

Pleurotus eryngii родственные термины: пептид, Лакказа, липаза, Альфа-окисление, универсальная пероксидаза, бактерия, Гриб, Хризоспорий, лен просмотр всех тем понимание деградации лигнина и его потенциального промышленного применения Ахмед М. Абдель-Хамид ... Айзек К. О. Канн, в авансы в прикладной микробиологии, 2013 3.2.1.3 универсальной пероксидазы ВП (ВЦ 1.11.1.16) представляет собой гем-содержащие пероксидазы с молекулярной ligninolytic гибридной архитектурой, сочетающей различные окислительно-активных сайтов (Перес-Боада и соавт., 2005; Руис-Дуэньяс и соавт., 2009). VP был впервые описан в грибе белой гнили *Pleurotus eryngii* (Martinez, Böckle, Camarero, Guillén, & Martinez, 1996). VP был описан только у видов родов *Pleurotus* и *Bjerkandera* (Heinfling et al., 1998; Moreira, Almeida-Vara, Malcata, & Duarte, 2007). Ферменты VP обладают каталитической активностью как MnP, так и LiP и способны окислять Mn²⁺, как MnP, и нефенольные соединения с высоким редокс-потенциалом, такие как LiP. Каталитический цикл VP объединяет циклы других грибковых пероксидаз, LiP и MnP. В отличие от классического MnP, VP способен катализировать Mn²⁺-независимое окисление простых Аминов и фенольных мономеров (Perez-Boada et al., 2005). Каталитическая универсальность VP позволяет применять его в Mn³⁺ - опосредованных или Mn-независимых реакциях как на ароматических субстратах с низким, так и с высоким редокс-потенциалом. Хотя ВП от п. вешенка Степная катализирует окисление mn²⁺ с для форм mn³⁺ с H₂O₂, он отличается от классического MnPs своей марганец-самостоятельной деятельности, включение его для окисления замещенных фенолов и синтетических красителей, а также как субстрат для губ, Вирджиния (Камареро и соавт., 1999). > Прочитайте полностью главу ферменты из базидиомицетов-своеобразные и эффективные инструменты для биотехнологии Розан Марина Перальта ... Брэхт Adelar, в биотехнологии микробных ферментов, 2017 5.4.2 ферментов, участвующих в деградации лигнина деградации лигнина белая гниль базидиальных грибов включает в себя комплекс ферментов, называемый лигнин модифицирующих ферментов (КМЭ). Большинство Лмэ секретируются в виде множественных изоформ многими различными видами грибов белой гнили в различных условиях. Набор Лмэ включает фенолоксидазу, лакказу (Lcc, EC 1.10.3.2) и три пероксидазы (пероксидазы с высоким окислительным потенциалом класса II), лигнинпероксидазу (LiP, EC 1.1.1.14), марганцевую пероксидазу (MnP, EC 1.1.1.13) и универсальную пероксидазу (VP, 1.11.1.16). Лакказа, впервые описанная более 128 лет назад, является одним из старейших известных ферментов. LiP и MnP были первоначально обнаружены у *P. chrysosporium*. VP также был добавлен в группу LMEs и первоначально был обнаружен в штамме *Pleurotus eryngii* (Salvachúa et al., 2013). Грибы белой гнили обычно выделяют один или несколько Лмэ в различных комбинациях. Проведено распределение грибов белой гнили по группам в соответствии с их ферментативными системами. Эта общая классификация основана на способности различных грибов продуцировать одну или комбинацию пероксидаз и лакказы. В общем виде грибы белой гнили можно разделить на четыре группы в зависимости от их способности продуцировать лакказы и пероксидазы (LiP, MnP и VP): (1) лакказы и MnP и LiP (*T. versicolor*, *B. adusta*), (2) лакказы и по крайней мере одну из пероксидаз (*L. edodes*, *P. eryngii*, *C. subvermispora*), (3) только лакказа (*S. commune*), (4) только пероксидазы (*P. chrysosporium*). Наиболее часто наблюдается КМЭ среди базидиальных грибов белой гнили являются laccases и МНП, и крайней мере, наблюдается блеск и ВП (Масиел и соавт., 2012). Отсутствие или отсутствие этих ферментов у некоторых грибов белой гнили, секвенирование геномов