

УДК 579.78

UDC 579.78

**НОВЫЙ ПРОДУЦЕНТ ИНГИБИТОРА
 α -ГЛЮКОЗИДАЗ И ЕГО ХАРАКТЕРИСТИКА****NEW α -GLUCOSIDASE INHIBITOR
PRODUCER AND ITS CHARACTERISTICS**

Колодязная Вера Анатольевна
к.б.н., доцент

Kolodyaznaya Vera Anatolievna
Cand.Biol.Sci., associate professor

Яковлева Елена Павловна
д.б.н., профессор

Yakovleva Elena Pavlovna
Dr.Sci.Biol., professor

Топкова Оксана Владимировна
к.б.н., доцент
ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская
государственная химико-фармацевтическая
академия», Санкт-Петербург, Россия

Topkova Oksana Vladimirovna
Cand.Biol.Sci., associate professor
Saint Petersburg state chemical-pharmaceutical
Academy, Saint Petersburg, Russia

Представлены данные по морфологической, культуральной, физиологической и биохимической характеристике продуцента ингибитора α -глюкозидаз, выделенного из почвенного образца селективным методом. Показано, что по совокупности перечисленных признаков культуру можно отнести к роду *Kitasatoa*. По 9-му изданию «Определителя бактерий» Берджи род *Kitasatoa* перенесен в группу «Стрептомицеты и близкие роды» и трансформирован в род *Streptomyces*. Таким образом, штамм 839 получил название *Streptomyces species*, ему присвоен номер 1328-D

The data of the morphological, cultural, physiological and biochemical characterization of α -glucosidase inhibitor producer, isolated from soil sample by selective method is presented in this work. It is shown that on the set of listed attributes the culture can be referred to *Kitasatoa* genus. The 9th edition of “Key to the bacteria,” Bergey, *Kitasatoa* genus moved to a group of “*Streptomyces* and related genera” and transformed into the *Streptomyces* genus. In this case, strain 839 was named *Streptomyces species*, it was given the number 1328-D

Ключевые слова: ПРОДУЦЕНТ ИНГИБИТОРА
 α -ГЛЮКОЗИДАЗ, АКТИНОМИЦЕТЫ,
СИСТЕМАТИКА, АКТИНОПЛАНЫ,
СЕЛЕКТИВНЫЕ МЕТОДЫ

Keywords: α -GLUCOSIDASE INHIBITOR
PRODUCER, ACTINOMYCETES, TAXONOMY,
ACTINOPLANES, SELECTIVE METHODIC

Введение

При лечении инсулиннезависимого диабета основная задача – это нормализация углеводного обмена. Нежелательные последствия потребления углеводов возможно ослабить или избежать путем ограничения их потребления или замедления усвоения углеводов пищи при помощи ингибитора α -глюкозидаз [1–3].

За рубежом эффективное антидиабетическое средство (торговое название «Глюкобай» или «Акарбоза») создано с использованием микроорганизма-продуцента ингибитора α -глюкозидаз, выделенного из редко встречающихся актиномицетов группы актиноплан.

Для создания отечественного лекарственного препарата на основе ингибитора α -глюкозидаз нами проведен поиск микроорганизма-

продуцента с использованием методов, селективных для выделения из почвенных образцов актиномицетов с подвижными спорами из группы актиноплан [4].

В результате проведенного скрининга отобран штамм 839, устойчивый к действию протеаз с уровнем ингибиторной активности, достаточной для разработки технологии отечественного антидиабетического препарата [1–3].

В настоящей работе представлены данные по характеристике морфологических, культуральных, физиологических и биохимических признаках выделенной культуры.

Методы исследования

Культуральные свойства штамма 839 изучали на агаризованных средах: Чапека с крахмалом, Чапека с глюкозой, минеральной Гаузе №1, органической с переваром Хоттингера №2, а также на овсяном, крахмало-аммиачном и глицерин-аспарагиновом агарах [4, 5].

Отмечали форму и консистенцию колоний, наличие воздушного и субстратного мицелия на различных средах.

Цвет воздушного субстрата мицелия колоний актиномицета на различных средах определяли по шкале цветов А.С. Бондарцева [6].

Физиологические признаки штамма 839 изучали с использованием общепринятых для актиномицетов методов и схем [5, 7].

Принадлежность выделенных актиномицетов к актинопланам оценивали на основании морфологических признаков, характерных для этой группы микроорганизмов, а именно – наличия спорангиев различной формы и подвижности зооспор.

Микроскопическое изучение культур проводили на агаризованной среде Чапека с крахмалом с помощью световых микроскопов «Биолам – Р-

15» и МБИ-15-2. Размеры спорангиев определяли под микроскопом с помощью окулярного микрометра [7].

Электронно-микроскопическое исследование спор проводили на электронном микроскопе Hitachi на сеточках с формваровой подложкой.

Подвижность зооспор изучали методом темнопольной микроскопии с использованием телеобъектива, конденсора ОИ-13, объектива 60, окуляра 10.

