

**Л.Д. Варбанец, Л.В. Авдеева, Н.В. Борзова, Е.В. Мацелюх, А.В. Гудзенко,
Е.А. Киприанова, Л.В. Ярошенко**

*Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины,
ул. Академика Заболотного, 154, Киев, ГСП ДО 3680, Украина*

БАКТЕРИИ ЧЕРНОГО МОРЯ – ПРОДУЦЕНТЫ ГИДРОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ

*Изучение 15 различных гликозидазных активностей 64 штаммов, выделенных из воды и беспозвоночных Черного моря, показало, что 64 % исследуемых штаммов проявили способность синтезировать ферменты с α -L-рамнозидазной активностью, которая варьировала от 0,01 до 0,20 ед/мл, в зависимости от штамма. Наибольшее количество продуцентов энзима выявлено у представителей *Alteromonas macleodii*. Остальные изученные гликозидазные активности: α -амилазная, β -N-ацетил-D-глюкозаминидазная, β -D-глюкуронидазная, α -N-ацетил-D-галактозаминидазная, β -N-ацетил-D-галактозаминидазная, β -D-галактозидазная, α -D-галактозидазная, β -D-глюкозидазная, КМ-целлюлазная хотя и выявлены, однако в основном с незначительными показателями. Ни у одного из исследованных штаммов не выявлена α -D-глюкозидазная, α -D-маннозидазная, α -L-фукозидазная, β -D-ксилозидазная и α -D-ксилозидазная активности.*

Среди морских видов бактерий обнаружены штаммы с довольно высокой протеолитической активностью. Установлено, что из 64 морских изолятов 18 штаммов (28 %) характеризовались довольно высоким уровнем общей протеолитической активности (от 0,1 до 0,5 ед/мл), 43,75 % проявили незначительную (до 0,1 ед/мл) или лишь следовую (до 0,01 ед/мл), 18,75% вообще не проявили гидролитическую активность по отношению к казеину.

Изучение субстратной специфичности к ряду фибриллярных и глобулярных белков 9 исследуемых штаммов, проявивших значительную общую (казеинолитическую) активность, показало, что 8 из них проявляли фибринолитическую активность от 0,15 до 2,175 ед/мл. Все 9 штаммов характеризовались желатиназной активностью. Выявлены также коллагеназная и кератиназная активности. Ни у одного из 9 исследуемых штаммов не была выявлена эластазная активность.

Ключевые слова: гликозидазные и протеолитические активности, бактерии Черного моря.

С каждым годом возрастает интерес исследователей к морским микроорганизмам, поскольку из них получают физиологически активные вещества, которые находят применение в медицине, пищевой промышленности, сельском хозяйстве. Морские микроорганизмы являются основными поставщиками жизненно важных органических соединений в сложнейшей экосистеме Мирового океана благодаря экспрессии целого спектра уникальных ферментов, включая гидролазы, модифицирующие биополимеры. Особое строение функционально значимых участков белковых молекул таких ферментов легло в основу механизма адаптации морских микроорганизмов к условиям обитания, что привело в процессе эволюции к уменьшению количества межмолекулярных и внутримолекулярных связей. Такая стратегия позволила повысить активность каталитической реакции за счет увеличения числа оборотов активных центров ферментов. Такие ферменты характеризуются более высокой активностью, низким температурным оптимумом, отсутствием примесей, устойчивостью к химическим модификациям и длительному хранению.

На сегодня достаточно плодотворно исследуются микроорганизмы, выделенные из Тихого и Индийского океана. Показано, что многие из них являются продуцентами практически важных ферментов (щелочных фосфатаз, РНКаз, глюканаз, галактозидаз, эластаз, кератиназ) [3].

Целью данного исследования было изучить способность бактерий, выделенных из Черного моря, продуцировать гидролитические ферменты, в частности протеазы и гликозидазы.

