

Т.П. Пирог¹, Ю.В. Корж², Н.В. Висятецька²

¹ Національний університет харчових технологій,
вул. Володимирська, 68, Київ, 01033, Україна

² Інститут мікробіології і вірусології НАН України,
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ МСП, Д03680, Україна

ОСОБЛИВОСТІ МЕТАБОЛІЗМУ ACINETOBACTER sp. IMB B-7005 ПІД ЧАС ВИРОЩУВАННЯ НА СУМІШІ C₂—C₆-СУБСТРАТІВ

Встановлено, що в умовах міксотрофного росту Acinetobacter sp. B-7005 на суміші ацетату натрію і глюкози активність ацетил-КоА-синтетази і фосфоенолпіруватсинтетази були у 10 разів, а показники синтезу мікробного екзополіцукриду етаполану майже у 2 рази нижчими, ніж на суміші ацетату калію і глюкози. Припускається, що позитивна роль катіонів натрію може полягати у їх участі в активному транспорті ацетату в клітині Acinetobacter sp. B-7005. Підвищення синтезу етаполану в разі вирощування продуцента на суміші енергетично дефіцитних (ацетат + глюкоза) і енергетично нерівноцінних (етанол + глюкоза) субстратів зумовлено посиленням глікоконезу, що засвідчили функціонування двох анаплеротичних шляхів (гліоксилатного циклу і піруваткарбоксилазної реакції), а також підвищення активності фосфоенолпіруватсинтетази порівняно з культивуванням бактерій на відповідних моносубстратах.

Ключові слова: екзополіцукриди, міксотрофний ріст, суміш субстратів, глікоконез, активність ферментів, центральний метаболізм.

Раніше ми показали можливість підвищення синтезу екзополіцукриду (ЕПЦ) етаполану в процесі культивування *Acinetobacter sp. B-7005* на суміші енергетично нерівноцінних (етанол + глюкоза) і енергетично дефіцитних (ацетат + глюкоза) ростових субстратів [6, 7, 13], встановлено можливість заміни глюкози у змішаному субстраті на дешевший субстрат мелясу [11], розроблено підходи до усунення лімітування C₂-метаболізму в умовах міксотрофного росту продуцента на суміші C₂—C₆-субстратів [12], встановлено умови культивування *Acinetobacter sp. B-7005*, що забезпечують максимально повну конверсію вуглецю обох субстратів у ЕПЦ. Ці дослідження дали змогу реалізувати без зниження показників синтезу етаполану на незабуференому середовищі, в якому вміст солей було знижено у 2—3 рази. У процесі вирощування продуцента на змішаних субстратах кількість синтезованого етаполану, його вихід відносно біомаси і субстрату були майже у 2 рази вищими порівняно з культивуванням на відповідних моносубстратах. У попередніх дослідженнях [10] проаналізовано активність ключових ферментів C₂—C₆-метаболізму під час культивування *Acinetobacter sp. B-7005* на суміші етанолу і глюкози, проте умови міксотрофного росту бактерій, в яких спостерігається найвищий синтез етаполану, на той час ще не були встановлені.

Мета цієї роботи — порівняльне дослідження особливостей центрально-го метаболізму в разі вирощування *Acinetobacter* sp. В-7005 в умовах, що забезпечують максимальний синтез етаполану на суміші C_2 -сполук (ацетат, етанол) і глюкози та встановлення механізмів, які підвищують синтез ЕПЦ порівняно з відповідними моносубстратами.

Матеріали і методи. *Об'єкти досліджень.* Як об'єкт досліджень використовували ЕПЦ-синтезувальний штам бактерій *Acinetobacter* sp. 12S [1], депонований в Депозитарії мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України під номером В-7005.