Подвижность зооспор у штамма 839 дополнительно подтверждали методом хемотаксиса [8]. 3 мл взвеси культуры помещали в чашку Петри. Затем в эту чашку под углом 45° устанавливали два капилляра ($l = 50$ мм, $d = 1$ мм) – контрольный и опытный. Контрольный капилляр содержал 0,02 мл фосфатного буфера ($pH = 7,0$), опытный – 0,02 мл раствора тестируемого аттрактанта в том же буфере. Через 10 минут инкубации содержимое капилляров разводили в 10 мл очищенной воды и высевали на чашки Петри со средой Чапека с крахмалом. Через 5–6 суток производили подсчет выросших колоний с опытного и контрольного капилляра. Хемотаксический ответ оценивали по коэффициенту аттракции, который рассчитывали по формуле:

$$K_{\text{аттракт.}} = \frac{N_o}{N_k},$$

где: N_o – количество зооспор в капилляре с аттрактантом; N_k – количество зооспор в капилляре без аттрактанта.

Принадлежность выделенных активных штаммов актиноплан к соответствующему роду определяли на основании данных состава клеточной стенки. Состав диагностических сахаров и форму изомера диаминопимелиновой кислоты (ДАПК) определяли в гидролизатах целых клеток.

Для проведения этих анализов получали биомассу культур. С этой целью колбы Эрленмейера объемом 750 мл, содержащие 100 мл жидкой

органической среды № 2, заседали агаровым блоком с культурой и инкубировали на качалке ($n = 220 \text{ мин}^{-1}$) при $27 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 10 суток. Мицелий отфильтровывали и на фильтре промывали очищенной водой и затем спиртом. Осадок сушили при $35 \pm 2^\circ\text{C}$ в течение 1–2 суток, сухую биомассу хранили до использования в холодильнике при температуре $4 \pm 1^\circ\text{C}$.

Определение диагностических сахаров методом бумажной хроматографии [9,10]. 50 мг сухих клеток помещали в ампулу, добавляли 1,0 мл 0,5 М H_2SO_4 , ампулу запаивали и гидролизовали 1 час в кипящей водяной бане. Кислый гидролизат нейтрализовали насыщенным раствором $\text{Ba}(\text{OH})_2$ и доводили рН раствора до 5,0–5,5, центрифугировали, добавляли к центрифугату 5 мл хлороформа и сушили при $35\text{--}40^\circ\text{C}$. Сухой остаток растворяли в 0,4 мл 50–80 % этанола [11].

На хроматографическую бумагу наносили 50 мкл раствора гидролизата и по 20 мкл смеси стандартных растворов сахаров. Нисходящую хроматографию проводили в системе растворителей: бензол-бутанол-пиридин-вода (10:50:30:30). Время разделения сахаров 16 часов.

После высушивания хроматограммы проявляли кислым анилин-фталатом, нагревали при $100\text{--}130^\circ\text{C}$ в течение 2–5 минут для фиксирования пятен сахаров. Пятна гексоз на хроматограмме имели бурую окраску, пентоз – красную.

Для приготовления смеси сахаров по 10 мг каждого сахара растворяли в 5,0 мл очищенной воды. Для приготовления системы растворителей компоненты в указанном соотношении смешивали в делительной воронке и отстаивали 17–18 часов дважды. Для хроматографии использовали верхний слой. Проявитель готовили перед употреблением в соответствии с методикой.

Определение формы изомера диаминопимелиновой кислоты (ДАПК) методом бумажной хроматографии [12]. К 10 мг измельченной в ступке

сухой биомассы добавляли 10 мл 6,0 М HCl и гидролизовали в запаянных ампулах в сушильном шкафу при 100⁰С в течение 18 часов. Гидролизат фильтровали через мелкопористый бумажный фильтр в фарфоровую чашку, фильтр с осадком промывали 3–5 каплями очищенной воды. Фильтрат упаривали на водяной бане досуха, добавляли 5 капель очищенной воды и упаривали досуха. Процедуру повторяли 3 раза до полного удаления кислоты.

Сухой гидролизат растворяли в 0,3 мл очищенной воды, 30 мкл наносили на хроматографическую бумагу и сушили горячим воздухом. Нисходящую хроматографию проводили в системе растворителей: метанол-вода-10МНСl-пиридин (80:17,5:2,5:10). Время разделения аминокислот 14 часов.

После высушивания хроматограмму проявляли 0,1 %-м раствором нингидрина в ацетоне, прогревали в течение 2 минут в сушильном шкафу при температуре 100⁰С и фиксировали оливково-зеленые пятна ДАПК. Другие аминокислоты более подвижны и образуют пурпурные и фиолетовые пятна. В качестве контроля использовали гидролизаты клеток типовых культур рода *Streptomyces* (*S. griseus*) и рода *Actynoplanes* (*A. philippiensis*).

Результаты и обсуждения

Культуральные признаки штамма 839

Среда Чапека с крахмалом. Рост обильный. Воздушный мицелий серый (в4), субстратный – пепельный (к2). Колонии бугристые (d=8-10 мм), края волнистые. Растворимый пигмент отсутствует. Образует обильные спорангии (d = 10–15 мкм).