Материалы и методы. Объектами исследований служили 64 штамма бактерий, как типовых, так и выделенных из воды и беспозвоночных Черного моря: *Alteromonas macleodii* В-11033т, В-11077, В-11078, В-11079, В-11080, В-11081, В-11106, В-11107, В-11108, В-11109, В-11110, В-11111, В-11112, В-11113, В-11114, В-11115, В-11116, В-11117, В-11118, В-11119, В-11120, В-11121, В-11122, В-11123, В-11124, В-11125, В-11126; *Alteromonas* sp. В-11103, В-11105, *Halomonas variabilis* В-11098, *Marinomonas communis* 11074т, *Marinomonas*

pontii 11075г, *Oceanimonas smirnovii* 11076г, *Pseudoalteromonas citrea* 11044, B-11085, *Pseudoalteromonas elyakovii* 11039г, *Pseudoalteromonas flavipulchra* B-11129, *Pseudoalteromonas haloplanktis* 11034г, B-11082, B-11083, B-11084, B-11128, *Pseudoalteromonas nigrifaciens* 11035г, *Pseudoalteromonas* sp. B-11130, B-11086, B-11087, B-11088, B-11089, B-11090, B-11091, *Pseudoalteromonas tetraodonis* 11036г, *Pseudoalteromonas undina* 11070г, B-11127, *Psychrobacter* sp. B-11099, B-11100, B-11101, B-11102, *Shewanella baltica* B-11092, B-11093, B-11094, B-11095, *Shewanella putrefaciens* 11073г, *Shewanella* sp. B-11096, B-11097.

Культивирование микроорганизмов проводили глубинным способом в пробирках на чалках при 220 об/мин, в течение 1 сут, при 42 °С, 10 мл питательной среды.

Казеинопептическую (общую протеолитическую, ПА) активность определяли методом Ансона в модификации Петровой [5]. Эластазную активность (ЭА) определяли колориметрически по интенсивности окраски раствора при ферментативном гидролизе конго-рот эластина [11], фибринолитическую активность (ФА) – по растворению фибрина раствором фермента [6], коллагеназную (КоЛА) и кератиназную (КерА) активности определяли по степени гидролиза, соответственно коллагена и куриного пера, содержание свободных аминокислот в реакционной смеси оценивали согласно методу [10]. При определении α -L-рамнозидазной активности использовали метод Davis [8] с использованием нарингина в качестве субстрата. *n*-Нитрофенил-2-ацетиамидо-2-дезоксид- β -D-галактопиранозид, *n*-нитрофенил- α - и β -D-галактопиранозид; *n*-нитрофенил- α - и β -D-глюкопиранозид; *n*-нитрофенил-2-ацетиамидо-2-дезоксид- α - и β -D-глюкопиранозид; *n*-нитрофенил- α - и β -D-ксилопиранозид; *n*-нитрофенил- α -D-манопиранозид; *n*-нитрофенил- α -D-фукопиранозид, *n*-нитрофенил- β -D-глюкуронид использовали как синтетические субстраты при определении гликозидазных активностей [7]. Амилазную и глюкоамилазную активность определяли по ГОСТ 20264.4-89, общую целлюлазную активность – с использованием КМ-целлюлозы [12].

Все эксперименты проводили в трех повторностях. В таблицах приведены средние арифметические величины, отклонения от среднего значения не превышало 5 %.

Результаты и их обсуждение. Морские микроорганизмы всегда были и будут объектами фундаментальных исследований в самых разных областях науки. Несмотря на то, что Океан еще мало изучен, очевидно, что именно морская микробиота играет ключевую роль в классической цепи круговорота энергии и вещества, превращающая их в источники необходимых элементов на высших трофических уровнях. Это обусловлено тем, что микробиота обладает набором экзо- и эндоферментов, которые участвуют во всех биохимических процессах: от синтеза простейших органических соединений до деградации и утилизации высокомолекулярных органических остатков в морской воде. К тому же ферменты морских микроорганизмов в процессе эволюции были адаптированы к условиям крайних значений температур, давления, солнечной энергии, концентрации солей и дефицита источников питания.

