тем, этот вопрос представляет несомненный интерес, как в связи с природой автоколебаний, характерных для сократительной активности этой гигантской амебной клетки, так и в связи с явно выраженной механочувствительностью сократительного аппарата плазмодия.

Physarum polycephalum, штаммы ВКМ(F) 3283 и LU 887хМА 362 выращивали в виде макро- и микроплазмодиев. Микроплазмодии изолировали в логарифмической фазе роста, переносили в солевую среду, содержащую 100 μM $CaCl_2$ и 10 мМ HEPES (pH 4,5), и использовали в опытах в течение 8 часов после изоляции. Циклические сокращения клеток и пульсирующие перемещения их лидирующего края регистрировали оптически по изменениям проходящего через объект света. Автоколебания силы, генерируемой в изометрическом режиме протоплазматическими тяжами, вырезанными из макроплазмодия, регистрировали с помощью чувствительного тензодатчика.

Показано, что La^{3+} и Gd^{3+} сильно увеличивают адгезию, ингибируют миграцию и в определенных условиях подавляют колебания сократительной активности микроплазмодиев. На свежеизолированных из ростовой среды клетках Gd^{3+} и La^{3+} , в концентрациях 0,1-5 мМ и 1-5 мМ, соответственно, вызывают быстрое и практически полное прекращение колебаний.

Через 40-60 мин колебания возобновляются, что в случае Gd^{3+} не приводит к возобновлению миграции, в присутствии La^{3+} миграция частично восстанавливается. Восстановившиеся колебания имеют близкую к контрольной амплитуду и почти синусоидальную форму, что редко наблюдается на мигрирующих микроплазмодиях.

На микроплазмодиях, инкубированных до начала экспериментов в течение 5-7 часов в солевой среде, наблюдается только 10-15 мин сбоя автоколебаний. Полное подавление миграции Gd^{3+} и ее ингибирование La^{3+} на таких клетках сохраняется.

В тензометрических экспериментах на протоплазматических тяжах показано, что Gd^{3+} концентрациях 0,1 — 5 мМ устраняет характерный ответ плазмодия на растяжение — рост генерируемой тяжами силы и амплитуды ее колебаний. Такое изменение динамических характеристик тяжей свидетельствует в пользу наличия на мембране плазмодия механочувствительных кальциевых каналов. Данные также позволяют предполагать, что такие каналы участвуют в регуляции двигательного поведения, отвечая на локальные натяжения сократительного аппарата, развиваемые самой клеткой.

Идентификация других мембранных мишеней действия Gd^{3+} и La^{3+} , так же как природа показанной нами разницы в их эффекте на свежеизолированные и голодавшие клетки, требует дополнительных исследований, однако, полученные данные представляют важные для выяснения относительного вклада в автоколебания сократительной активности входящих потоков Ca^{2+} и его высвобождения из внутриклеточных хранилищ.

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований. Starkov. 20. doc

ЛИПОКСИГЕНАЗА *NEUROSPORA CRASSA* В УСЛОВИЯХ ТЕПЛООВОГО СТРЕССА

Филиппович С. Ю., Афанасьева Т. П., Бачурина Г. П., Крицкий М. С.

Институт биохимии имени А. Н. Баха РАН
119071, Москва, Ленинский проспект, д. 33

Липоксигеназы — семейство ферментов, катализирующих стереоспецифическое присоединение кислорода к ненасыщенным жирным кислотам, содержащим *cis,cis*-1,4-пентадиеновый участок, и образующих гидропероксиды с *cis,trans*-диеновой конъюгированной связью. Продукты липоксигеназной реакции могут функционировать как сигнальные молекулы или способны использоваться в защитных ответах растительных клеток при воздействии на них различных стрессовых факторов.

Тепловую обработку мицелиальных клеток аскомицета *Neurospora crassa* проводили при 45°C двумя

способами: 1) в поверхностной культуре, выращенной на целлофановой пленке на твердой ростовой среде и помещенной в воздушный термостат, или 2) в погруженной шейкер-культуре в водяном термостате (перед использованием жидкую ростовую среду нагревали до нужной температуры). Термальному воздействию подвергали мицелий гриба в конце логарифмической фазы роста — после 20 (погруженная культура) или 44 (поверхностная культура) часов роста при 28°C.

