

УДК 577.151.042

ВЛИЯНИЕ СТРУКТУРЫ БОКОВОЙ ЦЕПИ БРАССИНОСТЕРОИДОВ НА МОНООКСИГЕНАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ МИКРОСОМ КЛЕТОК ПЕЧЕНИ

© 2010 г. А. Г. Сыса, П. А. Киселёв, В. Н. Жабинский, В. А. Хрипач

Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, 220141

e-mail: Aliaksei.Sysa@gmail.com

Поступила в редакцию 04.12.2008 г.

Оценены возможные пути влияния брассиностероидов (БС) на монооксигеназную ферментную систему микросом клеток печени млекопитающих, принимающей участие в трансформации широкого круга ксенобиотиков. Для выяснения роли структуры боковой цепи брассиностероидов в регулировании монооксигеназной активности были использованы 2 природных соединения (24-эпи- и 28-гомобрассинолиды) и 2 их синтетических аналога (22S, 23S-дигидрокси)-стереоизомеры. Полученные результаты показывают возможность прямого воздействия БС на функционирование микросомальной ферментной системы. Установлено, что степень такого влияния зависит от структуры боковой цепи, что предполагает возможность направленной модификации природных соединений с целью достижения необходимых физиологических эффектов.

В настоящее время отмечается значительный рост интереса к брассиностероидам, поскольку эти фитогормоны наряду с ростостимулирующей активностью способствуют повышению качества растительной продукции, снижая накопление в ней нитратов, тяжелых металлов, радионуклидов и позволяют уменьшить по сравнению с традиционными средствами защиты растений экологическую нагрузку на окружающую среду [1–3]. На сегодня эта группа стероидов насчитывает свыше 70 соединений [3–5]. Надо сказать, что фитостероидные гормоны сходны с таковыми животными как по своей структуре, так и по выполняемым функциям: они регулируют в растениях экспрессию генов, влияют на протекание процессов метаболизма, рост и дифференцировку клеток [6, 7].

Тем не менее исследования по влиянию БС на протекание ферментативных реакций у животных находятся на начальном этапе и не позволяют сделать обоснованные выводы ни о молекулярных механизмах их потенциального влияния, ни о взаимосвязи структура–функция в отношении ферментных систем.

Цель работы – выяснение путей возможного воздействия брассиностероидов на ферментные системы млекопитающих на примере двух природных соединений – 28-гомобрассинолида (28-ГБС) и 24-эпибрассинолида (24-ЭБС) и их синтетических (22S, 23S-дигидрокси)-стереоизомеров, установление роли структуры боковой цепи БС в их влиянии на каталитические свойства монооксигеназной ферментной системы клеток печени, участвующей в организме человека и животных в превращении широкого круга органических со-

единений эндогенного и экзогенного происхождения, в т.ч. метаболической активации полициклических ароматических углеводов (ПАУ) в их канцерогенные формы.

МЕТОДИКА

Реактивы. Трис-(оксиметил)-аминометан (“Реахим”, Россия), бычий сывороточный альбумин, свободный от жирных кислот (“Serva”, Германия); NaOH и КОН (“Lachema”, Чехия); дитиотрейтол (ДТТ), никотинамид-адениндинуклеотид-фосфат восстановленный (НАДФН) (“Serva”, Германия); 7-этоксирезорурфин (“Sigma”, США), глицерин, глицин, диметилсульфоксид, трихлоруксусная кислота (ТХУ) (“Реахим”, х. ч., Россия). Препараты 28-гомобрассинолид, (22S, 23S-дигидрокси)-28-гомобрассинолид (28-ГБС-S), а также 24-эпибрассинолид и (22S, 23S-дигидрокси)-24-эпибрассинолид (24-ЭБС-S) были получены в соответствии с [8, 9]. Все соединения охарактеризованы ИК-спектрами, зарегистрированными на приборе UR-20 (“Carl Zeiss”, Германия) в таблетках KBr и пленках, а также спектрами ЯМР, записанными на спектрометре Avance-500 (“Bruker”, Германия) (500 МГц для ядер ^1H и 125 МГц для ^{13}C) в растворах CDCl_3 в 5 мм стандартных ампулах. Масс-спектрометрические данные стероидных соединений определены на приборе Varian MAT-311 (“Varian”, США) при энергии ионизирующего излучения 70 эВ.