Культивування бактерій здійснювали в колбах на качалці (220 об/хв) при 30 °С, рН 6,8—7,0 упродовж 16—96 год на рідких мінеральних середовищах такого складу, г/л: середовище 1: KH_2PO_4 — 3,4; KOH — 0,9; NH_4NO_3 — 0,3; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,4; $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ — 0,1; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,001; середовище 2: аналогічне середовищу 1, в якому NH_4NO_3 замінено на еквімолярну за азотом концентрацію NH_4Cl . У середовища додатково вносили 0,5 % (за об'ємом) дріжджового автолізату і 0,0006 % пантотенату кальцію.

Як джерело вуглецю та енергії використовували етанол концентрацією 0,75 % (об. частка), ацетат натрію — 1,1 % (мас. частка), глюкозу — 0,75 % (мас. частка), суміш етанолу і глюкози у співвідношенні 1 : 1 (0,75 % : 0,75 %), а також суміш ацетату натрію (1,1 %) і глюкози (0,75 %), ацетату калію (1,3 %) і глюкози (0,75 %). Концентрації ацетату натрію і ацетату калію були еквімолярні за вуглецем концентрації етанолу. Як посівний матеріал використовували культуру з експоненційної фази росту (18—24 год), вирощену на середовищі 1 або 2, що містило як джерело вуглецю і енергії глюкозу (0,5 %), ацетат натрію (0,7 %) або ацетат калію (0,8 %).

Концентрацію біомаси (АСБ) і ефективність трансформації вуглецю субстратів у ЕПЦ (кількість синтезованих ЕПЦ, вихід ЕПЦ від субстрату, ЕПЦ-синтезувальна здатність) визначали, як описано у працях [4, 6, 11, 12].

Ензиматичні аналізи. Отримання безклітинних екстрактів здійснювали, як описано раніше [10]. Активність ацетил-КоА-синтетази (6.2.1.1), ацетаткінази (2.7.2.1), ізоцитратліази (4.1.3.1), малатсинтази (4.1.3.2), ізоцитратдегідрогенази (1.1.1.42), 2-оксоглутаратдегідрогенази (1.2.4.2), піруватдегідрогенази (1.2.2.2), піруваткарбоксилази (6.4.1.1), фосфоенолпіруватсинтетази (ФЕП-синтетази) (2.7.9.2) визначали, як описано у працях [9, 10].

Статистичну обробку експериментальних даних проводили за Г.Ф. Лакіним [3]. Достовірність результатів досліджень оцінювали згідно з *t*-критерієм Стьюдента при 5%-му рівні значущості.

Результати та їх обговорення. У попередніх дослідженнях [13] ми показали, що у процесі вирощування продуцента етаполану на суміші ацетату натрію і глюкози показники синтезу ЕПЦ були у 1,5—2,0 рази вищими, ніж під час культивування бактерій на відповідних моносубстратах. При цьому концентрація катіонів натрію, яку вносили у середовище у вигляді CH_3COONa , становила 134 мМ. Раніше [5, 8] було встановлено, що у процесі культивування *Acinetobacter* sp. В-7005 на середовищі з етанолом катіони натрію є інгібіторами активності ацетил-КоА-синтетази — фермента, за участю якого ацетат залучається до метаболізму. Так, за наявності 100 мМ Na^+ активність цього ферменту знижувалась у 2 рази [8]. У зв'язку з цим з метою запобігання накопичення ацетату в культуральній рідині і підвищення синтезу ЕПЦ під час вирощування продуцента етаполану на етанолі з середовища були

виключені катіони натрію [5, 8]. Оскільки активаторами ацетил-КоА-синтетази є катіони калію [8], ми припустили, що під час вирощування *Acinetobacter* sp. В-7005 на суміші ацетату калію і глюкози показники синтезу етаполану будуть вищими, ніж за наявності у змішаному субстраті ацетату натрію. Однак проведені дослідження показали, що заміна ацетату натрію на еквімолярну за вуглецем концентрацію ацетату калію супроводжувалась зниженням кількості синтезованих ЕПЦ, ЕПЦ-синтезувальної здатності і виходу ЕПЦ від субстрату в 1,6—1,8 разів (табл. 1). Варто зазначити, що таку закономірність спостерігали незалежно від способу підготовки посівного матеріалу. За умови використання інокуляту, вирощеного на ацетаті (порівняно із посівним матеріалом, вирощеним на глюкозі), незначно підвищилися усі показники синтезу ЕПЦ як на суміші ацетату натрію і глюкози, так і ацетату калію й глюкози (табл. 1).