грибов белой гнили и открытие новых ферментов могут привести к созданию различных групп. Например, гриб белой гнили *C. subvermispora* делигнифицирует лигноцеллюлозу с высокой селективностью, но еще несколько лет назад казалось, что ей не хватает специализированных пероксидаз, называемых LiPs и VPs, которые обычно считаются важными для лигнинолиза (Lobos et al., 1994). Недавно секвенированный геном *C. subvermispora* был подвергнут скринингу на наличие генов, кодирующих пероксидазы с потенциальной лигнолитической ролью (Fernandez-Fueyo et al., 2012). Среди 26 генов пероксидазы 2 недавно открытые пероксидазы *C. subvermispora* являются функционально компетентными губами, филогенетически и каталитически промежуточными между классическими губами и VPs. Эти

результаты дают новое представление о селективной деградации лигнина *C. subvermispora*. Помимо пероксидазы и laccases, грибки производят другие вспомогательные процессы ферменты, не деградировать лигнин самостоятельно, но необходимые для завершения процесса лигнина и/или деградации ксенобиотиков: Арил-алкоголь-дегидрогеназа (ААД ЕС 1.1.1.90), глиоксаля-оксидазы (ГЛОБОКС, ЕС 1.2.3.5), хинон-редуктазы (с QR, ЕК 1.1.5.1), целлобиозы дегидрогеназы (ЦРБ, ЕС 1.1.99.18), супероксиддисмутазы (СОД, кф 1.15.1.1), глюкозы 1-оксидазы (стенка, ЕС 1.1.3.4), руганозе 2-оксидазы (P2Ox, ЕС 1.1.3.4), и метанол оксидаза (кф 1.1.3.13). Это в основном оксидазы, генерирующие H₂O₂, дегидрогеназы лигнина и многие ксенобиотики (Maciel et al., 2012). Монооксигеназы цитохрома P450 (CYPs, ЕС 1.14.14.1) также являются значимыми компоненты, участвующие в деградации лигнина и химически ассоциированных ксенобиотиков (Coelho-Moreira et al., 2013a; Ning and Wang, 2012). Эти неспецифические монооксигеназы представляют собой внутриклеточные гем-тиолатсодержащие оксидоредуктазы, действующие на широкий спектр субстратов стереоселективным и региоселективным образом при потреблении O₂. Активированные восстановленным гем-железом, эти ферменты добавляют один атом молекулярного кислорода к субстрату, обычно путем реакции гидроксильирования. Может произойти ряд других реакций, включая эпоксидирование, сульфокисление и деалкилирование (Kues, 2015). Недавние дополнения к ферментативным системам грибов белой гнили включают обесцвечивающие красители пероксидазы (DyP), участвующие в окислении синтетических красителей с высоким редокс-потенциалом и модельных соединений нефенольного лигнина (Liers et al., 2010) и ароматические пероксигеназы (APO), которые катализируют разнообразные реакции переноса кислорода, которые могут привести к расщеплению эфиров (Hofrichter et al., 2010).

> Прочитайте полностью главу пребиотики растительного происхождения и их польза для здоровья Абдуллы Сафара Альтубиани ... Хешем А. Малак, в новом взгляде на Фитомедицину, 2019

4.2 источники пребиотиков на основе ферментируемости большинство продуктов питания и многие ингредиенты считаются пребиотиками. Различные продукты питания содержат различные типы клетчатки, только некоторые из них ферментируются. Хотя ферментируемые волокна оказывают решающее благотворное влияние на своего хозяина, но пребиотики не являются таковыми. Пребиотики - это специфические компоненты, которые направлены на стимуляцию специфических бактерий в толстой кишке, продуцирующих широкий спектр конечных продуктов, полезных для хозяина. Таким образом, пребиотики могут быть пищевыми ферментируемыми волокнами, но все ферментируемые волокна не являются пребиотиками (Holscher, 2017). Существует значительная разница в двух терминологиях, таких как пищевые волокна метаболизируются большинством обитающих в толстой кишке микроорганизмов, но пребиотики ферментируются специально определенной группой или штаммом микроорганизмов.