Изучение 15 различных гликозидазных активностей 64 штаммов, выделенных из воды и беспозвоночных Черного моря (табл. 1), показало, что 64 % исследуемых штаммов проявили способность синтезировать ферменты с α -L-рамнозидазной активностью, которая варьировала от 0,01 до 0,20 ед/мл в зависимости от штамма. Наибольшее количество продуцентов энзима выявлено у представителей *Alteromonas macleodii*. В культуральных жидкостях только 15 штаммов *Alteromonas macleodii* α -L-рамнозидазная активность не выявлена. Поскольку этот вид представлен 26 изолятами, можно предположить, что способность синтезировать α -L-рамнозидазу является скорее штаммовым свойством, чем видовым. Кроме представителей *Alteromonas*, α -L-рамнозидазная активность выявлена еще у 35 штаммов *Pseudoalteromonas*, *Shewanella*, *Marinomonas*, *Oceanimonas*, *Halomonas* и *Psychrobacter* (табл. 1). Наиболее активными продуцентами α -L-рамнозидазы были *A. macleodii* 11077 (0,20 ед/мл), *P. undina* 11070 (0,12 ед/мл), *P. citrea* 11044 (0,10 ед/мл) и *H. variabilis* 11098 (0,20ед/мл).

Остальные изученные гликозидазные активности: α -амилазная (у 21 штамма *Alteromonas macleodii*, *Pseudoalteromonas haloplanktis*, *P. flavipulchra*, *Pseudoalteromonas* sp., *Shewanella baltica*, *Shewanella* sp., *Halomonas variabilis*, *Psychrobacter* sp.), β -N-ацетил-D-глюкозаминидазная (*P. haloplanktis* 11083, 11084, *Pseudoalteromonas* sp. 11087, 11091, *S. baltica* 11094, 11095), β -D-глюкуронидазная (*P. citrea* 11044 и *P. flavipulchra* 11129), α -N-ацетил-D-галактозаминидазная (*M. communis* 11074г), β -N-ацетил-D-галактозаминидазная

(*Pseudoalteromonas* sp. 11087 и 11091, *P. flavipulchra* 11129), β -D-галактозидазная (*Psychrobacter* sp. 11099 и *Shewanella* sp. 11097), α -D-галактозидазная (*Alteromonas* sp. 11105, *Alteromonas macleodii* 11087, 11089, 11123, 11126), β -D-глюкозидазная (*P. haloplanktis* 11084, *Pseudoalteromonas* sp. 11087 и 11089, *S. baltica* 11092 и 11093), КМ-целлюлазная (16 штаммов *Pseudoalteromonas*, *Shewanella*, *Halomonas*, *Psychrobacter*, *Alteromonas*) хотя и выявлены, однако в основном с незначительными показателями.

Ни у одного из исследованных штаммов не выявлена α -D-глюкозидазная, α -D-маннозидазная, α -L-фукозидазная, β -D-ксилозидазная и α -D-ксилозидазная активности.

Среди морских видов бактерий обнаружены штаммы с довольно высокой протеолитической активностью (табл. 1). Установлено, что из 64 морских изолятов 18 штаммов (28 %) характеризовались довольно высоким уровнем общей протеолитической активности (от 0,1 до 0,5 ед/мл), 43,75 % проявили незначительную (до 0,1 ед/мл) или лишь следовую (до 0,01 ед/мл), 18,75 % вообще не проявили гидролитическую активность по отношению к казеину.

Изучение субстратной специфичности к ряду фибриллярных и глобулярных белков 9 исследуемых штаммов, проявивших значительную общую (казеинолитическую) активность, показало, что 8 из них проявляли фибринолитическую активность от 0,15 до 2,175 ед/мл. Наиболее высокая фибринолитическая активность выявлена у *P. flavipulchra* 11129 (2,175 ед/мл) и *A. macleodii* 11107 (2,1 ед/мл). Все 9 штаммов характеризовались желатиназной активностью, величина которой мало зависела от исследуемого штамма. Коллагеназная и кератиназная активности обнаружены у *A. macleodii* 11125 (0,3 и 0,17 ед/мл), *A. macleodii* 11126 (0,1 и 0,17 ед/мл), *P. flavipulchra* 11129 (0,1 и 0,08 ед/мл) (соответственно). Ни у одного из 9 исследуемых штаммов не была выявлена эластазная активность.