В качестве биохимической модели использовали микросомальную фракцию, выделенную из клеток печени крыс-самцов 3 мес возраста с массой тела 200 г. Животным в течение первых 2 сут

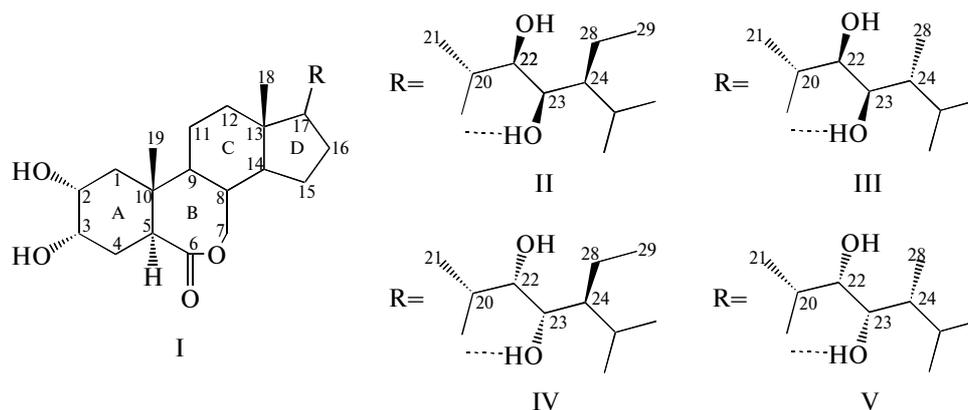


Рис. 1. Структура использованных в работе brassinостероидов: I – структура колец brassinостероидов, II – 28-гомо-brassinолид, III – 24-эпibrassinолид, IV – (22S, 23S)-28-гомо-brassinолид, V – (22S, 23S)-24-эпibrassinолид.

внутрибрюшинно вводился 20-метилхолантрен (40 мг/кг сут в косточковом масле), а забор крыс в опыт осуществлялся на 4 сут после начала введения [10].

Выделение и характеристика микросомальной фракции печени крыс. Микросомальную фракцию выделяли согласно [11] с дополнительным центрифугированием при 12000 g (15 мин при 4°C) перед последующим центрифугированием при 100000 g. Осадок ресуспендировали в буфере (0.01 M Трис-ацетат, 20%-ный глицерин, 1 mM ЭДТА, 1 mM ДТТ, pH 7.4), замораживали в жидком азоте и хранили при –18°C. Содержание цитохрома P-450 определяли стандартным методом после добавления $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ и пропускания СО [12]. Концентрация белка измерялась с помощью набора фирмы “Пирс” (Pierce Chemical Co., Rockford, IL, США). Полученный препарат, как правило, содержал 1.7 нмоль цитохрома P-450 на 1 мг микросомального белка.

Определение каталитической активности цитохрома P-450 по отношению к 7-этоксирезорурфину. Окислительное дезэтилирование 7-этоксирезорурфина (ЭРОД) проводили по методу [13] при 37°C в 1 мл 0.05 M буфере (50 mM трис-НСl, 100 mM NaCl, 1 mM ЭДТА, pH 7.4), содержащем микросомальную фракцию печени животных. Концентрация цитохрома P-450 составляла 27.5 пмоль/мл. Начальная концентрация субстрата в большинстве опытов была 0.5 мкМ. Реакцию начинали добавлением НАДФН, проводили в течение 10 мин и останавливали добавлением 1 мл ацетона, охлажденного до 4°C. Концентрацию продукта (резорурфин) определяли спектрофлуориметрически при длине волны возбуждения 530 нм и длине волны испускания 590 нм.