Для пояснення таких несподіваних результатів аналізували активність ферментів метаболізму ацетату (ацетил-КоА-синтетази та ацетаткінази) і ключового ферменту глюконеогенезу (ФЕП-синтетази) під час культивування продуцента етаполану на середовищі з глюкозою й ацетатом натрію і калію. Попередні дослідження [5] показали наявність у клітинах *Acinetobacter* sp. В-7005, вирощених на етанолі, крім ацетил-КоА-синтетази й ацетаткінази, проте ацетаткіназна активність була невисокою (10—15 нмоль / (хв · мг білка)) і не могла мати істотного значення для метаболізму ацетату під час культивування бактерій на етанолі. Однак цілком імовірно, що у процесі росту продуцента етаполану на ацетаті саме ацетаткіназа може забезпечувати катаболізм цього субстрату. Результати ензимологічних досліджень наведено у табл. 2.

Таблиця 1

Синтез етаполану на суміші ацетату і глюкози

Джерело вуглецю у середовищі культивування, %	Джерело вуглецю під час отримання інокуляту, %	Показник процесу		
		ЕПЦ, г/л	ЕПЦ-синтезувальна здатність, г ЕПЦ / г АСБ	Вихід ЕПЦ від заданого субстрату, %
Ацетат калію, 1,3 + + глюкоза, 0,75	Глюкоза, 0,5	5,35	8,90	35,0
	Ацетат калію, 0,8	5,50	9,20	36,0
Ацетат натрію, 1,1 + + глюкоза, 0,75	Глюкоза, 0,5	9,00	14,5	59,6
	Ацетат натрію, 0,7	9,50	15,8	63,0

Примітка. Тут і в табл. 2: посівний матеріал отримували і культивування здійснювали на середовищі 2.

Таблиця 2

Активність ацетил-КоА-синтетази і ФЕП-синтетази під час росту *Acinetobacter* sp. В-7005 на суміші ацетату і глюкози

Джерело вуглецю у середовищі культивування, %	Джерело вуглецю під час отримання інокуляту, %	Активність, нмоль / (хв · мг білка)		
		ацетаткінази	ацетил-КоА-синтетази	ФЕП-синтетази
Ацетат калію, 1,3 + + глюкоза, 0,75	Глюкоза, 0,5	18,7	35,7	134,0
	Ацетат калію, 0,8	19,4	45,8	435,6
	Етанол, 0,5	17,3	37,2	179,9
Ацетат натрію, 1,1 + + глюкоза, 0,75	Глюкоза, 0,5	17,9	424,0	1614,0
	Ацетат натрію, 0,7	18,1	735,8	3977,0
	Етанол, 0,5	16,7	625,2	1734,9

Як видно з цих даних, ацетаткіназна активність залишалася на рівні 17—19 нмоль / (хв · мг білка) незалежно від способу приготування інокуляту і наявності у змішаному субстраті ацетату калію чи натрію. У процесі культивування *Acinetobacter* sp. В-7005 на суміші ацетату натрію і глюкози активність ацетил-КоА-синтетази і ФЕП-синтетази була більш ніж у 10 разів вищою порівняно з вирощуванням бактерій на суміші ацетату калію і глюкози. Таким чином, встановлено позитивний вплив катіонів натрію на метаболізм ацетату і синтез етаполану під час росту продуцента на суміші ацетату і глюкози. Нині причини, що зумовлюють це явище, залишаються невідомими. Проте для його пояснення ми можемо висунути таке припущення. Якщо у *Acinetobacter* sp. В-7005 ацетат поглинається шляхом активного транспорту з використанням енергії протонрушійної сили, як це встановлено для багатьох бактерій [2], то катіони натрію можуть брати участь у створенні іонних градієнтів на мембрані, необхідних для генерації протонного потенціалу. Виясненню цього питання будуть присвячені наші подальші дослідження.