Среда Чапека с глюкозой. Рост обильный. Воздушный мицелий серый (в4), субстратный бледно-серый (и7). Колонии бугристые с приподнятым центром (d = 8–10 мм), края ровные. Растворимый пигмент отсутствует. Образует конидеоспоры.

Среда минеральная Гаузе № 1. Рост обильный. Воздушный мицелий черноватый (а2), субстратный – бледно-серый (и7). Колонии крупные с приподнятым центром ($d = 10\text{--}13$ мм), края ровные. Растворимый пигмент отсутствует. Образует редкие спорангии ($d = 5\text{--}8$ мкм).

Среда органическая №2. Рост хороший, кожистый. Воздушный мицелий отсутствует, субстратный – темно-песочный (зб). Колонии мелкие, морщинистые, центр слабо приподнят ($d = 3\text{--}5$ мм), края ровные. Растворимый пигмент отсутствует. Образует конидеоспоры.

Овсяный агар. Рост обильный. Воздушный мицелий серый (в4), субстратный – палевый (о4), колонии крупные со слабо приподнятым центром ($d = 10\text{--}14$ мм), края ровные. Растворимый пигмент отсутствует. Образует редкие спорангии ($d = 5\text{--}7$ мкм).

Среда крахмало-аммиачная. Рост обильный. Воздушный мицелий темно-серый (а2), субстратный – палевый (о4). Колонии крупные со слегка приподнятым центром ($d = 13\text{--}15$ мм), края ровные. Растворимый пигмент отсутствует. Образует конидеоспоры.

Глицерин-аспарагиновый агар. Рост слабый. Воздушный мицелий отсутствует, субстратный – соломенно-желтый (л2). Колонии морщинистые с кратерообразным центром ($d = 9\text{--}12$ мм), края ровные. Растворимый пигмент отсутствует. Образует конидеоспоры.

Физиологические признаки штамма 839.

Штамм 839 хорошо разжижает желатину, пептонизирует молоко, восстанавливает нитраты, не растет на клетчатке, слабо инвертирует сахарозу, образует меланоидные пигменты.

На среде Придхэма-Готтлиба хорошо растет, если в качестве единственного источника углерода используют – глюкозу, фруктозу, мальтозу, рамнозу, манит, ксилозу, сахарозу, умеренный рост культуры наблюдали при внесении в эту среду арабинозы и сорбита.

Морфологические признаки штамма 839

Штамм 839 на одних агаризованных средах (Чапека с глюкозой, органической №2, крахмало-аммиачной, глицерин-аспарагиновой) образует обычного типа спиральные спороносцы, на других (Чапека с крахмалом, минеральной Гаузе №1, овсяной) – спорангии (рис.1).