Отсутствие эластазной активности у исследуемых штаммов несколько неожиданно, поскольку эластаза гидролизует нерастворимый фибриллярный белок эластин, который находится в тканях большинства позвоночных. Это может быть обусловлено отсутствием в среде роста индуктора фермента. В пользу такого предположения свидетельствуют данные авторов [9] о том, что *Bacillus pumilus* КММ 521, выделенный из Тихого океана, синтезирует секретлируемую эластазу с высокой удельной активностью и в отличие от других эластаз, фермент не инактивируется полностью (а только на 25 %) раствором NaCl.

Обнаруженное нами присутствие α -галактозидазной и α -N-ацетилгалактозаминидазной активностей у *S. baltica* и *M. communis* соответствует полученным ранее [1, 2] данным исследователей, которые из морских бактерий *Pseudoalteromonas* sp. КММ701, ВКМ В-2135Д и *Arenibacter lateticus* КММ 426 Т выделили эффективные внутриклеточные α -галактозидазу и α -N-ацетилгалактозаминидазу, способные устранять групповую специфичность В(III) и А(II) эритроцитов крови человека соответственно.

Изучение гидролитической активности 455 штаммов морских (Тихоокеанских) *Cytophaga*-подобных бактерий показало, что число штаммов, способных деградировать протеины (казеин и желатин) составило 164 (35,8 %) и 373 (82 %), соответственно. Следует отметить, что продуценты желатиназ были наиболее многочисленными как среди представителей *Flavobacteria* (356 штаммов или 84,3 %), так и среди бактерий, аффилированных с *Sphingobacteria* (15 штаммов или 79 %). Амилитической активностью обладали 251 (58,2%) представителей *Flavobacteria* и 11 (58 %) *Sphingobacteria*. Интересно отметить, что только 12 штаммов (2,6 %) было обнаружено с хитинолитической активностью, все они относились к *Flavobacteria*. Ни один из изученных штаммов не гидролизировал целлюлозу, хотя многие образовывали кислоты из D-целлобиозы [4].

Большая часть биосферы Земли находится в условиях холода. Стабильно низкую температуру 2-4⁰С имеет вода океанских глубин. Как же влияет температура на активность ферментов исследуемых штаммов? Изучение общей протеолитической активности 9 штаммов *Alteromonas* sp., выделенных из Черного моря, при температуре 4 и 37 ⁰С (рисунок) показало, что при 37 ⁰С она была гораздо выше, при 4 ⁰С она составляла всего от 1 до 15 % от активности при 37 ⁰С. Это может свидетельствовать о больших адаптационных возможностях бактерий, ферментативные системы которых могут функционировать и при очень низких температурах.

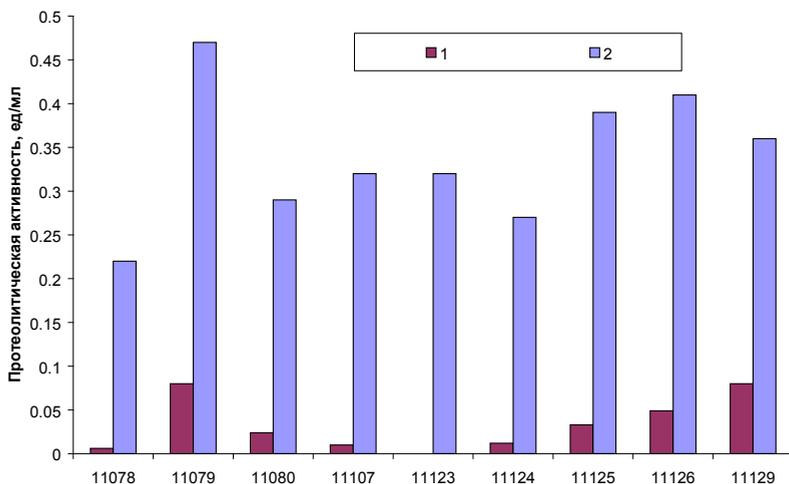


Рисунок. Протеолитическая активность различных штаммов *Alteromonas* spp., определенная при 4 °C (1) и 37 °C (2)