Определение каталитической активности цитохрома P-450 по отношению к бенз(а)пирену (Б(а)П). Активность определяли по методу [14] с некоторыми модификациями. Так, окисление Б(а)П осу-

ществляли при 37°C в 1 мл буфера (50 mM трис-НСl, 100 mM NaCl, 1 mM ЭДТА, pH 7.5), содержащем микросомы индуцированных 20-метилхолантреном животных. Концентрация цитохрома P-450 составляла 55 пмоль/мл. Реакцию начинали добавлением НАДФН и проводили в течение 20 мин. Начальная концентрация Б(а)П составляла 1.0 мкМ. Останавливали реакцию добавлением 1 мл холодного ацетона (0–4°C). После добавления ацетона вносили 3.25 мл гексана и экстрагировали смесь в течение 1 мин с использованием встряхивателя Micro-Shaker-326m (Польша). Из органической фазы отбирали 1 мл образца и экстрагировали 2 мл 1 n. раствора NaOH. Концентрацию 3-гидрокси-Б(а)П (продукт реакции) в щелочной фазе определяли спектрофлуориметрически при длине волны возбуждения 396 нм и длине волны испускания 533 нм.

Получение комплекса brassinостероидов с альбумином. Для получения комплекса вначале готовили 50 мкМ раствор стероида в диметилсульфоксиде. Затем аликвоту раствора стероида добавляли к 2%-ному раствору бычьего сывороточного альбумина в мольном соотношении полиоксистероид–белок 3 : 1.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Структура исследованных нами стероидных соединений представлена на рис. 1. Как видно из рисунка, использованные соединения имели одинаковое строение всех 4 колец, но отличались строением и конфигурацией боковой цепи. Так, природный 24-эпibrassinолид содержит в положении 24R метильную группу, в то время как 28-гомо-brassinолид имеет в этом положении 24S-этильный заместитель. Отличительная особенность синтетических производных обоих соединений заключалась в S-конфигурации атомов угле-

Характеристика спектров собственной флуоресценции сывороточного альбумина быка и его комплексов с брассиностероидами в мольном соотношении белок–стероид 1 : 3

Объект	$I_{320/296}$	$I_{360/296}$	$I_{320/280}$	$I_{360/280}$	A	B	Δ	$\lambda_{\text{макс}/296, \text{нм}}$	$\lambda_{\text{макс}/280, \text{нм}}$
Альбумин	363	482	661	779	0.75	0.85	0.1	343	343
Альбумин + 28-гомобрассинолид	331	439	592	695	0.73	0.82	0.09	344	344
Альбумин + (22S, 23S)-28-гомобрассинолид	373	511	653	806	0.73	0.81	0.08	344	344
Альбумин + 24-эпибрассинолид	344	464	625	760	0.74	0.82	0.08	344	344
Альбумин + (22S,23S)-24-эпибрассинолид	394	545	648	822	0.72	0.79	0.07	344	344

рода в положениях C22 и C23 боковой цепи, несущих ОН-группы.

Отметим, что сравнительная характеристика влияния органических веществ на биосистемы *in vitro* часто осложнена ограниченной растворимостью в воде и, как следствие, малой, а иногда, существенно различной биодоступностью исследуемых соединений. Для минимизации этого эффекта в настоящей работе полиоксистероиды использовали в комплексах с альбумином. Образование комплекса характеризовали спектрами собственной флуоресценции белка, из которых рассчитывали следующие параметры: $A = (I_{320}/I_{360})_{296}$; $B = (I_{320}/I_{360})_{280}$ и $\Delta = B - A$, где I_{320} и I_{360} – интенсивность флуоресценции при длинах волн 320 и 360 нм соответственно [15]. Величины за скобками указывают на длину волны возбуждения флуоресценции.

В соответствии с [15, 16], величина A характеризует вклад триптофановых остатков в суммарную флуоресценцию белка, а параметр Δ – вклад в суммарную флуоресценцию остатков тирозина. Полученные нами значения A, B и Δ , а также положение максимумов испускания флуоресценции при длинах волн возбуждения 280 и 296 нм сведены в таблице.

Данные таблицы позволяют утверждать, что добавление к альбумину исследуемых брассиностероидов в мольном соотношении стероид–белок 3 : 1 сопровождается достоверным изменением параметров флуоресценции белка ($p < 0.05$), что можно интерпретировать, как конформационные изменения, обусловленные образованием альбумин-стероидного комплекса.

В то же время близкие величины A, B и Δ для комплексов альбумина со всеми соединениями свидетельствуют в пользу идентичности образующихся белок-стероидных структур ($p > 0.05$).