Удельная активность липоксигеназы в диализатах экстрактов клеток изменялась в зависимости от усло-

вий культивирования аскомицета. После термообработки поверхностной культуры наблюдали увеличение ферментативной активности с последующим уменьшением ее до начального уровня. В противоположность этому, в этих же условиях в погруженной культуре удельная активность фермента резко снижалась, но затем также достигала исходного уровня.

В клетках погруженной культуры ферментативный ответ был гораздо более быстрым (5 мин), чем в клетках поверхностной (2-3 часа).

Термочувствительность липоксигеназы *N. crassa*

очень высока, так как наблюдается лишь в чрезвычайно узком диапазоне температур: эффект отмечен только в клетках гриба после действия 45°C; вместе с тем, ферментативная активность абсолютно не изменялась в культуре, подвергнутой воздействию 42°C, но, с другой стороны, фермент полностью инактивировался в мицелии после обработки при 48°C.

Данные свидетельствуют об участии липоксигеназы в регуляции температурной адаптации клеток *N. crassa*.

Работа поддержана грантом РФФИ 01-04-48268

РЕГУЛЯЦИЯ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В МИЦЕЛИИ ДЕРЕВОРАЗРУШАЮЩИХ ГРИБОВ БЕЛОЙ И БУРОЙ ГНИЛИ

Шишкина Л. Н., Капич А. Н.*

Институт биохимической физики имени Н. М. Эмануэля РАН,
119991, Москва, ул. Косыгина, д. 4

*Международный экологический университет имени А. Д. Сахарова,
220009, Минск, ул. Долгобродская, д. 23

Целью работы явилось изучение особенностей функционирования физико-химической системы регуляции перекисного окисления липидов (ПОЛ) в мицелии ксилотрофных базидиомицетов разных физиологических групп.

На метилолеатной окислительной модели найдено, что липиды изученных 4-х видов грибов белой гнили обладают прооксидатными свойствами с достаточными величинами антиоксидантной активности (АОА) липидов, в то время как липиды мицелия 4-х видов грибов бурой гнили проявляют как антиоксидантные, так и прооксидантные свойства. Показано, что способность липидов всех изученных видов грибов принимать участие в процессах автоокисления на стадиях зарождения радикалов и продолжения цепи обусловлена их кинетическими характеристиками (АОА липидов, начальное количество пероксидов в липидах), поэтому липиды мицелия грибов белой гнили сильнее интенсифицируют окислительные процессы, чем липиды мицелия грибов бурой гнили. Методом слабосвязанных парамагнитных зондов установлено наличие взаимосвязи между структурным состоянием и составом липидов мицелия грибов белой и бурой гнили в фазе замедления роста и показана важная роль фосфолипидов (ФЛ) в обеспечении текучести липидного компонента мицелия. При изучении динамики липидного обмена в процессе роста *P. tigrinus* и *P. betulinus* в глубинной культуре

обнаружено, что как количественный состав ФЛ, так и величины отношений фосфатидилхолин/фосфатидилэтаноламин (ФХ/ФЭ), сумм более легкоокисляемых и более трудноокисляемых ФЛ (еЛОФЛ/еТОФЛ) и [стерины]/[ФЛ] у грибов разных физиологических групп в начале экспоненциальной фазы роста близки, однако динамика их изменений существенно различается. Более того, если для липидов мицелия *P. tigrinus* между АОА липидов и соотношением еЛОФЛ/еТОФЛ найдена обратная корреляционная зависимость, то для липидов мицелия *P. betulinus* между этими показателями обнаружена прямая корреляционная зависимость в процессе роста. Выявлены обратные корреляционные взаимосвязи с высокими значениями R между отношениями еЛОФЛ/еТОФЛ, характеризующими окисляемость липидов, и ФХ/ФЭ, отражающими структурное состояние липидов мембранной системы мицелия, при этом варибельность коэффициента линейной регрессии данных взаимосвязей в ФЛ грибов бурой гнили существенно выше, чем в ФЛ грибов белой гнили как для разных видов, так и в процессе культивирования.

Совокупность полученных экспериментальных данных позволяет предположить, что ведущим звеном в физико-химической системе регуляции ПОЛ в мицелии ксилотрофных базидиомицетов является состав липидов.

МЕЛАНИНЫ ЧЕРНЫХ ДРОЖЖЕВЫХ ГРИБОВ КАК ФОТОПРОТЕКТОРЫ

Юрлова Н. А., Турковский И. И.