Таблица 1

Гликолитическая активность морских видов бактерий

Штаммы	Гликолитическая активность (ед/мл)															
	α -D-Glu	β -D-Glu	α -D-Gal	β -D-Gal	N-Ac- β -D-Gal	N-Ac- α -D-Gal	N-Ac- β -D-Glu	β -D-Glucuron	α -D-Man) α -L-Fuc	β -D-Xyl	α -D-Xyl	α -L-Rha	амилазная	КМ-целлюлазная	протеазная
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
11033	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,194
11034	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	-	0,01	0,051
11073	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	-	0,035	0,173
11074	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0,059
11092	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	-	0	0,15
11102	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	-	0	0,02
11035	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	-	-	0,03
11036 T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	-	-	0,036
11039T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,03	-	-	0
11044	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	0,1	-	-	0,03
11070	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,12	-	-	0
11074	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	0,06	-	-	0,05
11076 T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,07	-	-	0
11077	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	-	-	0,12
11078	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,05	+	-	0,22
11079	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,12	++	-	0,47
11080	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	+	-	0,29
11081	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,09	+	-	0,15
11082	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	+	-	0,17
11083	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	0	-	-	0,02
11084	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	0,025	-	-	0,04
11086	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	+	-	0,14
11087	-	+	-	-	+	-	++	-	-	-	-	-	0,07	-	-	0,05

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
11088	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,075	-	-	0
11089	-	+	-	-	+	--	-	-	-	-	-	-	0,05	-	-	0,04
11090	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,05	+	-	0,02
11091	-	-	-	-	0,05	-	0,1	-	-	-	-	-	0,01	+	-	0,102
11092	-	0,05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,05	+	-	0
11093	-	0,05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,08	+-	-	0
11094	-	-	-	-	-	-	0,05	-	-	-	-	-	0	+	-	0,17
11095	-	-	-	-	-	-	0,05	-	-	-	-	-	0,01	+	-	0,027
11096	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,025	-	+	0,02
11097	-	-	-	0,05	-	-	-	-	-	-	-	-	0,025	+	+	0
11098	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	+	+	0,014
11099	-	-	-	0,05	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	+	+	0,102
11100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	0	-	-	0
11101	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,04	-	-	0,01
11102	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,03	-	+	0,01
11103	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	-	0,01
11105	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,05	-	+	0
11106	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,04	-	-	0
11107	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,07	-	-	0,32
11108	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,035	-	+	0
11109	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,06	-	-	0,01
11110	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	-	-	0,01
11111	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	+	0
11112	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	-	0,012
11113	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	-	0,024
11114	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	0	-	-	0,03
11115	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	+-	0,01
11116	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,01	-	+	0
11117	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	+	0,17
11118	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,06	++	-	0,16
11119	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	-	0,01
11120	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-	+	0
11121													-	+		0,024
11122													-	+		0,18
11123			+										-	+		0,32
11124													-	+	+	0,27
11125													-	+		0,39
11126			+										-	++		0,41
11127													-	++		0,042
11128													-	-		0
11129					+			+					-	++	+	0,36
11130													-	-		0,02
11134													-	-		0,022

Таблица 2

Протеолитическая активность *A. macleodii* и *P. flavipulchra*

Виды, штаммы	ПА, ед/мл	ЕА, ед/мл	ФА, ед/мл	КоЛА, ед/мл	КерА, ед/мл	ЖА, диаметр зон, см
<i>A. macleodii</i> 11078	0,22	-	-	-	-	9
<i>A. macleodii</i> 11079	0,47	-	0,6	0,1	-	9
<i>A. macleodii</i> 11080	0,29	-	0,56	0,1	-	9
<i>A. macleodii</i> 11107	0,32	-	2,1	-	-	10
<i>A. macleodii</i> 11123	0,32	-	0,075	-	-	12
<i>A. macleodii</i> 11124	0,27	-	0,225	-	-	10
<i>A. macleodii</i> 11125	0,39	-	0,375	0,3	0,17	10
<i>A. macleodii</i> 11126	0,41	-	0,15	0,1	0,17	11
<i>Pseudoalteromonas flavipulchra</i> 11129	0,36	-	2,175	0,1	0,08	9

Примечание: «-» не обнаружено

Таким образом, в результате проведенной работы показано, что Черное море, как и Тихий океан, богато морскими видами бактерий, которые могут быть эффективными продуцентами ряда практически важных ферментов, таких как α -L-рамнозидазы и протеиназы, в частности с фибринолитической активностью, и которые могут быть перспективными к внедрению в биотехнологические процессы.