Растительные источники пребиотиков включают ФОС, гос и инулин. Некоторые из полисахаридов, входящих в состав клеточной стенки растений, такие как пектины, ксиланы, доступны в обычной диете (Yoo et al., 2012). Кроме того, изомальтоолигосахариды (IMOs), инулин корня цикория (FOS), ксилолигосахариды (XOSs), соевые полигосахариды (SBOSs) лактулоза, рафиноза и сорбит имеют огромное применение в качестве пребиотиков и оказывают большое влияние на здоровье (Patel and Goyal, 2012). Резистентный крахмал цельного зерна также признан потенциальными пребиотическими углеводами, поскольку они не могут быть переварены пищеварительными ферментами хозяина и не всасываются кишечником, тем самым стимулируя рост полезной микрофлоры кишечника (Fuentes-Zaragoza et al., 2011; Van den Ende, 2013). Кроме того, ферментируемость пищевых волокон, таких как камедь пажитника и глюканы, к SCFAs оказывает множество полезных эффектов для здоровья (Lin et al., 2011).

4.2.1 пребиотики из других источников пищи оценка, проведенная Европейской комиссией или европейским органом по безопасности пищевых продуктов, утверждает, что любые продукты питания или пищевые компоненты, которые ранее не имели безопасной истории использования, считаются "новыми продуктами питания". Известно, что ряд пребиотиков был создан в качестве новых продуктов питания. В Южной Америке якон (*Smallanthus sonchifolius*) используется в качестве традиционной

пищи. Вопросы безопасности якона вызывают сомнения у Европейского Союза. Он имеет четкую историю безопасного использования, включая пребиотические эффекты, обеспечивая мириады преимуществ для здоровья. Он не содержит токсичных метаболитов и антинутриентов (Campos et al., 2012). Пребиотики в виде углеводов присутствуют в ряде пищевых культур, таких как овощи, корнеплоды, включая клубнеплоды, например, бамяя, лук-шалот, лук-шалот, чеснок, артишок, а также в семействе тыквенных овощей, таких как восковая земля или защита бутылок. Среди таких фруктов, как цикорий и якон, основным источником инулина являются яблоки. Кроме того, георгины, которые являются клубневой культурой, обладают пребиотическим действием, состоящим из фруктозы. О некоторых видах грибов, таких как *Agaricus bisporus*, сообщалось как о потенциальных пребиотических преимуществах. Экстракт плодового тела Плевротозных видов (*pleuran*), содержащий-глюкан, был использован в различных пищевых добавках, придающих иммуносупрессию и рост кишечного пробиотика здоровью человека (Synytsa et al., 2009). Полезные виды включают *Pleurotus ostreatus* и *Pleurotus eryngii*. Стероидное сапогениновое соединение, называемое диосгенином, выделенное из растений ямса, стимулирует рост и активность кишечных молочнокислых бактерий (LAB) (Huang et al., 2012). В дальнейшем дальнейшие исследования, проведенные этой группой на мышинной модели, показали, что диосгены оказывают также иммуномодулирующее действие на регуляторные Т-клетки кишечника при пероральном введении (Huang et al., 2017). Зерновые бобовые культуры являются также основным источником пищевых волокон как зерно нута состоит из -Госса, который используется в виде пребиотиков в функ от заражения. Мягкая гниль - это еще один набор заболеваний плодового тела, вызываемых бактериями, с такими симптомами, как изъязвление, липкие пятна и даже полное растворение. Быстрая мягкая гниль шляпки и стебля вызывается *Burkholderia gladioli* pv. *agricicola* и *Janthinobacterium agaricidamnosum*, в то время как *Pantoea* sp. вызывает мягкую гниль, сопровождающуюся пропитанными водой поражениями *Pleurotus eryngii*. Болезнь мумий имеет очень разные симптомы (плодовые тела не достигают зрелости, но вместо того, чтобы разлагаться, становятся мумифицированными), но причина еще не была проверена путем выполнения постулатов Коха, хотя несколько видов *Pseudomonas* были вовлечены. Помимо того, что существует целый ряд патогенных бактерий, существуют также различия в болезнях, вызываемых одним и тем же видом. *Pseudomonas agaricus* вызывает: легкую пятнистую болезнь *Agaricus*; желтую пятнистую болезнь вида *Pleurotus*, характеризующуюся желтыми каплями на поверхности плодовых тел.; и болезнь