

Ревин В.В. *, Атыкян Н.А. *, Костина Е.Г. *, Гоготов И.Н. **

*Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, Саранск

**Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино

ВЛИЯНИЕ КАЛЬЦИЯ НА ИЗМЕНЕНИЕ СОСТАВА ЛИПИДОВ КЛЕТОК *RHODOCOCCLUS ERYTHROPOLIS* АС-858 Т В ПРОЦЕССЕ ПЕРИОДИЧЕСКОГО И ПОЛУНЕПРЕРЫВНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА СРЕДАХ С РАЗЛИЧНОЙ КОНЦЕНТРАЦИЕЙ ГЕКСАДЕКАНА

Исследовано накопление суммарных липидов и изменение фосфолипидного состава в клетках *Rhodococcus erythropolis* ВКМ Ас-858 Т в зависимости от концентрации ионов Ca^{2+} и гексадекана в питательной среде. Показано, что для роста и накопления липидов этой бактерии на модифицированной среде Таусона оптимальное содержание Ca^{2+} составляет 4 мг/л, а гексадекана 1%. В процессе культивирования качественный состав фосфолипидов не меняется, однако наблюдается изменение их количественного соотношения. Оптимизированная среда была использована для полунепрерывного культивирования бактерий отъемно-доливным методом с целью получения максимального выхода биомассы и липидов, что было достигнуто при 60% насыщении кислородом среды.

Ключевые слова: *Rhodococcus erythropolis*, фосфолипиды, общие липиды, гексадекан.

Введение

В настоящее время бактерии рода *Rhodococcus* привлекают все большее внимание, вследствие их широкого практического использования. Они играют важную роль в процессах почвообразования, в обогащении биоценозов витаминами и другими физиологически активными соединениями [5], а созданные на их основе препараты используются в биоремедиации окружающей среды от ксенобиотиков, повышении нефтеотдачи почвенных пластов, очистке сточных вод от нефтепродуктов и т.д. [12,17]. Способность этих бактерий эмульгировать и деградировать углеводороды в значительной степени обусловлена особенностями строения их клеточной оболочки, содержащей липиды [16], от состава и метаболизма которых зависит также и адаптация этих микроорганизмов к неблагоприятным факторам [4]. Известно, что состав липидов клеточных мембран родококков и их суммарное содержание существенно изменяются в ходе развития клеток [2]. Также выявлено, что содержание липидов в клетках родококков изменяется в зависимости от используемых источников углерода [14, 15]. Однако, в отношении других факторов, влияющих на синтез липидов бактериями рода *Rhodococcus* известно недостаточно. Важную роль в синтезе липидов играют ионы металлов, в частности ионы кальция. Показано, что лимитирование по кальцию приводит к увеличению

синтеза липидов у *Pseudomonas aeruginosa* и *P. fluorescens* [10].

Целью настоящей работы являлось выяснение влияния концентрации ионов кальция и гексадекана в среде культивирования на липидный состав клеток *Rhodococcus erythropolis* Ас-858 Т и его изменение в процессе роста, а также отработка условий полунепрерывного культивирования этих бактерий на оптимизированной среде с целью получения прототипа биопрепаратов.

Методы исследования

Объектом исследования служили бактерии *Rhodococcus erythropolis* штамм ВКМ Ас – 858 Т, полученная из Всероссийской коллекции микроорганизмов. Культуру поддерживали на агаризованной среде следующего состава (г/л): глюкоза – 5,0; пептон – 5,0; дрожжевой экстракт – 3; K_2HPO_4 – 0,2; агар – 20, рН 7,0. В опытах по исследованию влияния концентрации ионов кальция и гексадекана в среде культивирования на рост и образование липидов бактерией *R. erythropolis* использовали модифицированную среду Таусона, следующего состава (г/л): K_2HPO_4 – 0,5; $MgSO_4$ – 1,0; $(NH_4)_2SO_4$ – 4,0; NaCl – 30, рН 7,0.