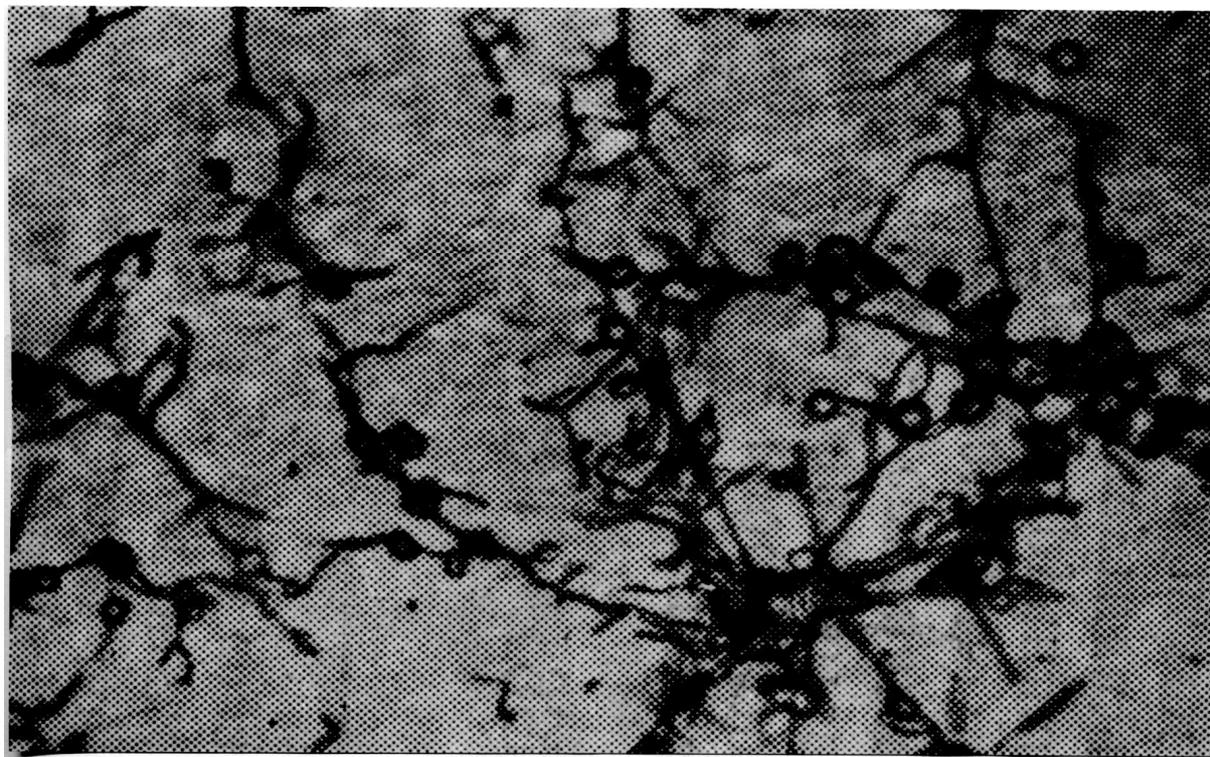


Рисунок 1 – Спорангии на нитях мицелия культуры *Streptomyces sp.* шт. 839. Увеличение $\times 90$

Форма спорангиев чаще всего шарообразная и овальная, на 10 сутки роста достигая размера 10–20 мкм (рис. 2). На 20–25 сутки роста культуры спорангии созревают, оболочка лопается, и споры выходят наружу (рис. 3). Зооспоры овальные с гладкой оболочкой. Электронно-микроскопические исследования показало наличие у зооспор одного полярно расположенного жгутика ($l = 1,5–2,0$ мкм) (рис. 4), зооспоры внутри спорангия расположены спирально (рис. 5).

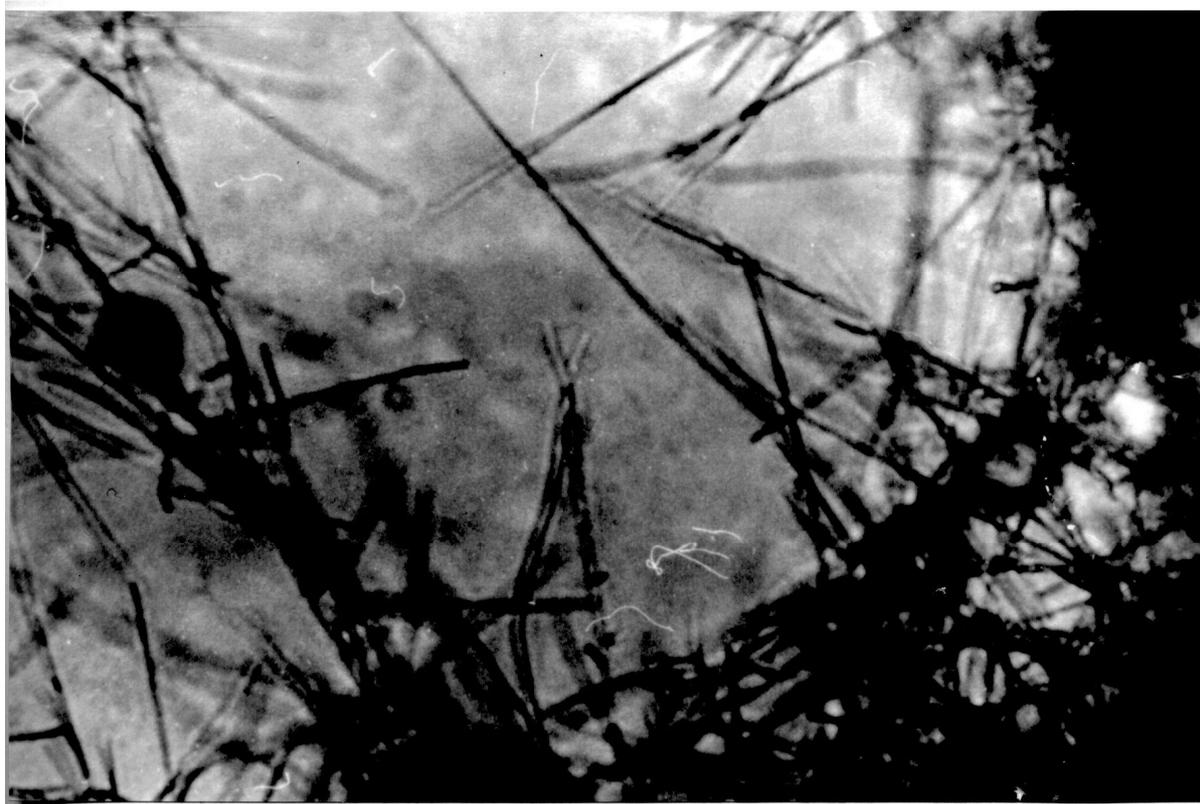


Рисунок 2 – Обильное развитие спорангиев культуры *Streptomyces sp.* шт. 839. Увеличение $\times 90$



Рисунок 3 – Созревший спорангий, из которого высыпались споры. Увеличение $\times 1400$