Диппи-жабр, которая проявляется в виде экссудата из продольных трещин в стебле, где бактерии колонизируют меж-и внутриклеточно. Существует много примеров бактериальных патогенов грибов, наблюдаемых в сельском хозяйстве, не в последнюю очередь из-за возможности использования их в качестве биоконтрольных агентов растительных патогенных грибов. *Lysobacter enzymogenes* патогенен для широкого спектра грибов, а также для нематод, бриофитов и других организмов. После прикрепления он заражает своих хозяев, колонизируя их внутриклеточно, размножается и впоследствии высвобождается. Ферменты, образующиеся в процессе патогенеза, включают хитиназы, - 1,3-глюканазы и протеазы, которые участвуют в деградации клеточной стенки. Он также использует антибиотики, включая термостабильный противогрибковый фактор, и использует систему секреции типа III (белковый придаток, используемый для секреции белков в организм хозяина) в патогенезе некоторых организмов. Наряду с литическими ферментами и антибиотиками, хорошо охарактеризованным механизмом вирулентности в процессе бактериального патогенеза грибов является T4 pilus (нитевидная проекция, способствующая прикреплению к хозяину). Коммуникация играет решающую роль в патогенезе, о чем свидетельствуют патогенные возможности *Pseudomonas aeruginosa* на *Candida albicans*. *Pseudomonas aeruginosa* продуцирует чувствительные к кворуму молекулы, которые препятствуют переходу *Candida albicans* из дрожжевой фазы в мицелиальную (стр. 167), но она патогенна только на мицелиальной стадии. В фазе дрожжей *Candida albicans* может продуцировать свою собственную молекулу, чувствительную к кворуму, - фарнезол, - которая саморегулирует превращение в мицелиальную фазу и предотвращает выработку

Pseudomonas aeruginosa своего сигнала, чувствительного к кворуму, хинолона и других факторов вирулентности. Бактериальный патоген человека, *Acinetobacter baumannii*, также ингибирует образование Мицелиальной фазы *Candida albicans*, что является важной особенностью патогенности *Candida albicans* для человека (стр. Очевидно, что производство литических ферментов и антибиотиков является важным патогенным механизмом, хотя они также используются во время преходящих, неспецифических взаимодействий, проводимых на расстоянии. Бактерии, как правило, продуцируют смеси антагонистических метаболитов, а не отдельные антибиотики, что предотвращает развитие резистентности у мишени. Некоторые грибы имеют защитные механизмы против некоторых антибиотиков и могут использовать различные механизмы совместно. К таким механизмам относится способность детоксикации и деградации антибиотиков. Транспорт мембранно-связанными эффлюксными насосами обеспечивает высвобождение токсичных соединений из клетки гриба (например, *Botrytis cinerea* использует эффлюксный насос *BcAtrV* для удаления противогрибкового соединения 2,4-диацетилфлорглюцинола (DAPG); *B. cinerea* использует дубильную кислоту в качестве медиатора деградации DAPG). Напротив, *Fusarium oxysporum* превращает DAPG в менее токсичное производное. Фузариозные виды также продуцируют фузаровую кислоту, которая ингибирует выработку дапг и других противогрибковых соединений бактериями, а также токсична для бактерий и эукариот. Однако ситуация становится еще более сложной, поскольку некоторые бактерии биоконтроля (например, *Pseudomonas fluorescens* WCS365) притягиваются к продуцирующему фузаровую кислоту *Fusarium oxysporum*, и поэтому колонизируют гриб конкуренция между бактериями и грибами за питательные ресурсы, в которых они оба нуждаются, является еще одним негативным взаимодействием. Они конкурируют не только за простые углеродные соединения, но и за продукты внеклеточного переваривания лигноцеллюлозы. Из-за отсутствия соответствующих внеклеточных ферментов бактерии не могут расщеплять сложные лигноцеллюлозные ресурсы, но многие грибы могут, высвобождая водорастворимые сахара и фенольные соединения, которые образуют углерод и источники энергии для гриба (стр. Интенсивная бактериальная конкуренция за продукты распада может лишить гриб этих растворимых ресурсов. Поэтому неудивительно, что бактерицидные эффекты широко развились у