Оценка влияния брассиностероидов на реакции окисления 7-этоксирезорурфина и бенз(а)пирена микросомами печени животных, индуцированных 20-метилхолантrenom. Известно, что введение животным 20-метилхолантрена приводит к усиленному синтезу и тем самым к обогащению микросомальной фракции клеток печени изоферментами цитохрома P-450, принимающими участие в детоксикации и биоактивации проканцерогенных эндогенных и экзогенных соединений [10]. Процессы детоксикации и биоактивации наиболее наглядно обоснованы на примере бенз(а)пирена [14, 17]. Так, окисление Б(а)П цитохромом P-450 с об-

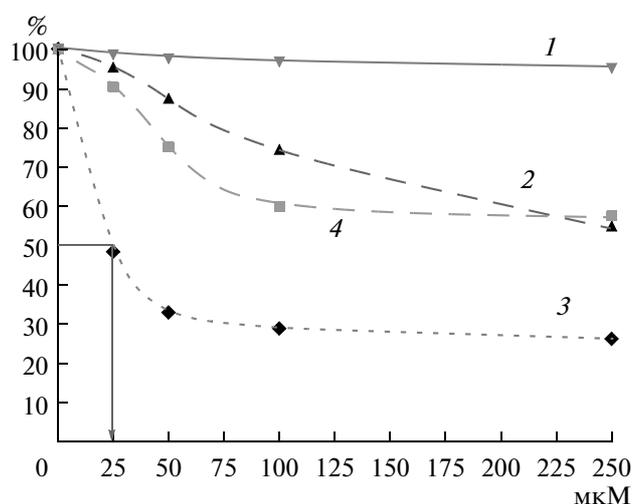


Рис. 2. Зависимость скорости окисления 7-этоксирезорурфина (% от контроля) монооксигеназной системой от концентрации брассиностероидов (мкМ). Начальная концентрация 7-этоксирезорурфина – 0.5 мкМ. Содержание цитохрома P-450 – 27.5 пмоль/мл, 50 мМ трис-HCl-буфер, pH-7.4: 1 – 24-эпибрассинолид, 2 – 28-гомобрассинолид, 3 – (22S, 23S)-28-гомобрассинолид, 4 – (22S, 23S)-24-эпибрассинолид.

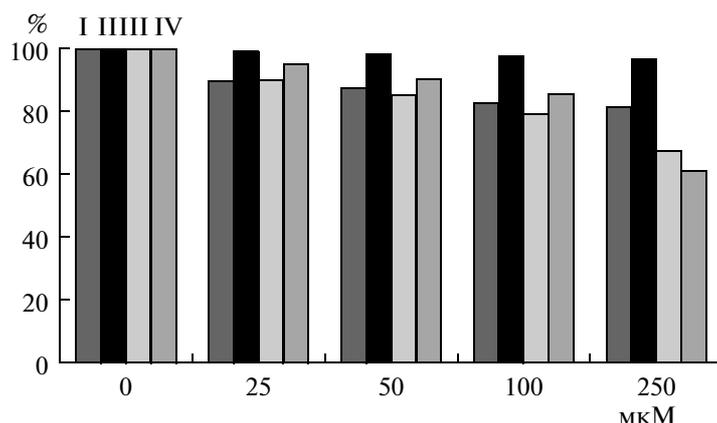


Рис. 3. Влияние brassinостероидов (мкМ) на окисление бенз(а)пирена (% от контроля). Начальная концентрация — 0.5 мкМ. Содержание цитохрома Р-450 — 55.0 пмоль/мл, 50мМ трис-НСl-буфер, рН-7.4: I — 24-эпибрассинолид, II — 28-гомобрассинолид, III — (22S, 23S)-28-гомобрассинолид, IV — (22S, 23S)- 24-эпибрассинолид.

разованием фенольных и диольных производных, которые в свою очередь являются субстратами трансфераз, представляет собой один из главных путей вывода из организма проканцерогенных полициклических ароматических соединений, т.е. их детоксикации.

