

Результаты исследования показали, что рекомбинантный фермент проявляет оптимальную активность при 50 °С (рисунок 4В).

1. Сеницын А.П., Гусаков А.В., Черноглазов В.М. Биоконверсия лигноцеллюлозных материалов. МГУ, 1995.

2. Эрнст Л., Лаптев Г. Ферменты улучшают переваривание клетчатки // Животноводство России. -2006. -№10. -С. 36-38.

3. Miyamoto K. Renewable biological systems for alternative sustainable energy production // Food & Agriculture Org., -1997. 108p.

4. Taipakova S.M., Smailov B.B., Stanbekova G., Bissenbaev A. K. Cloning and expression of *Lentinula edodes* cellobiohydrolase gene in *E. coli* and characterization of recombinant enzyme // Journal of Cell and Molecular biology.-Turkey, 2011. -Vol. 9. -№1. -P.53-63.

5. Taipakova S.M., Stanbekova G., Ischenko A., Saparbaev M., Bissenbaev A.K Cloning and expression of *Lentinula edodes* cellobiohydrolase CEL6B gene in *E. coli* // International Journal of chemistry and biology. -2011. -№1.-С.19-26.

6. Hon J., Tamaki H., Akiba S., Yamamoto K., Kumagai H. Cloning of Gene Encoding a Highly Stable Endo-β-1,4-Glucanase from *Aspergillus niger* and Its Expression in Yeast // J. BIOSCI. BIOENG.- 2001.- Vol. 92.-P. 434-441.

7. Nelson NJ. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose // *J Biol Chem.* -1944. -Vol.153. -P. 375-380.

8. Somogyi M. Notes on sugar determination // *J Biol Chem.* -1952. -Vol.195. -P. 19-23.

9. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein using the principle of protein-dye binding // *Anal Biochem.* -1976. -Vol.72. -P. 248-252.

\*\*\*

EG enzymes are key components in fungal cellulase systems, and their functional activity is critical for hydrolysis of crystalline cellulose. The EG cDNA from *A.niger* was cloned into *E. coli*. The method of cloning consisted gene amplification with specific primers. The product of PCR was cloned into *E. coli* vector plasmid under control of T7 promoter. We showed expression of *eng1* gene in *E. coli* recombinant strain and examined some properties of the recombinant protein. It showed maximal activity at 50°C and pH 6.0

\*\*\*

Эндо-β-1,4-глюканаза EGаморфты целлюлозаның гидролизіне жауапты целлюлазалық кешен ферменттерінің маңызды құрамдас бөлігі болып табылады. *Aspergillus niger* саңырауқұлағының EG қДНҚ молекуласы *E. coli* клеткасында клондалды. Клондау әдісі сайт спецификалық праймерлерді қолдану арқылы ПТР әдісі көмегімен қДНҚ молекуласын амплификациялау арқылы жүзеге асырылды. ПТР өнімі Т7 фагы промоторы бақылауында рЕТ11d векторында клондалды. *E. Coli* клеткасының рекомбинантты штаммында *eng1* генінің экспрессиясы көрсетілді. ENG1-ның кейбір физико-химиялық қасиеттері зерттелді. Рекомбинантты белок 50°С және рН6.0 максималды белсенділік көрсететіні анықталды.

**Л.П. Треножникова, С.А. Айткельдиева, А.Х. Хасенова, С.Ш. Шакиев, Г.Д. Ултанбекова,  
А.К.Саданов**

## **ПЕРСПЕКТИВЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭКСТРЕМОФИЛЬНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ В КАЗАХСТАНЕ**

(Институт микробиологии и вирусологии КН МОН РК)

*В работе изучены антагонистические свойства актиномицетов из солончаковых почв Алматинской области в нейтральных, соленых и щелочных условиях жизнедеятельности продуцентов.*

В течение долгого периода ученые изучали разнообразие микроорганизмов в наиболее привычной нейтральной среде, а также, их выделение, исследование их свойств и образование ими природных биологически активных веществ было связано с нейтральными условиями. С нейтральными условиями связано и открытие современных природных антибиотиков, широко используемых в медицине для лечения инфекций различных этиологий. Однако разнообразие природной среды на нашей планете дает возможность предположить существование иных типов взаимоотношений в экстремальных местообитаниях микроорганизмов. Широкое распространение резистентных возбудителей инфекций, «открытие» уже известных антибиотических веществ, заставляет расширять границы скрининга, меняя его методы и источники получения новых перспективных биологически активных веществ. Поэтому необычные природные субстраты, экстремальные экосистемы являются в настоящее время наиболее востребованными источниками исследования, именно из них можно ожидать выделения новых микроорганизмов с уникальными свойствами. Морская среда, почвы с высоким уровнем засоления и щелочности, активно исследуются

как источники получения новых вторичных метаболитов с антибактериальными и антифунгальными свойствами.