Государственная химико-фармацевтическая академия
197376, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14

Черные дрожжевые грибы (ЧДГ) синтезируют в клеточных стенках, а иногда внеклеточно, значительное количество меланиновых пигментов, дающих им

преимущество, по сравнению с другими организмами, при развитии в экстремальных условиях, в частности, при повышенном уровне ионизирующей и

ультрафиолетовой радиации. Физико-химические и биологические свойства меланинов ЧДГ изучены недостаточно. Нечетко определен путь биосинтеза этих меланинов. У ЧДГ аскомицетного аффинитета обнаружены ферменты как пентакетидного, так и оксиндольного пути биосинтеза (Юрлова, 1977; Лях, 1981).

В последнее десятилетие существенно возрос интерес к биологической роли меланинов. Применение различных препаратов меланина с целью защиты от ультрафиолетового излучения (фотопротекции), а также ожидание «омолаживающих» свойств меланиновых кремов, обусловили достаточно широкое распространение этих пигментов в современной косметической и дерматологической практике.

Нами была изучена фотопротекторная активность

меланинов ЧДГ при различных уровнях освещенности. В результате были обнаружены существенные изменения фотопротекторной способности от УФ-облучения некоторых меланиновых препаратов, выделенных из биомассы ЧДГ. Установлены различия между абсорбционными спектрами препаратов, находящихся в темноте и фотомодифицированных дневным светом интенсивностью всего 0.02 mW/cm^2 в течение 3-х минут. Полученные данные доказывают возможность фотоиндуцированных изменений молекулярной структуры и биологических свойств меланинов при дневном освещении умеренной и даже слабой интенсивности. Обнаруженные фотооптические свойства меланинов ЧДГ убедительно свидетельствуют о их способности к фотомодификации и перспективности этих пигментов ЧДГ как фотопротекторов.

ИЗМЕНЕНИЯ В СОСТАВЕ СУММАРНОГО ВОДОРАСТВОРИМОГО БЕЛКА МИЦЕЛИЯ И ПЛОДОВЫХ ТЕЛ КСИЛОТРОФНЫХ БАЗИДИОМИЦЕТОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ НИЗКИХ ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ И ОТРИЦАТЕЛЬНЫХ ТЕМПЕРАТУР

Яковлев А. Ю., Боровский Г. Б.

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН
664033, Иркутск, ул. Лермонтова, д. 132, а/я 1243

Для изучения влияния низких положительных и отрицательных температур на изменение состава белка мицелия и плодовых тел трех видов ксилотрофных базидиомицетов: *Flammulina velutipes* (Fr.) Karst, *Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kumm. и *P. citrinopileatus* Sing. использовали одномерный электрофорез в ПААГе (полиакриламидном геле) в присутствии ДДС-Na, радиоизотопные и флюорографические методы анализа. «Контрольная» температура роста мицелия во всех опытах составляла 21°C , плодовых тел — 8°C .

В мицелии *F. velutipes* полипептиды с молекулярной массой 72 и 81 кДа появлялись в образцах, выделенных из замороженного при -15°C мицелия. В образцах, охлажденных при 4°C и -10°C , отличий от «контрольного» мицелия не наблюдали. Действие отрицательной температуры на мицелий теплолюбивого вида *P. citrinopileatus* вызывало более значительные изменения в наборе белков. Белки массой 41 и 44 кДа появлялись в ответ на действие холода, белок 37 кДа обнаружен только в образцах замороженных при отрицательной температуре. Белок с молекулярной массой 26 кДа обнаружен в мицелии, охлажденном при -15°C .

В ходе исследований было выяснено, что под действием холода в спектрах белков мицелия происходят меньшие изменения, чем те, которые были обнаружены в составе плодовых тел, образуемых из этим же мицелием. Количество белков с молекулярными массами 20, 34 и 45 кДа из замороженных при -10°C образцов мицелия *P. ostreatus* штамма дикого типа увеличивалось по сравнению с «контролем» и образцами замороженными с предварительным охлаждением при 4°C . Охлаждение плодовых тел этого же штам-

ма приводило к появлению в белковых спектрах новых полипептидов с молекулярными массами 69, 64, 60, 58 и 43 кДа. Белок 66 кДа, присутствовавший в «контроле», редуцировался после охлаждения плодовых тел, а белок 50 кДа — после непосредственного их промораживания. Радиоизотопный анализ также не показал появления большого количества новых белков в мицелии устойчивого штамма *P. ostreatus* после охлаждения, в то время как неустойчивый штамм *P. citrinopileatus* и плодовые тела изученных видов грибов были более чувствительны, и отвечали синтезом новых полипептидов.