На наступному етапі вивчали активність ферментів центрального метаболізму під час культивування продуцента етаполану на моно- і змішаних субстратах (табл. 3, 4). Наведені дані підтверджують отримані нами раніше [4, 6, 10] результати про те, що незалежно від природи джерела вуглецевого живлення клітини *Acinetobacter* sp. В-7005 характеризуються достатньо високою активністю ферментів C_2 — C_6 -метаболізму. Так, у клітинах бактерій, вирощених на етанолі чи ацетаті, виявлено високу піруватдегідрогеназну і піруваткарбоксілазну активність, а у клітинах, вирощених на глюкозі, — високу активність ацетил-КоА-синтетази, ФЕП-синтетази і ферментів гліоксилатного циклу. Варто зазначити, що наявність активності ферментів C_2 -метаболізму в клітинах *Acinetobacter* sp. В-7005 у процесі росту на моно-субстраті (глюкозі) зумовлена використанням посівного матеріалу, вирощеного на ацетаті (табл. 3, 4). Раніше [4] ми встановили, що під час культивування продуцента етаполану на глюкозі за наявності мінорних концентрацій (0,01—0,2 %) C_2 -сполук або в разі використання інокуляту, вирощеного на C_2 -субстратах, відбувається індукція гліоконеогенезу.

Порівняльний аналіз активності ферментів центрального метаболізму в різних умовах культивування *Acinetobacter* sp. В-7005 на суміші етанолу і глюкози, наведений нами раніше [10] і у цій праці, свідчить, що активність ферментів анаплеротичних шляхів і гліоконеогенезу корелює з показниками синтезу етаполану. Так, ЕПЦ-синтезувальна здатність на суміші етанолу і глюкози в умовах культивування, описаних раніше [10], становила 3—4 г ЕПЦ / г АСБ, а під час росту в умовах, наведених у цій праці, підвищувалась до 5—7 г ЕПЦ / г АСБ. При цьому вищою була й активність піруваткарбоксілази і ФЕП-синтетази. Використання посівного матеріалу, вирощеного на ацетаті (табл. 4) замість інокуляту з м'ясопептонного агару [10], супроводжувалось підвищенням у 1,5—2,0 рази активності ацетил-КоА-синтетази в умовах міксотрофного росту бактерій на суміші етанолу і глюкози. При цьому незалежно від способу підготовки посівного матеріалу під час росту *Acinetobacter* sp. В-7005 на суміші етанолу і глюкози (табл. 3 і [10]) спостерігали зниження активності обох ферментів гліоксилатного циклу порівняно з культивуванням на моносубстраті — етанолі. Ці результати можуть засвідчити, що ацетил-КоА, утворений в ацетил-КоА-синтетазній реакції, залучається до метаболізму переважно через цикл трикарбонових кислот.

Водночас у разі вирощування *Acinetobacter* sp. В-7005 на суміші ацетату і глюкози активність ферментів гліюксилатного циклу підвищувалась (у 2 рази — малатсинтази і 10 разів — ізоцитратліази) порівняно з культивуванням на відповідних моносубстратах (табл. 3). У процесі росту бактерій на середовищі з ацетатом і глюкозою мало місце зниження в 1,2—1,4 раза активності піруваткарбоксілази і ферментів циклу трикарбонових кислот порівняно з вирощуванням на ацетаті (табл. 3). Разом з тим на суміші етанолу і глюкози (табл. 4) спостерігали підвищення у 1,3—3,0 рази активності ізоцитратдегідрогенази і 2-оксоглутаратдегідрогенази порівняно з культивуванням на етанолі. Таким чином, роль гліюксилатного циклу в метаболізмі *Acinetobacter* sp. В-7005 на суміші ацетату і глюкози істотніша, ніж на суміші етанолу і глюкози.