**Варбанец Л.Д., Авдеева Л.В., Борзова Н.В., Мацелюх О.В., Гудзенко О.В.,
Киприянова О.А., Ярошенко Л.В.**

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, Київ

БАКТЕРІЇ ЧОРНОГО МОРЯ – ПРОДУЦЕНТИ ГІДРОЛІТИЧНИХ ФЕРМЕНТІВ

Резюме

Вивчення 15 різних глікозидазних активностей 64 штамів, виділених із води і безхребетних Чорного моря, показало, що 64 % досліджуваних штамів проявили здатність синтезувати ферменти з α -L-рамнозидазною активністю, яка варіювала від 0,01 до 0,20 од/мл залежно від штаму. Найбільша кількість продуцентів ензиму виявлена у представників *Alteromonas macleodii*. Інші досліджені глікозидазні активності: α -амілазна, β -N-ацетил-D-глюкозамінідазна, β -D-глюкуронідазна, α -N-ацетил-D-галактозамінідазна, β -N-ацетил-D-галактозамінідазна, β -D-галактозидазна, α -D-галактозидазна, β -D-глюкозидазна, КМ-целюлазна хоча і виявлені, але в основному з незначними показниками. Ні у одного з досліджених штамів не виявлені α -D-глюкозидазна, α -D-манозидазна, α -L-фукозидазна, β -D-ксилозидазна і α -D-ксилозидазна активності. Серед морських видів бактерій знайдені штами з досить високою протеолітичною активністю. Встановлено, що з 64 морських ізолятів 18 штамів (28 %) характеризувались досить високим рівнем загальної протеолітичної активності (від 0,1 до 0,5 од/мл), 43,75 % проявили незначну (до 0,1 од/мл) або лише слідову (до 0,01 од/мл), 18,75% взагалі не проявили гідролітичну активність щодо казеїну. Вивчення субстратної специфічності до ряду фібрилярних та глобулярних білків 9 досліджуваних штамів, які проявили значну загальну (казеїнолітичну) активність, показало, що 8 з них проявляли фібринолітичну активність від 0,15 до 2,175 од/мл. Всі 9 штамів характеризувались желатиназною активністю. Виявлені також колагеназна і кератиназна активності. Ні у одного з 9 досліджуваних штамів не була виявлена еластазна активність.

Ключові слова: глікозидазні та протеолітичні активності, бактерії Чорного моря.

**L.D.Varbanets, L.V.Avdeeva, N.V.Borzova, O.V.Matselyukh, O.V.Gudzenko, O.H.Kiprianova,
L.V.Yaroshenko**

*Zabolotny Institute of Microbiology and Virology,
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv*

THE BLACK SEA BACTERIA – PRODUCERS OF HYDROLYTIC ENZYMES

S u m m a r y

Investigation of 15 different glycoside activities of 64 strains isolated from water and invertebra of the Black Sea has shown that 64 % of the studied strains displayed the capacity to synthesize enzymes with α -L-ramnosidase activity which varied from 0.01 to 0.20 un/ml depending on the strain. The greatest number of the enzyme producers was found in representatives of *Alteromonas macleodii*. Other investigated glycosidase activities: α -amylase, β -N-acetyl-D-glucosaminidase, β -D-glucuronide, α -N-acetyl-D-galactosaminidase, β -N-acetyl-D-galactosaminidase, β -D-galactosidase, α -D-galactosidase, β -D-glucosidase, KM-cellulase activities though have been found, but mainly with inconsiderable indices. α -D-glucosidase, α -D-mannosidase, α -L-fucosidase, β -D-xylosidase and α -D-xylosidase activities were found in neither of the studied strains.