грибов, некоторые из которых уже упоминались. Грибы производят много антибактериальных соединений – не в последнюю очередь пенициллин, цефалоспорины и Гризеофульвин-которые шир в случае термоядерной конструкции никакой активности обнаружить не удалось. С другой стороны, Липа была выражена как синтез белка, но он был не активен из-за некорректной обработки выраженных белка (Conesa и соавт., 2000). А. встроенного ПО *scb2* Нигер, штамм, изолированный из сахарного тростника багасса, используя мексиканский “Майя” сырая нефть в качестве источника углерода, также была использована в качестве узла для гетерологичной экспрессии *P. chrysosporium* пероксидазы (MnP1) (Кортес-Эспиноса и соавт., 2011). Целью данной работы было создание штамма с повышенной эффективностью биodeградации фенантрена (Phe), распространенного полициклического ароматического углеводорода (ПАУ), который обнаруживается в качестве загрязнителя почв. Трансформированный штамм удалял 95% исходного Phe за 17 дней, в отличие от штамма дикого типа, который был менее эффективен (72%). Рекомбинантный белок обладал более низкой удельной активностью, чем нативный фермент Фанерохет, из-за того, что MnP1 продуцируется как нестабильный апопротеин у аспергиллов. Этот апопротеин требует гем-группы для своей стабилизации, однако количество гем-групп, продуцируемых микроорганизмом, ниже, чем продуцируемый апопротеин, что приводит к накоплению нестабильного MnP1 в культуральной среде и его протеолитической деградации. *A. nidulans* успешно используется для гетерологичной продукции универсальной пероксидазы MnPL2, происходящей из *Pleurotus eryngii*. Предыдущие попытки экспрессии в кишечной палочке приводили к образованию неактивного фермента. Рекомбинантный MnPL2 (rMnPL2) обладал той же молекулярной массой (MW) и удельной активностью, что и нативный фермент, а также сходными каталитическими свойствами с

Пероксидазами *P. chrysosporium*, MnP и LiP. производство rMnPL2 было оптимизировано в последующем исследовании путем изменения температуры во время культивирования биореактора (Ruiz-Duenas et al., 1999; Eibes et al., 2009). Самая высокая активность была получена при температуре 19°C среди испытанных температур (31, 28, 25, 19 и 16°C), что объясняется снижением активности протеазы в результате низкой температуры культивирования. Даже несмотря на то, что *A. nidulans* традиционно проводят при температуре 28-37°C, эта работа наглядно показала, что оптимальная температура индукции в ряде случаев существенно отличается от оптимальной температуры роста. Попытка использовать *A. niger* вместо *A. nidulans* привела к снижению экспрессии из-за более высоких уровней протеаз в рекомбинантных культурах *A. niger*. Оптимизация уровней экспрессии другой пероксидазы, *P. chrysosporium* MnP, продуцируемой в протеазодефицитном штамме *A. niger*, также была достигнута путем изменения pH экспрессионной среды. С этой целью pH-зависимый промотор *glaA* должен был быть заменен конститутивно экспрессируемым pH-независимым промотором *gpdA* (Punt et al., 2002). Штаммы гриба *Aspergillus* также были в значительной степени использованы для гетерологичной экспрессии грибковых *laccases*. Рекомбинантные ферменты имеют в целом те же биохимические свойства, что и нативные. Некоторые исключения возникают из-за дополнительного гликозилирования, которое, однако, по-видимому, не оказывает существенного влияния на активность фермента (Yaver et al., 1996). Лакказы *Myceliophthora thermophila* (rMtL), экспрессируемая в *A. oryzae*, достигали выхода экспрессии 11-19 мг / л при удельной активности 45 единиц окисления синингалдазина на миллиграмм. Сравнение свойств рекомбинантного фермента с нативным показало, что они имеют сходные МВт, изоэлектрическую точку (пи) и pH-оптимум. Четырнадцать процентов общей массы rMtL были получены из N-связанных углеводов, включая глюкозамин, галактозу, глюкозу и остатки маннозы. Экспрессируемая Лакказа *Aspergillus* обладала в три раза более высокой удельной активностью, чем нативный фермент, что объяснялось истощением меди II типа из нативных молекул лакказы при культивировании (Verka et al., 1997). *A. oryzae* был успешным