Під час вирощування продуцента етаполану на суміші ацетату і глюкози активність піруваткарбоксілази хоч і знижувалась порівняно з культивуванням на моносубстратах, проте залишалася доволі високою — 3314,8 нмоль / (хв · мг білка) (табл. 3). Отже, одночасне функціонування двох анаплеротичних шляхів (гліюксилатного циклу і піруваткарбоксілазної реакції) можуть свідчити на користь посилення гліюконеогенезу в процесі росту *Acinetobacter* sp. В-7005 на суміші C₂—C₆-сполук. Дійсно, активність ФЕП-синтетази на змішаних субстратах була значно вищою, ніж на моносубстратах (табл. 3, 4).

Таблиця 3

Активність деяких ключових ферментів C₂ — C₆-метаболізму під час вирощування *Acinetobacter* sp. В-7005 на ацетаті натрію (1,1 %), глюкозі (0,75 %) і суміші цих субстратів

Фермент	Активність, нмоль / (хв · мг білка) під час вирощування на		
	ацетаті	глюкозі	суміші ацетату і глюкози
Ацетил-КоА-синтетаза	1636,1	69,6	735,8
Ізоцитратліаза	83,4	70,6	855,6
Малатсинтаза	148,4	154,1	295,9
Ізоцитратдегідрогеназа	3682,7	5381,5	3063,5
2-Оксоглутаратдегідрогеназа	760,0	1479,1	508,6
Піруватдегідрогеназа	138,3	113,6	140,3
Піруваткарбоксілаза	4557,3	4972,9	3314,8
ФЕП-синтетаза	2272,5	118,1	3977,0

Примітки. Тут і в табл. 4: культивування здійснювали на середовищі 2; посівний матеріал отримували на середовищі 2 з ацетатом натрію (0,7 %).

Таблиця 4

Активність деяких ферментів центрального метаболізму під час культивування *Acinetobacter* sp. В-7005 на етанолі (0,75 %), глюкозі (0,75 %) і суміші цих субстратів

Фермент	Активність, нмоль / (хв · мг білка) під час вирощування на		
	етанолі	глюкозі	суміші етанолу і глюкози
Ацетил-КоА-синтетаза	273,5	86,7	198,6
Ізоцитратліаза	247,4	54,6	33,2
Малатсинтаза	209,3	64,1	41,5
Ізоцитратдегідрогеназа	762,7	1350,5	1965,4
2-Оксоглутаратдегідрогеназа	78,4	584,8	324,3
Піруватдегідрогеназа	112,7	105,7	428,3
Піруваткарбоксілаза	205,3	300,3	384,7
ФЕП-синтетаза	1056,7	486,7	1565,3

У літературі є дані щодо інтенсифікації росту і синтезу біомаси *Corynebacterium glutamicum* на суміші ацетату і глюкози [17]. Автори встановили, що прискорення росту корінебактерій за цих умов зумовлене тим, що ацетат використовувався для генерації енергії, а глюкоза — для конструктивного метаболізму. Так, ацетил-КоА утворювався переважно з ацетату і лише незначна його кількість — у піруватдегідрогеназній реакції [17]. У процесі росту *C. glutamicum* на суміші ацетату і глюкози анаплеротичною послідовністю реакцій, що поповнюють вміст C_4 -дикарбонових кислот, слугував гліоксилатний цикл, а ФЕП-карбоксилазна і піруваткарбоксилазна реакції не функціонували. Отримані нами результати ензимологічних досліджень можуть вказувати на те, що під час вирощування *Acinetobacter* sp. В-7005 на суміші ацетату і глюкози вуглець обох субстратів використовується як в енергетичному, так і конструктивному метаболізмі.

У нашій попередній праці [10] ми звертали увагу на високу активність піруваткарбоксилази в клітинах *Acinetobacter* sp. В-7005, вирощених на етанолі. У процесі росту на вуглеводах цей фермент каталізує анаплеротичну реакцію утворення оксалоацетату з пірувату, яка є незворотною [15]. Дотепер у літературі є лише кілька повідомлень про здатність піруваткарбоксилази здійснювати декарбоксилювання оксалоацетату [14, 16, 17]. Так, активність піруват- і ФЕП-карбоксилази реєстрували під час росту *C. glutamicum* на ацетаті [17], проте фізіологічна роль цих ферментів у разі вирощування корінебактерій на C_2 -субстраті залишається невідомою.