Напротив, эпоксирирование дигидроксипроизводных Б(а)П (например, 7,8-дигидрокси-7,8-дигидро-бенз(а)пирена) приводит к появлению соединений, обладающих сильными канцерогенными свойствами, т.е. к канцерогенной биоактивации. Широко используемым субстратом, надежно отражающим биоактивирующую функцию цитохрома Р-450, считается 7-этоксирезорифин [18, 19]. Детоксицирующую эффективность монооксигеназной системы логично характеризовать реакцией гидроксилирования бенз(а)пирена. Обе эти реакции использованы нами в настоящей работе в качестве тестовых.

Количественным показателем степени воздействия фитогормонов на ферментативную активность стала величина IC_{50} , т.е. концентрация ингибитора, при которой скорость реакции уменьшается в 2 раза. В тех случаях, когда влияние исследуемого соединения было выражено слабо, определяли скорость реакции в процентах по отношению к контролю при концентрации соединения, равной 250 мкМ.

Поскольку при таких исследованиях используется концентрация субстрата, равная или близкая к величине константы Михаэлиса (K_m), этот параметр был определен в специальных экспериментах и составил 0.5 мкМ для 7-этоксирезорифина и 0.7 мкМ для бенз(а)пирена.

Зависимости, характеризующие степень воздействия brassinостероидов на катализируемую монооксигеназной системой реакцию деалкилирования 7-этоксирезорифина, показаны на рис. 2.

В соответствии с рис. 2, ингибирующий эффект в отношении этоксирезорифин-О-деалкилирующей активности микросомальной фракции клеток печени в значительной мере определяется структурой боковой цепи исследованных нами соединений. Так, в случае 24-эпибрассинолида ингибирующий эффект в исследованном диапазоне концентраций практически отсутствует. Для достижения 55–60%-ного уменьшения скорости реакции окислительного деалкилирования этоксирезорифина было необходимо добавлять в реакционную смесь 24-ЭБС-S и 28-ГБС в концентрациях от 200 до 250 мкМ. В то же время изменение конфигурации гидроксигрупп в природном 28-гомобрассинолиде в положениях С22 и С23 с R на S приводило к резкому усилению ингибирующего эффекта. Рассчитанное нами значение IC_{50} для данного соединения составило 25 мкМ.

Укажем также, что все исследованные соединения не оказывали существенного влияния на реакцию детоксикации проканцерогенного вещества — Б(а)П (рис. 3).

Действительно, в случае эпи- и гомобрассинолида в исследованном диапазоне концентраций стероида их эффект не проявляется вообще, а добавление в систему (22S, 23S)-28-гомобрассинолида и (22S, 23S)-24-эпибрассинолида приводило лишь к 35%-ному ингибированию процесса при концентрации соединений, равной 250 мкМ.

Несмотря на относительно короткую историю исследования brassinостероидов, их исключительная роль в растительном мире сомнений не вызывает. Установлены и многие молекулярные механизмы их действия, показывающие, что БС являются скоростьюлимитирующим фактором в клеточном развитии, выполняющими при этом функции, сходные с таковыми стероидных гормонов человека и животных [3–7]. При этом принципиально важным считается наличие в структурах

БС α, α -гидрокси-групп в кольце А и RR-конфигурации диола в боковой цепи, что согласно [20, 21], обеспечивает около 35 и 25% вклада в общую активность соединения соответственно.

О роли В-кольца известно меньше, хотя показано изменение активности при переходе от 7-оксалактонового к 6-кетациклу и её полная потеря в случае 6-оксалактоновой структуры [22, 23]. К менее принципиальным относят требования к типу и конфигурации заместителя в положении С24 [20]. Все эти требования связывают со структурой активных центров рецепторов, посредством которых возможна гормональная рецепция в растениях.

В настоящей работе мы попытались оценить возможность прямого воздействия БС на монооксигеназную ферментную систему микросом клеток печени, принимающей участие в трансформации широкого круга ксенобиотиков, в т.ч. проканцерогенных полициклических ароматических соединений типа бенз(а)пирена. Для повышения в составе микросомальной фракции изоферментов цитохрома Р-450 (**ЦИП1А1**, **ЦИП1А2**, **ЦИП1В1**), обладающих повышенной активностью в отношении ПАУ и способных превращать последние в мощные канцерогены, животным предварительно вводили 20-метилхолантрен, являющийся индуктором перечисленных выше форм цитохрома Р-450 [25, 26].