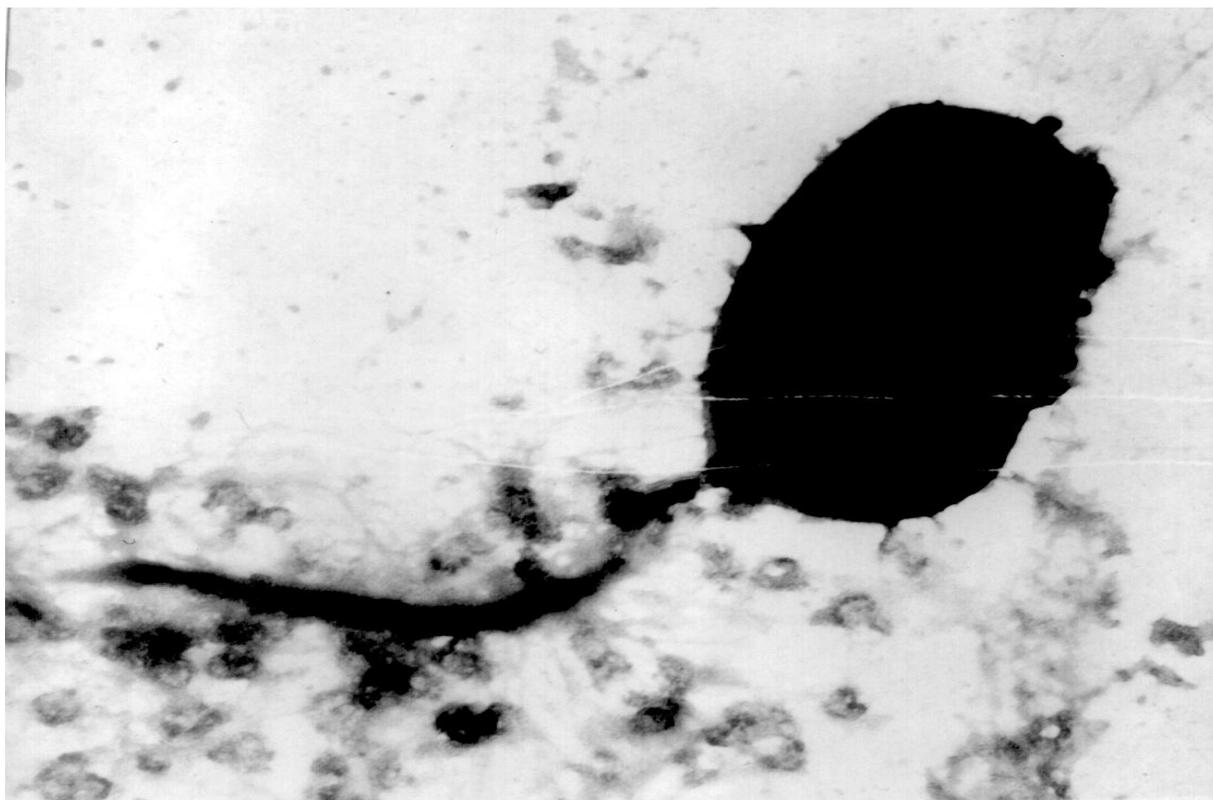


Рисунок 4 – Зооспора со жгутиком культуры *Streptomyces sp.* шт. 839.
Увеличение $\times 1400$