На первом этапе бактерии *R. erythropolis* выращивали при различных концентрациях Ca^{2+} в среде с 1% гексадекана (V/V), а затем на фоне оптимального варианта по кальцию исследовали влияние concentra-

ции гексадекана как единственного источника углерода на рост и образование липидов. Посевным материалом служила двухсуточная культура, выращенная на мясопептонном бульоне. Инокулят с ОП₆₀₀, равной 0,05, в количестве 5 мл добавляли в опытные колбы объемом 250 мл, содержащие по 100 мл минеральной среды. Культивирование проводили в течение 8 суток при 28°C на термостатируемой качалке (235 об/мин). Из культуральной жидкости каждые два дня отбирали пробы, в которых определяли биомассу гравиметрическим методом и содержание общих экстрагируемых липидов (ОЭЛ) в клетках по методу Блайя-Дайэра [1]. Разделение липидов проводили методом двумерной тонкослойной хроматографии на силикагеле в системах Брокхьюза: 1) хлороформ – метанол-28%-ный аммиак – вода (90:54:5:8), 2) хлороформ– метанол–ледяная уксусная кислота – вода (90:40:10:4) [9]. На пластинку наносили 600 мкг липидов. Хроматограммы опрыскивали 5%-ной серной кислотой в метаноле с последующим нагреванием при 180°C до проявления пятен. Идентификацию отдельных фосфолипидов проводили с помощью специфических реагентов [19]. Количественное определение фосфолипидов проводили по методу, описанному в работе [18]. Продолжительное культивирование осуществляли по отъемно-доливному методу с использованием модульного биотехнологического оборудования серии ОКА-М1 МФ-05К на оптимизированной среде в 2-х реакторах объемом 1л (объем среды 0,5л), в условиях различной степени насыщения среды кислородом (20-60%). Отбор проб производили через 5, 9ч и далее каждые 24ч. В пробах определяли биомассу гравиметрическим методом, внеклеточный белок по методу Бредфорда [8], в конечных сливах определяли ОЭЛ. Время культивирования составило 4 суток, после чего производили слив культуральной жидкости, оставив в качестве инокулята 5-10% от первоначального объема. Долю эмульгированного и растворенного гексадекана в пробах определяли ИК-фотометрическим методом с помощью концентратомера «КН-2м» (Россия) (ПНД Ф 14.1:2.4.168-2000). Все результаты, полу-

ченные не менее чем в пяти параллельных опытах, подвергали статистической обработке.

Результаты и обсуждение

На первом этапе при изучении влияния Ca²⁺ на рост *R. erythropolis* варьировали его содержание в среде от 2 до 120 мг/л. В качестве контроля служила среда без CaCl₂. Исследование влияния ионов Ca²⁺ на рост и образование липидов клетками *R. erythropolis* ВКМ Ас – 858Т показало, что как в контрольном, так и во всех опытных вариантах наиболее быстрый прирост биомассы наблюдался до четвертых суток культивирования (рисунок 1). Начиная с 6 суток происходило снижение уровня биомассы, что совпадало с началом литических процессов. Наибольшее содержание липидов было в 6-суточных клетках. Сопоставление опытных и контрольного варианта показало, что при отсутствии Ca²⁺ в питательной среде