Отже, унаслідок проведеної роботи встановлено, що одночасне функціонування гліоксилатного циклу і піруваткарбоксилазної реакції, а також підвищення активності ФЕП-синтетази засвідчує посилення гліоконеогенезу в умовах міксотрофного росту *Acinetobacter* sp. В-7005 на суміші C_2 -субстратів (етанол, ацетат) і глюкози порівняно з культивуванням бактерій на моносубстратах.

Т.П. Пирог¹, Ю.В. Корж², Н.В. Выстяцкая¹

¹ Национальный университет пищевых технологий, Киев

² Институт микробиологии и вирусологии НАН Украины, Киев

ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА *ACINETOBACTER* sp. ИМВ В-7005 ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ НА СМЕСИ C_2 — C_6 -СУБСТРАТОВ

Установлено, что в условиях миксотрофного роста *Acinetobacter* sp. В-7005 на смеси ацетата натрия и глюкозы активность ацетил-КоА-синтетазы и фосфоэнолпируватсинтетазы были в 10 раз, а показатели синтеза микробного экзополисахарида этаполана почти в 2 раза ниже, чем на смеси ацетата калия и глюкозы. Предполагается, что положительная роль катионов натрия может заключаться в их участии в активном транспорте ацетата в клетку *Acinetobacter* sp. В-7005. Повышение синтеза этаполана при выращивании продуцента на смеси энергетически дефицитных (ацетат + глюкоза) и энергетически неравноценных (этанол + глюкоза) субстратов обусловлено усилением гліоконеогенеза, о чем свидетельствовало функционирование двух анаплеротических путей (глиоксилатного цикла и пируваткарбоксилазной реакции), а также повышение активности фосфоэнолпируватсинтетазы по сравнению с культивированием бактерий на соответствующих моносубстратах.

Ключевые слова: экзополисахариды, миксотрофный рост, смесь субстратов, гліоконеогенез, активность ферментов, центральный метаболізм.

T.P. Pirog¹, Yu. V. Korzh², N.V. Vysyatetska²

¹National University of Food Technologies, Kyiv

²Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

METABOLISM PECULIARITIES OF *ACINETOBACTER* sp. IMS
B-7005 GROWN ON THE MIXTURE OF C₂—C₆-SUBSTRATES

Summary

It has been established that under the conditions of mixotrophic growth of *Acinetobacter* sp. B-7005 on the mixture of sodium acetate and glucose the activity of acetyl-CoA-synthetase and that of phosphoenolpyruvate synthetase were 10 times lower and indices of synthesis of microbial exopolysaccharide (EPS) ethapolan are almost 2 times lower than on the mixture of potassium acetate and glucose. It is supposed that the positive role of sodium cations may consist in their participation in the active transport of acetate to the cells of *Acinetobacter* sp. B-7005. An increase of ethapolan synthesis when the producer is grown on the mixture of energy-deficient (acetate + glucose) and energetically nonequivalent (ethanol + glucose) substrates is determined by the intensification of gluconeogenesis, that is evidenced by the functioning of two anaplerotic paths (glyoxylate cycle and pyruvate-carboxylase reaction), as well as the increase of activity of phosphoenolpyruvate synthetase compared with cultivation of bacteria on the corresponding monosubstrates.

The paper is presented in Ukrainian.

Key words: exopolysaccharides, mixotrophic growth, mixture of substrates, gluconeogenesis, enzyme activity, central metabolism.

The author's address: T.P. Pirog, Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine; 154 Acad. Zabolotny St., Kyiv MSP, 03680, Ukraine.