гетерологичным хозяином для экспрессии лакказы *Lcc1* из *Coprinus cinereus*, зрелая форма которой требует трех стадий обработки, включая удаление сигнального пептида и расщепление двух пептидов на N- и C-концах белка (Yaver et al., 1999). Две Лакказы *Trametes versicolor* (*Lcc1* и *Lcc2*) были экспрессированы как в *Pichia pastoris*, так и в *A. niger*, под контролем их соответствующего промотора глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (Bohlin et al., 2006). Рекомбинантный *Lcc2* был ассоциирован с нативной *Lcca*-лакказой, с MWs 74 и 68 КДА соответственно, идентичным *pls* 3,5, сходным содержанием углеводов и сходной каталитической активностью. Выход, полученный с использованием экспрессионной системы *Aspergillus*, был значительно выше, чем у *P. pastoris*, однако последний был признан более удобным для скрининговых исследований из-за его более легкой манипуляции и скорости. Секреция *Lcc2* была эффективной с использованием нативного сигнала секреции, в отличие от того, что было сообщено, когда другая лакказа, *Lac1* из *P. cinnabarinus*, была экспрессирована в *A. niger*. В этом случае использование 24-аминокислотной препросеквенции вместо сигнального пептида лакказы привело к 80-кратному увеличению уровня экспрессии (Record et al., 2002). *A. niger* и *A. nidulans* были использованы в качестве гетерологичных хозяев *Lcs-1*, лакказы из лигнин-деградирующего гриба *Ceriporiopsis subvermispora*. *Lcs-1*, выраженный в *A. nidulans* давали ту же картину изоэлектрической фокусировки (ИЭФ), что и нативный фермент, демонстрируя различные изоформы, в отличие от *A. niger*-экспрессированного *Lcs-1*, который также имел более высокую молекулярную массу. Оба рекомбинантных фермента были активны, однако было ясно продемонстрировано, что различные посттрансляционные модификации происходят у видов *Aspergillus* (Larrondo et al., 2003). Пиранозодегидрогеназа (PDH) из *Agaricus meleagris* экспрессировалась у *A. nidulans* и *A. niger* (Pisanelli et al., 2010). ПЦИ присутствует в помете-разложение *Agaricaceae*, которые растут на лигноцеллюлоза богатой лесной подстилкой. *A. niger* был выбран в качестве признанного продуцента промышленных ферментов, однако выход активного PDH у *A. niger* был в 10 раз ниже,

чем у фермента, экспрессируемого у *A. nidulans*. Кроме того, наибольшая активность PDH была достигнута у штаммов, содержащих нативную сигнальную последовательность, а не сигнальную последовательность *glaA*, что указывает на то, что *Aspergillus* может распознавать и эффективно обрабатывать чужеродный одиночный пептид. Физические и кинетические свойства, а также степень гликозилирования нативного и рекомбинантного фермента были практически идентичны. Наконец, в *A. niger* были получены две целлобиозодегидрогеназы из *Coprinopsis cinerea* (CDHcc) и *Podospora anserina* (CDHpa). Сообщенный выход в культурах, дополненных коктейльными таблетками ингибитора протеазы, составил 109 мг/л для CDHcc и 20,5 мг / л для CDHpa (Turbe-Doan et al., 2013). Сообщалось также об успешной экспрессии CDH-флаводегидрогеназного модуля из *P. chrysosporium* в *E. coli* (Desriani and Ferri, 2010). Для повышения шансов на успешную продукцию рекомбинантного CDH, представляющего собой структурно сложный белок, авторы слили на N-конце обоих CDH частичную последовательность для *A. niger* GLA, а затем сайт KEX-2 непосредственно перед геном CDH. Метод слияния гетерологичного Гена с 3 концом высоко экспрессируемого гена, такого как *glaA* и *T. reesei* CBH1, был применен во многих случаях успешной экспрессии гетерологичного белка у *Aspergillus* (Gouka et al., 1997). Слитый пептид служит носителем, облегчая транслокацию и сворачивание продуцируемого белка в эндоплазматический ретикулум (Эр). Такая стратегия клонирования позволило перепроизводство ЦРБ для проведения биохимических экспериментов для определения характеристик. > Читайте полную главу ScienceDirect-это ведущее информационное решение Elsevier для исследователей. Copyright © 2018 Elsevier B. V. или ее лицензиары или авторы. ScienceDirect® является зарегистрированной торговой маркой Elsevier B. V. применяются правила и условия