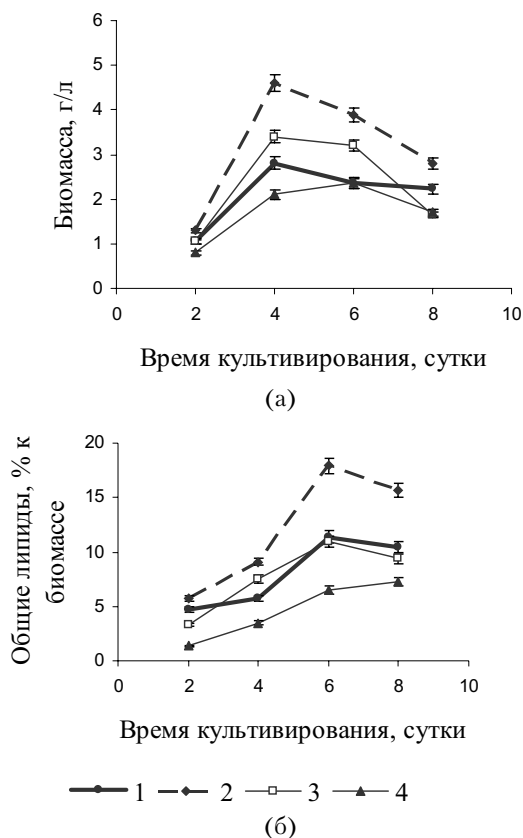


Рисунок 1. Влияние концентраций Ca²⁺ и гексадекана в ростовой среде на накопление биомассы (а) и образование общих липидов (б) клетками *R. erythropolis* Ас-858 Т (1 – контроль (0 мг/л Ca²⁺); 2 – 4 мг/л Ca²⁺, 1% гексадекана; 3 – 5% гексадекана; 4 – 10% гексадекана)

выход биомассы был незначительным, а добавление ионов кальция стимулировало рост бактерий. Максимальный выход биомассы и накопление клеточных липидов были почти в 1,5 раза больше в среде с 4 мг/л ионов Ca^{2+} , по сравнению с контролем (рисунок 1). Дальнейшее увеличение содержания ионов Ca^{2+} в среде культивирования вызвало снижение выхода биомассы и содержания общих липидов.

Таким образом, низкое содержание в среде ионов Ca^{2+} (2-4 мг/л) стимулирует рост и накопление общих липидов культурой *R. erythropolis*, тогда как высокое несколько ингибирует. Наблюдаемый эффект вполне согласуется с полученными другими авторами данными для других микроорганизмов. Так, показано, что низкие концентрации солей магния и кальция стимулируют более высокое накопление липидов у *P. aeruginosa* DSM 2659 [11].

Наблюдаемый эффект по влиянию CaCl_2 на липидсинтезирующую активность *R. erythropolis* может иметь следующий механизм. Как известно поступление ионов Ca^{2+} в клетку происходит по кальциевым каналам. Внутри клетки Ca^{2+} является универсальным вторичным мессенджером и участвует в ряде важных метаболических процессов, в том числе и синтезе АТФ, в активации протеинкиназы С, фосфолипаз A_2 и С [3,7]. Таким образом Ca^{2+} необходим для жизнедеятельности клеток, однако стимулирующий эффект кальция наблюдается до определенных концентраций. Это связано с тем, что для нормального функционирования клетки необходима низкая концентрация ионов кальция, в то время как накопление кальция в цитозоле приводит к гибели клетки [3], что мы и наблюдали в наших опытах с высокими концентрациями Ca^{2+} .

Изучение фракционного состава общих липидов показало, что в зависимости от фазы роста *R. erythropolis* доля нейтральных липидов составляла 88-98%, а фосфолипидов – 2-12%. В процессе роста доля нейтральных липидов увеличивается, а содержание фосфолипидов снижается, что согласуется с данными других авторов [13, 20]. Сопоставление данных по общим липидам и фосфолипидам выявило, что их доля практически не зависит от концентрации Ca^{2+} в среде и лишь при кон-