1. Гринберг Т.А., Пирог Т.П., Малащенко Ю.Р., Пинчук Г.Э. Микробный синтез экзополисахаридов на C₁—C₂-соединениях. — Киев: Наук. думка, 1992. — 212 с.
2. Ивановский Р.Н. Биоэнергетика и транспорт субстратов у бактерий. — Москва: МАКС-пресс, 2001. — 46 с.
3. Лакин Г.Ф. Биометрия. — Москва: Высш. шк., 1990. — 352 с.
4. Пирог Т.П., Коваленко М.А., Кузьминская Ю.В. Образование экзополисахаридов на углеводных субстратах штаммом *Acinetobacter* sp. и особенности его C₆-метаболизма // Микробиология. — 2002. — 71, № 2. — С. 215—221.
5. Пирог Т.П., Соколов И.Г., Кузьминская Ю.В., Малащенко Ю.Р. Некоторые особенности метаболизма этанола у мутантного штамма *Acinetobacter* sp., не образующего экзополисахариды // Там же. — 2002. — 71, № 2. — С. 222—229.
6. Пирог Т.П., Коваленко М.А., Кузьминская Ю.В., Криштаб Т.П. Интенсификация синтеза экзополисахарида этаполана на смеси ростовых субстратов // Там же. — 2003. — 72, № 1. — С. 26—32.
7. Пирог Т.П., Коваленко М.А., Кузьминская Ю.В. Энергетические и биохимические аспекты интенсификации синтеза экзополисахаридов *Acinetobacter* sp. на смеси этанола и глюкозы // Там же. — 2003. — 72, № 3. — С. 348—355.
8. Пирог Т.П., Кузьминская Ю.В. Регуляция метаболизма ацетата у штамма *Acinetobacter* sp., растущего на этаноле // Прикл. биохимия и микробиология. — 2003. — 39, № 2. — С. 180—188.
9. Пирог Т.П., Кузьминская Ю.В. Особенности центрального метаболизма штамма *Acinetobacter* sp. растущего на этаноле // Микробиология. — 2003. — 72, № 4. — С. 459—465.
10. Пирог Т.П., Кузьминская Ю.В., Коваленко М.О. Метаболизм C₂—C₆-субстратов в условиях миксотрофного роста штаммов *Acinetobacter* sp. B-7005 і B-7005 (1НГ) // Укр. біохім. журн. — 2004. — 76, № 1. — С. 33—38.
11. Пирог Т.П., Корж Ю.В., Лацук Н.В., Зборовська Б.М. Синтез мікробного екзополісахариду етаполану на суміші етанолу і меляси // Мікробіол. журнал. — 2006. — 68, № 3. — С. 3—15.

12. Пироз Т.П., Лацук Н.В., Корж Ю.В. Регуляція C_2 -метаболізму в умовах міксотрофного росту *Acinetobacter* sp. В-7005 на суміші етанолу і глюкози // Там само. — 2006. — 68, № 1. — С. 21—32.
13. Пироз Т.П., Лацук Н.В., Корж Ю.В. Інтенсифікація синтезу екзополісахариду етаполану на суміші енергетично дефіцитних субстратів // Наук. праці НУХТ. — 2007. — № 20. — С. 42—45.
14. Attwood P.V., Cleland W.W. Decarboxylation of oxaloacetate by pyruvate carboxylase // Biochemistry. — 1986. — 25, N 25. — P. 8191—8196.
15. Strapakdee S., Wallace J.C. Structure, function and regulation of pyruvate carboxylase // Biochem. J. — 1999. — 340. — P. 1—16.
16. Scrutton M.C., Utter M.F. Pyruvate carboxylase. III. Some physical and chemical properties of the highly purified enzyme // J. Biol. Chem. — 1965. — 240, N 1. — P. 1—9.
17. Wandish V.F., de Graaf A.A., Sahn H., Eikmanns B.J. Quantitative determination of metabolic fluxes during cointilization of two carbon sources: comparative analyses with *Corynebacterium glutamicum* during growth on acetate and/or glucose // J. Bacteriol. — 2000. — 182, N 11. — P. 3088—3096.

Одержано 27.03.2006