Устойчивость микроорганизмов является причиной интенсификации поиска новых антибактериальных и антифунгальных агентов, как эффективного пути преодоления этого явления. Скрининг природных ингибиторов с абсолютно новой структурой и новыми мишенями действия является более предпочтительным по сравнению с созданием аналогов уже существующих лекарственных препаратов.

Микроорганизмы из экстремальной среды обитания привлекают в последнее время особое внимание, так как, это наименее изученная и наиболее перспективная группа продуцентов новых биологически активных веществ [1-5]. Выделение и изучение продуцентов новых терапевтически ценных соединений с уникальными свойствами из экстремальных мест обитания является в настоящее время наиболее разрабатываемым направлением в современной фармацевтической индустрии. Без сомнения исследование экстремофильных микроорганизмов в биотехнологии связано с их огромным потенциалом. Образующие ими молекулы обладают уникальными свойствами, которые открывают широкие возможности для разнообразного применения. Для коммерческого применения, помимо антибиотиков, большую роль играют ферменты, образуемые экстремофилами, особенно алкалофильными микроорганизмами. Использование экстремофилов в промышленности и медицине открывает новую эру в биотехнологии. В настоящее время из экстремофильных микроорганизмов уже получен ряд новых природных соединений индустриального значения, таких как антибиотики и ферменты. Новый антибиотик пирокколл с антипаразитным и противоопухолевым действием получен из алкалофильного актиномицета [6]. Новое антимикробное соединение фаттивирицин получено из алкалофильного актиномицета *Streptomyces microflavus* [7]. Высокая антимикробная активность описана для ряда морских актиномицетов [8-10]. Ряд новых противоопухолевых антибиотиков, таких как чиникомидин, лайолламицин и салиниспорамид были также обнаружены в морских актиномицетах *Streptomyces* spp [11-15].

Казахстан, в отличие от многих стран, где активно проводится поиск экстремофилов для медицины и промышленности, обладает собственными уникальными природными ресурсами, которые могут быть источником перспективных продуцентов новых конкурентоспособных биологически активных веществ с уникальными свойствами. Почвенный покров и водные ресурсы республики Казахстан характеризуется большим разнообразием природных мест обитания для экстремофильных микроорганизмов (солончаки, солонцы, солоды, зоны промышленных разработок). Солонцы занимают на территории Казахстана около 40 млн. га, общая площадь солончаков составляет около 1 млн. га. Они различаются как по морфологическим признакам, так и по характеру засоления (хлоридные, сульфатные, содовые, смешанные). Большое разнообразие сред обитания для экстремофилов представляют водные ресурсы Казахстана: Каспийское, Аральское моря, озеро Балхаш и многочисленные засоленные озера, в которых минерализация воды может достигать до 335 г/л. В последнее время экстремальные местообитания микроорганизмов все чаще имеют антропогенное происхождение. Интерес для выделения микроорганизмов с необычными свойствами представляет также интенсивное развитие добывающей промышленности и наличие разнообразных промышленных разработок на территории Казахстана.

Возможность использования собственных разнообразных экстремальных природных субстратов, открывает большие возможности для скрининга новых конкурентоспособных лекарственных веществ, что создаст основу для развития инновационной фармацевтической промышленности Казахстана. Данное направление является особенно приоритетным для Республики Казахстан, где отсутствует обеспечение биотехнологической промышленности собственными продуцентами антибиотиков, уже используемых в медицинской практике и продуцентами новых лекарственных препаратов.

В Институте микробиологии и вирусологии МОН РК из солончаковых почв Алматинской области с высоким уровнем pH (9-10,5) получены 86 актиномицетов с галофильными и алкалофильными свойствами и изучено их антагонистическое действие против ряда условно-патогенных микроорганизмов (клинических штаммов метициллинрезистентных стафилококков, микрококков, *E.coli*). В результате отобраны 10 штаммов актиномицетов с высокими антагонистическими свойствами (Таблица 1).

**Таблица 1 - Антагонистические свойства актиномицетов из солончаковых почв Алматинской области в нейтральных, соленых и щелочных условиях жизнедеятельности продуцентов**

Номер штамма	Диаметр зоны подавления роста MRSA №3316, мм				
	Среда 1	Среда	Среда	Среда	Среда 1

	–нейтральная среда, pH 7,0	1 +5% NaCl, pH 7,0	1 + 7,5% NaCl, pH 7,0	1+ 0,5% Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , pH 9,0	+ 1,0% Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , pH 9,0
31/2	0	14	15	13	16
45/13	0	16	24	10	0
46/9	0	26	15	40	11бс
46/14	10бс	24	15	0	0
46/15	0	37	30	18бс	0
49/21	0	-	-	20	0
53/9	0	14	21	14	19
75/B	12	25	н\р	н\р	н\р
91/1	0	20	27	13бс	15
96/1	11	26	11	19	16

П р и м е ч а н и е: бс – бактериостатическое действие; н/р – отсутствие роста актиномицета на данной среде.