центрации 4 мг/л Ca^{2+} их доля немного выше (на 10-15%), что в принципе может быть отнесено к ошибке опыта. Известно, что фосфолипиды, входящие в состав клеток, выполняют функциональную роль, регулируют мембранный транспорт, процессы окислительного фосфорилирования, отдельные стороны метаболизма клеток и т.д. Проведенные нами исследования качественного и количественного состава фосфолипидов клеток выявили наличие дифосфатидилглицерина (ДФГ), фосфатидилглицерина (ФГ), фосфатидилэтаноламина (ФЭА), фосфатидилсерина + фосфатидилинозита (ФС + ФИ). Рост бактерии во всех вариантах опыта сопровождался изменениями в соотношении фосфолипидов, но не их качественного состава. Показано (рисунок 2), что доля фракции ДФГ увеличивается – количество значительно возросло в стареющих клетках (на 55% в контрольном и на 32-33% в вариантах с 4 и 6 мг/л Ca^{2+}). Сопоставление динамики изменения содержания ФС + ФИ в контроле и опытных вариантах выявило также почти двукратное увеличение их доли, так например, в опыте с добавлением 4 мг/л Ca^{2+} от 26 до 43%. Как известно, ФИ выполняют в клетке регуляторную функцию, участвуют в фосфоинозитидном пути передачи сигнала. Активация фосфолипазы С в данном процессе происходит под влиянием Ca^{2+} . Под действием этого фермента фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат расщепляется на инозитол-1,4,5-трифосфат и диацилглицерин. Последний участвует в активации протеинкиназы С. Этот фермент фосфорилирует целую серию белков по сериновым и треониновым остаткам и играет первостепенную роль в процессе передачи сигнала. Для проявления активности протеинкиназы С нужны Ca^{2+} и ФС. При этом, вероятно, чем выше содержание ФС в клетке, тем больше связывается Ca^{2+} , что согласуется с нашими данными, поскольку клетки, выращенные на среде с высокими концентрациями Ca^{2+} , характеризуются более высокой долей фракции ФС+ФИ. Содержание ФЭА наоборот снижалось в зависимости от возраста культуры. Согласно имеющимся данным, наличие в клетках значительных количеств ФЭА свидетельствует о фазе активного роста, когда активно протекает образование мембран, и происходит ак-

тивация процессов клеточного метаболизма [6]. Из полученных нами данных видно, что в контрольном варианте доля ФЭА постепенно снижалась с 44 до 19%, в варианте с 4 мг/л Ca^{2+} – с 56 до 34%. Следовательно последний вариант характеризуется более активными ростовыми и метаболическими процессами, что коррелирует и с другими данными.

Используя среду с 4 мг/л Ca^{2+} в качестве основы, на следующем этапе мы варьировали концентрацию гексадекана от 1 до 10% (V/V). Проведенное исследование показало (рисунок 1 а), что при добавлении 1 и 5% гексадекана

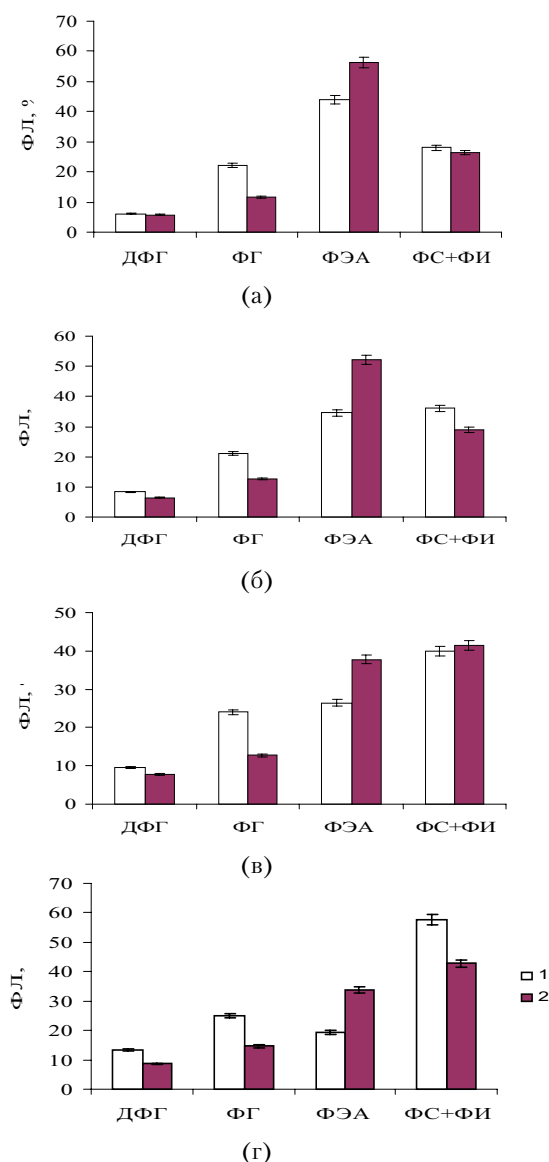


Рисунок 2. Изменение фосфолипидного состава клеток *R. erythropolis* Ac-858 Т на вторые (а), четвертые (б), шестые (в), восьмые (г) сутки (1– контроль; 2 – 4 мг/л Ca^{2+})