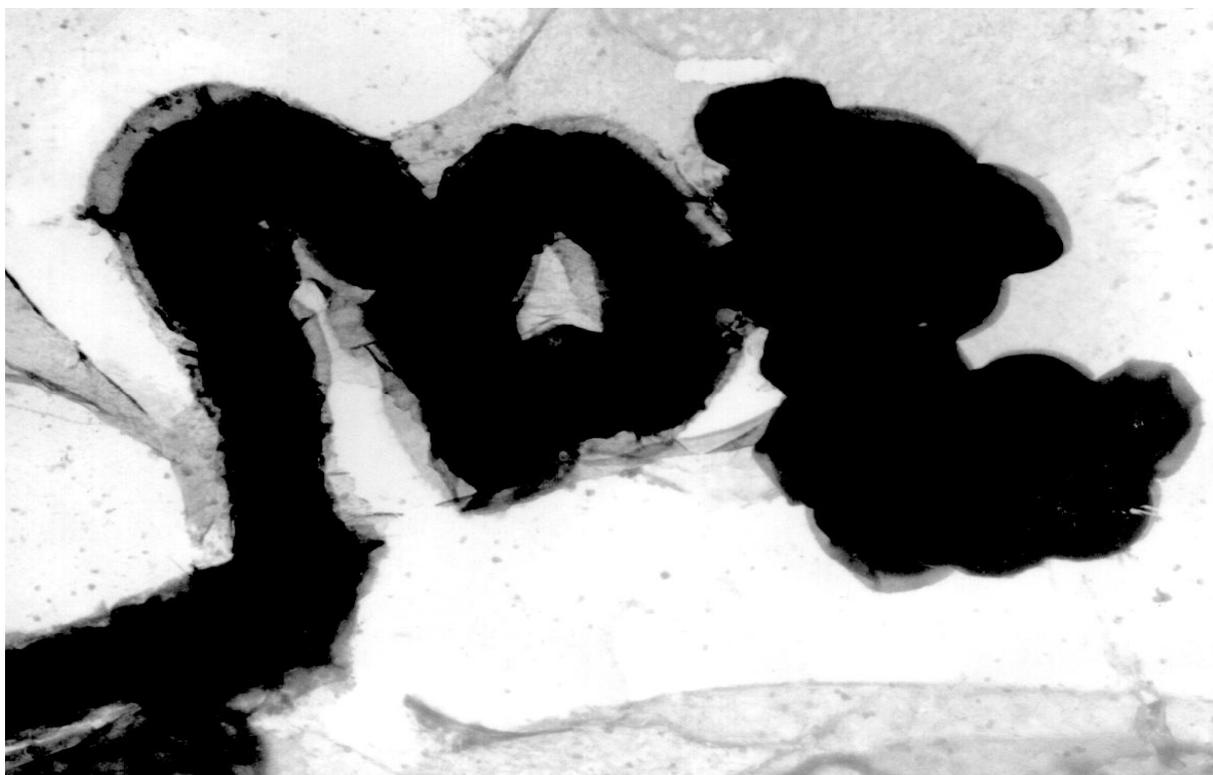


Рисунок 5 – Спиральная укладка зооспор в спорангии культуры
Streptomyces sp. шт. 839. Увеличение $\times 1400$

Ряд зарубежных исследователей выражают сомнение относительно подвижности зооспор у культур, которые имеют разные органы спороношения на различных по составу агаризованных средах [13–15].

Проведены исследования подвижности зооспор штамма 839 методом хемотаксиса. Для оценки хемотаксического ответа зооспор использовали метод Адлера [4]. В качестве аттрактантов использовали различные химические вещества.

В таблице 1 приведен индекс аттракции зооспор шт. 839 в отношении изученных химических веществ.

Таблица 1 – Индекс аттракции зооспор шт. 839 в отношении различных химических веществ

Аттрактант	Индекс	Аттрактант	Индекс
KCl	3,6	Манноза	15,7
KNO ₃	4,5	Мальтоза	22,1
Аргинин	10,0	Сахароза	15,5
Глутаминовая кислота	9,2	Глюкоза	11,6

Как видно из представленных данных, большинство изученных соединений оказывало сильный эффект и увеличивало содержание зооспор в капилляре в 3–20 раз, по сравнению с контролем. Эти данные дополнительно подтверждают подвижность зооспор у выделенного штамма 839.

Культуры актиномицетов, образующие подвижные споры в спорангиях, ранее относили к семейству *Actinoplanaceae* [16, 17], по новому определителю Берджи – к группе актиноплан [18].

Штамм 839, выделенный селективным методом «приманки на природные субстраты», на основании морфолого-культуральных признаков, а именно – наличия обильного хорошо развитого воздушного мицелия, образования подвижных зооспор в спорангиях может быть отнесен к группе актиноплан.

В настоящее время систематика микроорганизмов, основанная на фенотипическом сходстве, уступила место естественной систематике, в основу которой положено филогенетическое родство микроорганизма. Объективными критериями, позволяющими судить о степени родства микроорганизма, являются такие биохимические характеристики, как хемотип клеточной стенки, состав дифференцирующих сахаров. содержание ГЦ пар оснований в ДНК, степень гомологии ДНК и 16S РНК [17]. Качественный состав дифференцирующих сахаров и форма диаминопимелиновой кислоты (ДАПК) клеточной стенки микроорганизмов являются стабильными признаками, не зависящими от состава питательной среды и условий культивирования [19].

Биохимические признаки штамма 839

Установлено, что моносахариды гидролизатов клеточной стенки штамма 839 представлены маннозой, ксилозой, рибозой и рамнозой, а также двумя не идентифицированными сахарами (табл. 2).

Как видно из представленных данных, арабиноза и ксилоза – сахара, характерные для актиномицетов из группы актиноплан, у штамма 839 отсутствуют [10, 19, 20] и, следовательно, по этому признаку выделенный нами штамм не может быть отнесен к группе актиноплан.

Поскольку присутствие диаминопимелиновой кислоты в составе клеточной стенки является стабильным и дополнительным признаком для характеристики актиномицетов, нами изучено наличие этой кислоты у штамма 839 в сравнении с типовыми культурами из рода стрептомицетов (*S. griseus*) и рода актиноплан (*A. Philippiensis*).

Таблица 2 – Значения R_f диагностических сахаров клеточной стенки штамма 839

Диагностические сахара	R_f	
	Свидетели	Сахара гидролизатов клеток
Ксилоза	$0,340 \pm 0,001$	-
Арабиноза	$0,460 \pm 0,001$	-
Манноза	$0,470 \pm 0,005$	$0,460 \pm 0,009$
Галактоза	$0,540 \pm 0,002$	$0,550 \pm 0,008$
Рибоза	$0,610 \pm 0,002$	$0,600 \pm 0,007$
Рамноза	$0,6900 \pm 0,0005$	$0,690 \pm 0,001$
Не идентифицированные сахара	-	$0,120 \pm 0,008$ $0,220 \pm 0,004$

Методом бумажной хроматографии в гидролизатах клеточной стенки шт. 839 выявлено наличие диаминопимелиновой кислоты в LL-форме (LL-ДАПК). Значения R_f диаминопимелиновых кислот в составе клеточных стенок шт. 839 в сравнении с контрольными культурами из группы стрептомицетов (*S. griseus*) и актиноплан (*Actinoplanes philippiensis*) представлены в таблице 3. Как видно из представленных данных, в клеточной стенке штамма 839 диаминопимелиновая кислота присутствует в LL-форме, как у типовой культуры *S. griseus*.