Для характеристики монооксигеназной активности мы использовали 2 субстрата — 7-этоксирезорурфин и бенз(а)пирен. По отношению к первому из них высокой каталитической активностью обладают все индуцируемые 20-метилхолантеном изоформы цитохрома Р-450. Вторым служил для оценки детоксицирующей функции монооксигеназной системы с помощью, так называемого, Ahh-теста [10, 14]. В этом случае регистрируется скорость превращения Б(а)П в его гидрокси-производные, которые после конъюгации выводятся из клетки. Очевидно, что ингибирование этого процесса является нежелательным для нормального функционирования организма.

Изменение типа и конфигурации заместителя в положении С24 (этильная группа вместо метильной в 28-гомобрасинолиде в отличие от 24-эпибрасинолида) сказалось лишь в реакции с 7-этоксирезорурфином (см. рис. 2). Однако эффект был выражен слабо и нам не удалось достигнуть двукратного снижения скорости процесса даже при повышении концентрации 28-гомобрасинолида в реакционной среде до 250 мкМ. Тем не менее следует сказать, что направленность эффекта согласуется с данными работы [24], показывающим большую активность БС с этильным в сравнении с метильным заместителем в положении С24. В то же время в нашем случае к ярко выраженному ингибиторному эффекту приводило изменение конфигурации диольных групп с RR на SS в боковой цепи обоих соединений. Причем значение IC_{50} для (2S,

23S-дигидрокси)-28-гомобрасинолида (25 мкМ) в реакции с 7-этоксирезорурфином было сравнимо с таковым 28-гомокастастерона (13 ± 2.6 мкМ) и кастастерона (16 ± 5.3 мкМ), показавших максимальную активность в опытах с раковыми клетками человека [24].

Особо следует подчеркнуть, что использованные в работе брасиностероиды не оказывали существенного влияния и на другую важную функцию монооксигеназной системы, а именно гидроксигирование бенз(а)пирена, что необходимо для его вывода из организма.

В целом, полученные результаты показывают возможность не опосредованного стероидными рецепторами, а прямого воздействия БС на ферментативные процессы в организме млекопитающих. Степень такого влияния зависит от структуры боковой цепи и тем самым предполагает возможность направленной модификации природных соединений с целью достижения необходимых физиологических эффектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Khripach V.A., Zhabinskii V.N., de Groot A.E.* // Ann. Botany. 2000. V. 86. P. 441–447.
2. *Хрипач В.А., Лахвич Ф.А., Жабинский В.Н.* Брасиностероиды. Мн.: Наука и техника, 1993. 288 с.
3. *Khripach V.A., Zhabinskii V.N., de Groot A.E.* Brassinosteroids: a new class of plant hormones. San Diego, CA: Academic Press, 1999. 450 p.
4. *Nemhauser J.L., Chory J.* // J. Exp. Bot. 2004. V. 55. P. 265–270.
5. *Hu Y., Bao F., Li J.* // Plant J. 2000. V. 24. P. 693–701.
6. *Miyazawa Y., Nakajima N., Abe T., Sakai A., Fujioka S., Kawano S., Kuroiwa T., Yoshida S.* // J. Exp. Bot. 2003. V. 54. P. 2669–2678.
7. *Brady S.M., McCourt P.* // J. Plant Growth Regul. 2003. V. 22. P. 25–31.
8. *Хрипач В.А., Жабинский В.Н., Иванова Г.В., Ольховик В.К.* // Весці Акадэміі навук Беларусі, сер. хім. навук. 1992. № 1. С. 70–72.
9. *Ахрем А.А., Лахвич Ф.А., Хрипач В.А., Ковганко Н.В., Жабинский В.Н.* // Докл. АН СССР. 1985. Т. 283. С. 130–133.
10. *Ляхович В.В., Цырлов И.Б.* Индукция ферментов метаболизма ксенобиотиков. Новосибирск: Наука, 1981. 240 с.
11. *Hoeven T.A., Coon M.J.* // J. Biol. Chem. 1974. V. 249. № 19. P. 6302–6310.
12. *Omura T., Sato R.* // J. Biol. Chem. 1964. V. 239. № 6. P. 2379–2385.
13. *Burke M.D., Mayer R.T.* // Chem. Biol. Interact. 1983. V. 45. P. 243–258.
14. *Nebert D.W., Gelboin H.V.* // J. Biol. Chem. 1968. V. 243. № 23. P. 6242–6249.
15. *Туроверов К.К., Щелчков Б.В.* // Биофизика. 1970. № 15. С. 965–970.