Спектры радиоактивных белков в «контрольных» и охлажденных образцах мицелия *P. ostreatus* были идентичны. В мицелии *P. citrinopileatus* промораживание приводило к элиминации из белкового спектра полипептида 73 кДа, к уменьшению включения метки в белки 65 и 34 кДа и к индукции синтеза белка 38 кДа. В плодовых телах *P. ostreatus* после действия низкой температуры наблюдали слабые изменения в синтезе суммарных белков. Охлаждение приводило лишь к прекращению синтеза белков 110 и 120 кДа, присутствующих в «контрольных» плодовых телах. Синтез «новых» белков в этих условиях не происходил.

Высокая адаптационная способность мицелия позволяет предполагать существование определенного уровня «конститутивного» синтеза защитных полипептидов. Присутствие этих белков, наряду с работой других, небелковых систем защиты, вероятно, вносит существенный вклад в высокий уровень устойчивости мицелия к действию низкой температуры.

**ДЕГИДРИНОПОДОБНЫЕ ПОЛИПЕПТИДЫ МИЦЕЛИЯ И ПЛОДОВЫХ ТЕЛ
КСИЛОТРОФНЫХ БАЗИДИОМИЦЕТОВ ПРИ ГИПОТЕРМИИ****Яковлев А. Ю., Боровский Г. Б.**Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН
664033, Иркутск, ул. Лермонтова, д. 132, а/я 1243

Белки дегидрины являются важной частью защиты растений от повреждений в результате обезвоживания при внеклеточном замерзании воды, солевом стрессе и засухе. В настоящее время считается, что дегидрины функционируют в клетках растений как стабилизаторы структуры макромолекул с детергентными и шаперонными свойствами. Известна их высокая водоудерживающая способность, что помогает сохранить общую обводненность цитозоля при стрессах, связанных с потерей воды. Данные о наличии дегидриноподобных белков в грибах на сегодняшний день отсутствуют.

Методами одномерного электрофореза и иммуноблоттинга проводили поиск белков, иммунохимически родственных растительным дегидринам, в составе суммарной водорастворимой фракции полипептидов мицелия и плодовых тел трех видов ксилотрофных базидиомицетов: *Flammulina velutipes* (Fr.) Karst, *Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kumm. и *P. citrinopileatus* Sing. Использовали как низкотемпературную обработку, так и подсушивание мицелия и плодовых тел для имитации водного стресса.

В результате исследований выяснили, что дегидриноподобные полипептиды присутствуют в образцах мицелия *P. ostreatus* и *P. citrinopileatus* как в «контроле», так и после низкотемпературной обработки.

Белки с молекулярными массами 76, 71, 66, 57, 53 и 24 кДа были обнаружены в мицелии бореальных штаммов *P. ostreatus*, а полипептиды 70, 66, 57 и 53 кДа — в мицелии неустойчивого к охлаждению вида *P. citrinopileatus*. Белки 24, 71 и 76 кДа обнаружены только у *P. ostreatus*, а полипептид 70 кДа присутствовал только у *P. citrinopileatus*. Остальные белки присутствовали в клетках мицелия обоих штаммов грибов.

В «контрольных» и замороженных при -4°C плодовых телах *P. ostreatus* были найдены дегидринопо-

добные полипептиды с молекулярными массами 24, 57, 66 кДа. В наибольшем количестве в плодовых телах присутствовал белок с массой 24 кДа, в гораздо меньшем — белки 57 и 66 кДа.

Дегидриноподобные полипептиды были обнаружены также в мицелии устойчивого к отрицательным температурам вида *F. velutipes*. Белки 24, 53, 57, 66, 70 и 71 кДа присутствовали и в «контроле», и в стрессированных образцах мицелия этого вида. Белки 26, 31 и 34 кДа были зарегистрированы только у данного вида в указанных условиях температурной обработки. Накопление белков 70 и 71 кДа происходило в зависимости от силы стресса. Максимальное количество было представлено в образцах, выделенных из мицелия, обработанного при -15°C .