Strains with rather high proteolytic activity were found among marine species of bacteria. It has been established that 18 strains (28 %) of 64 marine isolates were characterized by rather high level of total proteolytic activity (from 0.1 to 0.5 un/ml), 43.75 % of them displayed inconsiderable (up to 0.1 un/ml) or only trace (up to 0.01 un/ml), 18.75 % did not display any hydrolytic activity in respect of casein.

Investigation of substrate specificity to a number of fibrillar and globular proteins of 9 studied strains, which displayed considerable general (caseinolytic) activity has shown that 8 of them displayed fibrinolytic activity from 0.15 to 2.175 un/ml. All 9 strains were characterized by gelatin activity. Collagenase and keratinase activity was also revealed. Neither of 9 studied strains displayed elastase activity.

The paper is presented in Russian.

Key words: glycosidase and proteolytic activity, the Black Sea bacteria.

The author's address: *Varbanets L.D.*, Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine; 154 Acad. Zabolotny St., Kyiv, MSP, D03680, Ukraine.

1. *Балабанова Л.А.* Гидролитические ферменты морских бактерий, модифицирующие биополимеры: молекулярное клонирование и свойства: Автореф дисс... канд биол. наук. – 2007. – Владивосток. – 21 с.
2. *Бакунина И.Ю., Кульман Р.А., Лихошерстов Л.М., Мартынова М.Д., Недашковская О.И., Михайлов В.В., Елякова Л.А.* Альфа-N-ацетилгалактозаминидаза из морской бактерии *Arenibacter latericus* КММ 426Т, устраняющая групповую специфичность А-эритроцитов//Биохимия.- 2002. -67, №6.-С. 830-837.
3. *Зягинцева Т.Н., Сова В.В., Бакунина И.Ю., Сундукова Е.В., Ермакова С.П., Елякова Л.А.* Морские микроорганизмы как источники биологически активных полисахаридов, полисахарид гидролаз с уникальной специфичностью и их ингибиторов//Химия в интересах устойчивого развития – 1998 – №6. – С. 417-426.
4. *Недашковская О.И.* Гидролитическая активность бактерий типа *Bacteroides*, изолированных из различных акваторий Тихого Океана//Исследования в области физико-химической биологии и биотехнологии. –Тезисы докладов II региональной научной конференции. –Владивосток: ДВО РАН, 2006. – С.85.
5. *Петрова И.С.* Определение протеолитической активности ферментных препаратов микробного происхождения / И.С. Петрова, М.Н. Винцонойте // Прикл. биохимия и микробиология. — 1966. – 2, № 1. — С. 322—327.
6. *Польгалина Г.В.* Определение активности ферментов / Г.В. Польгалина, В.С. Чердниченко, Л.В. Рымарева. — М.: ДеЛи принт, 2003. — 250 с. — ISBN 5-94343-044-X
7. *Chaplin M.F.* Carbohydrate analysis: A practical approach, 2nd ed. / M.F. Chaplin, J.F. Kennedy. – Oxford: IRL Press, 1994. — 324 p. — ISBN 0-19-963449-1.
8. *Davis B.J.* Assay of naringinase / B.J. Davis // Anal. Biochem. — 1985. — **149**, №2. — P.566—571.
9. *Elyakov G.B., Kuznetsova T.A., Stonik V.A., Mikhailov V.V.* New trends of marine biotechnology development// Pure and Appl. Chem. – 1994. – **66**, N4. – P. 811-818.
10. *Moore S.* Photometric ninhydrin method for use in the chromatography of aminoacids / S. Moore, W. Stein // J. Biol. Chem. – 1948. – **176**. – P. 367.
11. *Trombridg G.O.* Purification of human elastase / G.O. Trombridg, H.D. Moon // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. — 1972. — **141**, N 3. — P. 928—931.
12. *Wood T.M.* Methods for measuring cellulase activities / T.M. Wood, M.K. Bhat // Methods Enzymol. — 1988. — **160**. — P. 87—112.

Отримано 13.10.2010