16. *Конев С.В.* Электронно-возбужденное состояние биополимеров. Минск: Наука и техника, 1965. 186 с.
17. *Wood A.W., Wislocki P.G., Chang R.L., Levin W., Lu A.Y.H., Yagi H., Hernandez O., Jerina D.M., Conney A.H.* // *Cancer Res.* 1976. V. 36. P. 3358–3366.
18. *Burke M.D., Thompson S, Elcombe C.R., Halpert J, Haaparanta T., Mayer R.T.* // *Biochem. Pharmacol.* 1985. V. 34. P. 3337–3345.
19. *Dai R., Zhai S., Wei X., Pincus M.R., Friedman F.K., Vestal R.E.* // *Drug Metabolism. Disposit.* 1998. V. 34. P. 989–992.
20. *Brosa C.* // *Critical Rev. Biochem. Molec. Biol.* 1999. V. 34. P. 339–358.
21. *Kubinyi H., Kehrhahn O.* // *J. Med. Chem.* 1976. V. 19. P. 578–587.
22. *Yokoto T., Morita M., Nakahashi N.* // *Agric. Biol. Chem.* 1983. V. 47. P. 2149–2157.
23. *Takatsuto S., Ikegawa N., Mirishita T., Abe H.* // *Chem. Pharm. Bull.* 1987. V. 35. P. 211–217.
24. *Malikova J., Swaczynova J., Kolar Z., Strnad M.* // *Phytochemistry.* 2008. V. 69. № 2. P. 418–426.
25. *Behnia K., Bhatia S., Jastromb B.S., Balis U., Sullivan S., Yarmush M., Toner M.* // *Tiss. Engineer.* 2000. V. 6. P. 467–479.
26. *Yu Li J., Matias J., Scudiero D.A., Hite K.M., Monks A., Sausville E.A., Waxman D.J.* // *Drug Metabolism Disposit.* 2001. V. 29. P. 304–312.

Effect of the Structure of the Brassinosteroid Side Chain on Monooxygenase Activity of Liver Microsomes

A. G. Sysa, P. A. Kiselev, V. N. Zhabinskii, and V. A. Khripach

Institute of Bioorganic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, 220141 Belarus

e-mail: Aliaksei.Sysa@gmail.com

Received December 4, 2008

Abstract—Possible pathways by which brassinosteroids affect the monooxygenase enzymatic system of mammalian liver microsomes, which is involved in the transformation of a broad spectrum of xenobiotics, were studied. The role of the structure of the side chain of brassinosteroids in the regulation of monooxygenase activity was studied using two natural compounds (24-epibrassinolide and 28-homobrassinolide) and two synthetic analogues, (22S, 23S-dihydroxy) stereoisomers. The results of this study show that brassinosteroids can directly influence the functioning of the microsomal enzymatic system. It was found that the degree of this influence depends on the side chain structure. This suggests the possibility of targeted modification of natural compounds to ensure the desired physiological effects.

Содержание 46 тома № 1, 2010 год

ЖУРНАЛ «ПРИКЛАДНАЯ БИОХИМИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ»
том 46, № 1, 2010 г.