Таблица 3 – Значения R_f диаминопимелиновой кислоты, входящей в состав клеточной стенки шт. 839 и контрольных культур

Микроорганизм	R_f	Тип изомера
Штамм 839	$0,310 \pm 0,012$	LL-
<i>Actinoplanes philippiensis</i>	$0,230 \pm 0,002$	Мезо-
<i>Streptomyces griseus</i>	$0,300 \pm 0,005$	LL-

Таким образом, по биохимическим характеристикам, а именно по составу компонентов клеточной стенки (составу диагностических сахаров и форме диаминопимелиновой кислоты) согласно классификации Лешевалье штамм 839 отнесен к I хемотипу [10].

Суммируя данные морфологических признаков – наличие одновременно конидеоспор и спорангиев, подвижных зооспор, а также

хемотаксономической характеристики культуры, а именно – принадлежность по составу клеточной стенки к I хемотипу, штамм 839, выделенный из почвенного образца как продуцент ингибитора α -глюкозидаз, может быть отнесен к роду *Kitasatoa*, ранее, согласно определителю Берджи, входящему в семейство *Actinoplanaceae* [17].

Согласно последнему 9-му определителю бактерий Берджи, род *Kitasatoa* перенесен из семейства *Actinoplanaceae* в группу «Стрептомицеты и близкие роды» и трансформирован в род *Streptomyces* [18].

Следует только отметить, что антидиабетическое средство, используемое в настоящее время в медицинской практике акарбоза (глюкобай) является продуктом жизнедеятельности актиномицета из группы актиноплан рода *Actinoplanes*. Видовая его принадлежность не установлена. Культуры этого рода образуют спорангии с подвижными спорами, клеточная стенка содержит мезо-ДАПК, и в гидролизатах целых клеток присутствуют ксилоза и арабиноза [18]. По набору этих признаков продуцент Акарбозы *Actinoplanes* шт. SE 50/110 относится к IV хемотипу.

Таким образом, на основании морфолого-культуральных и биохимических признаков штамма 839, выделенный из почвенного образца как продуцент ингибитора α -глюкозидаз, значительно отличается от продуцента Акарбозы и является новым продуцентом.

Штамм 839 получил название *Streptomyces species*, ему присвоен коллекционный номер 1328-Д, все дальнейшие исследования по разработке отечественного антидиабетического средства проводили с этой культурой.

Список литературы

1. Kolodjaznaja V.A., Jakovleva E.P. Stabilization of α -Glucosidase Inhibitor (An Antidiabetic Drug Gipoglugine) Producer Inoculum // Biotechnology and Industry. – NY, Nova Science Publishers. – 2004. – P. 31–37.
2. Колодязная В.А. Естественная изменчивость культуры *Streptomyces sp.* – продуцента противодиабетического средства гипоглюкина // Тезисы докл. науч.-метод. конф.

- «Состояние и перспективы подготовки специалистов для фармацевтической отрасли», Санкт-Петербург, 2004. – С. 121–122.
3. Использование различных видов крахмала в составе питательных сред при получении противодиабетического препарата гипоглюкина / В.А. Колодязная, Н.В. Козловская, О.В. Топкова и др. // Тезисы докл. науч. конф. «Подготовка кадров для фармацевтической отрасли», Санкт-Петербург, 2005. – С. 88–91.
 4. Определитель актиномицетов / Г.Ф. Гаузе, Т.П. Преображенская, М.А. Свешникова и др. – М.: Наука, 1983. – 248 с.
 5. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. – М.: МГУ, 1980. – 278 с.
 6. Бондарцев А.С. Шкала цветов. – М. – Л., 1954. – 34 с.
 7. Практикум по микробиологии: Уч. пособие // Под ред. И.С. Егорова. – М.: Изд. МГУ, 1976. – 307 с.
 8. Глаголев А.Н. Таксис у бактерий // Успехи микробиологии. – 1983, Т.18. – С. 163-192
 9. Lechevalier M.P. Identification of aerobic actinomycetes of clinical importance // J. Lab. Clin. Med. – 1968. – Vol. 71. – P. 934-944.
 10. Lechevalier M.P., Lechevalier N. A. Composition of whole-cell hydrolysates a criterion in the classification of aerobic actinomycetes // The Actinomyces Jena International Symposium on Taxonomy. – 1968. – P. 311–318.
 11. Захарова И.Я., Косенко Л.В. Методы изучения микробных полисахаридов. – Киев: Наукова думка, 1982. – С. 62.
 12. Vester B., Lechevalier M.P., Lechevalier N. A. Chemical composition of cell-wall preparations from strains of various formgenera of aerobic actinomycetes // Appl. Microbiol. – 1965. – Vol. 13, №2. – P. 236–243.
 13. Arora D.K. Mobility and chemo taxis in Actinoplanes // Gurr. Sci (India). – 1987. – Vol.56, №3. – P. 120–126.
 14. Jonston D.W., Cross T. // Fresh. Biol. – 1976. – Vol. 6. – P. 457–464.
 15. Williams J., Radding C. Partial purification and properties of an exonuclease inhibitors induced by bacteriophage. //J. Virol. – 1981. – Vol. 39, № 2. – P. 548–558.
 16. Pallerony N.J. Chamber for bacterial chemotaxis experiments. // Arch. Microbiol. – 1980. – Vol. 128, № 1. – P. 53–59.
 17. Красильников Н.А. Лучистые грибки. - М.: Наука, 1970. – 235 с.
 18. Определитель бактерий Берджи. В 2-х т./ Дж. Хоулт [и др.] – М.: Мир, 1997. – 800 с.
 19. Краткий определитель бактерий Берги./ Под ред. Дж. Хоулта. – М.: Мир, 1980. – 318 с.
 20. Нестеренко О.А. Нокардиоподобные и коринеподобные бактерии / О.А. Нестеренко, Е.И. Квасников, Т.М. Ногина – Киев: Наукова думка, 1985. – 335 с.