Напротив, количество белков 24 и 31 кДа заметно снижалось при понижении температуры обработки. Интенсивность окраски полос, соответствующих белкам с массой 34, 53, 57 и 66 кДа, сохранялась равномерной среди всех образцов вне зависимости от температурной обработки. Белок 26 кДа, был обнаружен только в одном случае, когда мицелий охлаждали при 4°C .

Известно, что дегидрины, обнаруженные у растений, являются белками с высокой термостабильностью, что обуславливает их устойчивость в клетке при стрессах, связанных с потерей воды. Дегидриноподобные белки грибов также проявляли высокую устойчивость к температурной коагуляции.

Присутствие всех отмеченных выше дегидриноподобных полипептидов в «контрольном» и охлажденном мицелии и плодовых телах данных видов грибов указывает на конститутивный характер синтеза этих белков. Полученные нами результаты предполагают универсальность защиты клеток растений и грибов от обезвоживания при участии дегидринов.

**РАЗОБЩАЮЩИЕ БЕЛКИ МИЦЕЛИЯ *FLAMMULINA VELUTIPES* (FR.) KARST,
PLEUROTUS OSTREATUS (FR.) KUMM И *P. CITRINOPILEATUS* SING,
ИММУНОХИМИЧЕСКИ РОДСТВЕННЫЕ PUMP И БХШ 310 РАСТЕНИЙ****Яковлев А. Ю., Боровский Г. Б.**Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН
664033, Иркутск, ул. Лермонтова, д. 132, а/я 1243

Для выяснения возможности участия некоторых разобщающих белков в процессах защиты клеток грибов от воздействия низкой температуры нами был проведен поиск полипептидов, гомологичных растительным разобщающим белкам. Используя сыворотки против PUMP (Plant uncoupling mitochondrial protein) и БХШ 310 (белок холодового шока с молекулярной массой 310 кДа) были проведены иммуноблоттинги с образцами общего водорастворимого белка мицелия и плодовых тел *F. velutipes*, *P. ostreatus* и *P. citrinopileatus*.

Разобщение окислительного фосфорилирования в митохондриях с участием разобщающих белков сопровождается выделением тепла, которое организм может использовать для терморегуляции. Это явление составляет сущность процесса термогенеза. Предполагают, что термогенез дает возможность клетке частично избежать повреждения при гипотермии, согревая себя в течение небольшого периода времени, пока иницируются соответствующие изменения в метаболизме клеток. Другой важной функцией разоб-

щающих белков является противодействие окислительному стрессу, усиливающемуся при гипотермии. Будучи связанным с циклическим оборотом жирных кислот, PUMP выступает функциональным гомологом животных UCPs (Uncoupling proteins) в качестве медиатора цикла жирных кислот и переносчика их анионных форм через внутреннюю мембрану митохондрий. В отличие от мембранной локализации большинства известных разобщающих белков, БХШ 310, найденный в митохондриях пшеницы во время холодового стресса, является цитозольным белком, способным разобщать окисление и фосфорилирование митохондрий во время действия низкотемпературного стресса. Данных о работе разобщающих белков в митохондриях грибов пока в литературе очень мало. В тоже время было интересно определить количественные изменения этих белков в мицелии и плодовых телах выбранных видов ксилотрофных базидиомицетов.

В результате исследований были обнаружены полипептиды иммунохимически родственные PUMP в виде димера массой 64 кДа у всех трех видов грибов в мицелии, в то время как данные полипептиды в бел-

ке из плодовых тел отсутствовали. Охлаждение и промораживание мицелия приводило к накоплению PUMP в клетках *F. velutipes*. Причем наибольшее его количество накапливалось при 2°C.

Иммуноблоттинг с антителами против БХШ 310 позволил обнаружить две субъединицы 56 и 66 кДа, иммунохимически родственные белку холодового шока 310 кДа. Обе субъединицы присутствовали в «контрольном» и охлажденном мицелиях всех трех видов грибов. Как в контрольных образцах, так и в обработанных холодом количество данных полипептидов оставалось на одном уровне вне зависимости от температурной обработки.

По нашему предположению, белки, иммунохимически родственные PUMP и БХШ 310, из «контрольного» и обработанного холодом мицелия могут принимать участие в разобщении процессов окисления и фосфорилирования в митохондриях. Это, с одной стороны, может приводить к локальному повышению температуры клеток мицелия, давая возможность активизировать защитные механизмы, с другой — снижать отрицательные последствия окислительного стресса.