НАЗВАНИЕ СТАТЬИ, ФИО автора/ов	стр.
<u>Экстремофильные микроорганизмы: биохимическая адаптация и биотехнологическое применение (Обзор)</u> <i>Е.В. Морозкина, Э.С. Слуцкая, Т.В. Фёдорова, Т.И. Тугай, Л.И. Голубева, О.В. Королёва</i>	5
<u>Активные формы кислорода и азота при бобово-ризобийном симбиозе (Обзор)</u> <i>А.К. Глянько, Г.Г. Васильева</i>	21
<u>Влияние структуры боковой цепи брассиностероидов на монооксигеназную активность микросом клеток печени</u> <i>А.Г. Сыса, П.А. Киселёв, В.Н. Жабинский, В.А. Хрунач</i>	29
<u>Особенности реагирования природного и рекомбинантного люминесцирующих микроорганизмов в присутствии ионов Fe^{2+}</u> <i>Д.Г. Дерябин, И.Ф. Каримов</i>	35
<u>Рост и биолюминесценция светящихся бактерий под воздействием афлатоксина В1 до и после его обработки наноалмазами</u> <i>О.А. Мозильная, А.П. Пузырь, В.С. Бондарь</i>	40
<u>Ризосферные бактерии <i>Pseudomonas aureofaciens</i> и <i>Pseudomonas chlororaphis</i>, окисляющие нафталин в присутствии мышьяка</u> <i>О.И. Сизова, В.В. Кочетков, А.М. Боронин</i>	45
<u>Образование ауксинов эндофитными актинобактериями озимой ржи</u> <i>О.В. Мерзаева, И.Г. Широких</i>	51
<u>Хемотаксисные и адгезивные свойства <i>Azotobacter vinelandii</i> и <i>Bacillus subtilis</i></u> <i>И.К. Курдюш, Н.В. Чуйко, З.Т. Бега</i>	58
<u>Effects of Bovine Milk Lactoperoxidase System on Some Bacteria</u> <i>M. Cankaya, M. Sisecioglu, O. Baris, M. Gulluce, and H. Ozdemir</i>	64
<u>Электрооптические свойства микробных суспензий при взаимодействии клеток с антителами различной специфичности</u> <i>О.И. Гулий, Л.Ю. Матора, Г.Л. Бурьгин, Л.А. Дыкман, В.В. Игнатов, О.В. Игнатов</i>	69
<u>Окисление люминола пероксидом водорода с образованием хемилюминесцентного сигнала, катализируемое пероксигеназой гриба <i>Agrocybe aegerita</i> V. Brig.</u> <i>М.М. Вдовенко, Р. Ульрих, М. Хоффрихтер, И.Ю. Сахаров</i>	73
<u>7α-гидроксилирование стероидных 5-олефинов плесневыми грибами</u> <i>В.А. Андрияшина, А.В. Дружинина, В.В. Ядерец, Т.С. Стыценко, Н.Е. Войшвилло</i>	78
<u>Выделение, идентификация и характеристика фитотоксина, образуемого грибом <i>Alternaria cirsinoxia</i></u> <i>А.О. Берестецкий, О.С. Юзихин, А.С. Каткова, А.В. Добродумов, Д.Е. Сивоериев, Л.В. Коломбет</i>	84
<u>Создание трансгенных растений сахарной свеклы, экспрессирующих ген <i>bar</i></u> <i>Я.В. Мишуткина, А.М. Камионская, К.Г. Скрябин</i>	89
<u>Роль липоксигеназы в определении качества зерна пшеницы</u> <i>М.Д. Пермякова, В.А. Труфанов, Т.А. Пшеничникова, М.Ф. Ермакова</i>	96
<u>Получение и свойства изоформ изоцитратлиазы из семян <i>Glycine max</i> L.</u> <i>А.Т. Епринцев, Е.В. Дьяченко, Т.В. Лыкова, Чан Тхи Хоанг Куен, В.Н. Попов</i>	103
<u>Влияние 24-эпибрассинолида на гормональный статус растений пшеницы при действии хлорида натрия</u> <i>А.М. Авальбаев, Р.А. Юлдашев, Р.А. Фатхутдинова, Ф.А. Урусов, Ю.В. Сафутдинова, Ф.М. Шакирова</i>	109
<u>Галактоманнан семян гледичии китайской (<i>Gleditsia sinensis</i> Lam.)</u> <i>Д.Н. Оленников, А.В. Рохин</i>	113
<u>Формирование аромата сушеных шампиньонов</u> <i>Т.А. Мишарина, С.М. Мухутдинова, Г.Г. Жарикова, М.Б. Теренина, Н.И. Крикунова, И.Б. Медведева</i>	119
ХРОНИКА	
Конференция «Химическая биология — фундаментальные проблемы бионанотехнологии»	125
Правила для авторов журнала «Прикладная биохимия и микробиология»	127