References

1. Kolodjaznaja V.A., Jakovleva E.P. Stabilization of α -Glucosidase Inhibitor (An Antidiabetic Drug Gipoglugine) Producer Inoculum // Biotechnology and Industry. – NY, Nova Science Publishers. – 2004. – P.31-37.
2. Kolodjaznaja V.A. Estestvennaja izmenchivost' kul'tury *Streptomyces sp.* – producenta protivodiabeticheskogo sredstva gipoglukina // Tezisy dokl. nauch.-metod. konf. «Sostojanie I perspektivy podgotovki specialistov dlja farmacevticheskoy otrasli», S.-Peterburg, 2004. – S. 121–122.
3. Ispol'zovanie razlichnyh vidov krahmala v sostave pitatel'nyh sred pri poluchenii protivodiabeticheskogo preparata gipoglukina / V.A. Kolodjaznaja, N.V. Kozlovskaja, O.V. Topkova I dr. // Tezisy dokl. nauch. konf. «Podgotovka kadrov dlja farmacevticheskoy otrasli», S.-Peterburg, 2005. – S. 88–91.

4. Opredelitel' aktinomicetov / G.F. Gauze, T.P. Preobrazhenskaja, M.V. Sveshnikova I dr. – M.: Nauka, 1983. – 248 s.
5. Egorov N.S. Osnovy uchenija ob antibiotikah. – M. : MGU, 1980. – 278 s.
6. Bondarcev A.S. Shkala cvetov. – M.-L., 1954. – 34 s.
7. Praktikum po mikrobiologii : Uch. posobie // Pod. red. I.S. Egorova. – M. : Izd. MGU, 1976. – 307 s.
8. Glagolev A.N. Taksis u bakterij // Uspehi mikrobiologii. – 1983. – T. 18. – S. 163-192.
9. Lechevalier M.P. Jgentification of aerobic actinomycetes of clinical importans // J. Lab. Clin. Med. – 1968. – Vol. 71. – P. 934-944.
10. Lechevalier M.P., Lechevalier N. A. Composition of whole-cell hydrolyisates a criterion in the classification of aerobic actinomycetes // The Actinomyces Jena International Symposium on Taxonomy. – 1968. – P. 311-318.
11. Zaharova I.Ja., Kosenko L.V. Metody izuchenija mikrobyh polisaharidov. – Kiev. : Naukova dumka. – 1982. – S.62.
12. Becter B., Lechevalier M.P., Lechevalier N. A. Chemical composition of cell-wall preparations from strains of various formgenera of aerobic actinomycetes // Appl. Microbiol. – 1965. - Vol. 13, №2. – P. 236-243.
13. Arora D.K. Mobility and chemo taxis in Actinoplanes // Gurr. Sci (India). – 1987. – Vol.56, №3. – P.120-126
14. Jonston D.W., Cross T. // Fresh. Biol. – 1976. – Vol. 6. – P. 457-464.
15. Williams J., Radding C. Partial purification and properties of an exonuclease inhibitors induced by bacteriophage. //J. Virol. – 1981. – Vol. 39, № 2. – P. 548-558.
16. Pallerony N.J. Chamber for bacterial chemotaxis experiments. // Arch. Microbiol. – 1980. – Vol. 128, № 1. – P. 53–59.
17. Krasil'nikov N.A. Luchistye gribki. – M.: Nauka, 1970. – 235 s.
18. Opredelitel' bakterij Berdzhi. V 2-h t. / Dzh. Hoult [I dr.]. – M.: Mir, 1997. – 800 s.
19. Kratkij opredelitel' bakterij Bergi / Pod. red. Dzh. Hoult. – M.: Mir, 1980. – 318 s.
20. Nesterenko O.A. Nokardiopodobnye I korinepodobnye bakterii / O.A. Nesterenko, E.I. Kvasnikov, T.M. Nogina. – Kiev : Naukova dumka, 1985. – 335 s.