Проявление высоких антагонистических свойств обеспечивалось при культивировании актиномицетов на средах с высоким уровнем хлорида натрия в среде (5% и более) или Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(0,5-1,0%) и высокими значениями pH>8. Все полученные штаммы экстремофильных актиномицетов представляют несомненный интерес для дальнейшего исследования, как возможные продуценты новых терапевтически ценных антибиотиков.

Таким образом, исследование микробного разнообразия экстремальных экосистем Казахстана является актуальным и приоритетным для получения новых антимикробных соединений. Изучение антибиотиков, образуемых в гиперсоленых и высоко щелочных условиях жизнедеятельности продуцентов, позволит отобрать природные соединения с уникальными свойствами и разрабатывать их в Республике Казахстан.

1 Zhang L. Demain A.L. Natural Products. Drug Discovery and Therapeutic Medicine, 2005, 371 p., Humana Press Inc.

2. Basilio A., Gonzalez I., Vicente M. F., Gorrochategui J., Cabello A., Gonzalez A., Genilloud O. Patterns of antimicrobial activities from soil actinomycetes isolated under different conditions of pH and salinity. J. Appl. Microbiol., 2003, V.95, P.814.

3. Vasavada S. H., Thumar J. T., Singh S. P. Secretion of a potent antibiotic by salt-tolerant and alkaliphilic actinomycete *Streptomyces sannanensis* strain RJT-1. Current Science, 2006, V.91, #10, P.1393-1397.

4. Bommarius A.S., Riebel B.R. Biocatalysis. Isolation and Preparation of Microorganisms, 2004, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA

5. Rainey A., Oren A. Extremophiles, 35., 2006, 838p. Academic Press.

6. Dietera A., Hamm A., Fiedler H. P., Goodfellow M., Muller W. E., Brun R. Bringmann G. Pyrocoll, an antibiotic, antiparasitic and antitumor compound produced by a novel alkaliphilic *Streptomyces* strain. J. Antibiot., 2003, V.56, P.639–646.

7. Uyeda M. Metabolites produced by actinomycetes – antiviral antibiotics and enzyme inhibitors. Yakugaku Zasshi, 2004, 128, 469–479.

8. Fiedler H. P. et al. Marine actinomycetes as a source of novel secondary metabolites. Antonie Van Leeuwenhoek, 2005, V. 87, P.37–42.

9. Kokare C. R., Mahadik K. R., Kadam S. S. and Chopade B. A., Isolation, characterization and antimicrobial activity of marine halophilic *Actinopolyspora* species AH1 from the west coast of India. Curr. Sci., 2004, V.86, P.593–597.

10. Ellaiah P., Raju K. V., Adinarayan G., Prabhakar T., Premkumar J. Bioactive rare actinomycetes from indigenous natural substrates of Andhra Pradesh. Hind. Antibiot. Bull., 2002, V.44, P.17–24.

11. Li F. et al. Chinikomycins A and B; isolation, structure elucidation, and biological activity of novel antibiotics from a marine *Streptomyces* sp. isolate M045. J. Nat. Prod., 2005, V.68, P.349–353.

12. Manam R. R. et al., Lajollamycin, a nitro-tetraenespiro-beta-lactone-gamma-lactum antibiotic from the marine actinomycetes *Streptomyces nodosus*. J. Nat. Prod., 2005, V.68, P.240–243.

13. Maldonado L., Fenical W., Goodfellow M., Jensen P., Kauffman C., Ward A. *Salinispora* gen nov., sp. nov., *Salinispora arenicola* sp.nov., and *S. tropica* sp. nov., obligate marine actinomycetes belonging to the family Micromonosporaceae\ Internat.J. System. Appl. Microbiol., 2005, V.55, P.1759-1766.

14. Feling R., Buchanan G., Mincer T., Kauffman C., Jensen P., Fenical W. *Salinisporamide A*: A highly cytotoxic proteasome inhibitor from a novel microbial source, a marine bacterium of the new genus *Salinispora*\ Angew. Chem. Int. Ed., 2003, V.42, P.355-357.

15. Jensen P., Williams P., Oh D-C., Zeigler L., Fenical W. Species-specific secondary metabolite production in marine actinomycetes of the genus *Salinispora*\ J. Appl. and Environ. Microbiol., 2007, V.73, P.1146-1152.

\*\*\*

Жұмыста Алматы облысының соланчакты топырақтарынан бөлініп алған актиномицеттердің антагонистік қасиеттері зерттелген.

\*\*\*

In this paper we studied the antagonistic properties of actinomycetes from saline soil in the Almaty region neutral saline and alkaline conditions of life of producers