динамика прироста биомассы и накопления общих клеточных липидов была сходной. При этом выход биомассы был на 30% выше в варианте с добавлением 1% гексадекана. Увеличение содержания гексадекана до 10% приводило к снижению физиологической активности культуры. Возможно, это связано с дестабилизацией мембраны в ходе растворения гексадекана в липидном бислое и нарушением, прежде всего, транспортных процессов. Максимальное содержание общих клеточных липидов в клетках *R. erythropolis* Ac-858 Т наблюдалось на 6 сутки роста в вариантах с 1 и 5% гексадекана (рисунок 1 б). При этом в варианте с 1% гексадекана их содержание было немного выше. При добавлении в среду максимальной концентрации гексадекана синтез липидов ингибировался и их содержание в клетках было почти в 2 раза ниже, что подтверждает ранее сделанный вывод.

Анализ фосфолипидного состава показал (рисунок 3), что увеличение концентрации гексадекана в среде до 5-10% приводило к более высокому содержанию фракций ДФГ и ФГ в клетках *R. erythropolis*, по сравнению с культурой, выращенной на среде с 1% гексадекана. Для клеток, выросших на среде с 1% гексадекана, характерно более высокое содержание ФЭА. В варианте с 5% гексадекана доля ФЭА в процессе роста снижалась с 38,1 до 21,3%, в варианте с 10% – с 32,1 до 19,3%. Содержание ДФГ к 8 суткам возрастало более, чем в 1,5 раза. Доля суммарной фракции ФС + ФИ увеличивалась в варианте с 5% гексадекана с 37,4 до 48,4%, в варианте с 10% – с 40,3 до 47%.

Используя оптимизированный на первом этапе вариант среды, дальнейшую оптимизацию условий проводили на ферментационной установке ОКА-М1 МФ-05К с автоматическим контролем параметров среды при помощи ЭВМ.

Результаты проведенных исследований по полунепрерывному культивированию бактерий *R. erythropolis* показывают (таблица 1), что максимальный прирост биомассы как при 20%-ном, так и при 60% насыщении среды кислородом на всех трех стадиях культивирования наблюдается через 24 часа, после чего происходит снижение скорости роста и накопления биомассы, при этом пик накопления

биомассы происходит при использовании 5% инокулята. Снижение абсолютной скорости роста в обоих вариантах к 3 суткам культивирования при использовании 10% инокулята, вероятно, связано с накоплением продуктов метаболизма и их ингибированием микроорганизмов. С этими данными коррелирует и динамика изменения содержания белка, так наиболее высокое содержание белка наблюдалось в течение первых часов культивирования, далее происходило значительное уменьшение данного показателя (таблица 1). При этом максимальное содержание внеклеточного белка наблюдалось на первые сутки второй стадии культивирования, что подтверждает сделанный ранее вывод о том, что оптимальным вариантом отъемно-доливного культивирования на среде с гексадеканом является использование 5% инокулята в условиях 60% насыщения среды кислородом.

В результате наших исследований по убыли доли растворенного и эмульгированного гексадекана в процессе отъемно-доливного культивирования, получены данные, свидетельствующие об уменьшении его на протяжении всего времени культивирования (рисунок 4). При этом убыль доли растворенного и эмульгированного гексадекана практически пропорциональна степени насыщения среды кислородом и максимальна при 60%-ном насыщении. Это связано с тем, что с увеличением концентрации кислорода, растворенного в питательной среде, увеличивается, вероятно, и активность монооксигеназы, а, соответственно, и степень окисления гексадекана.

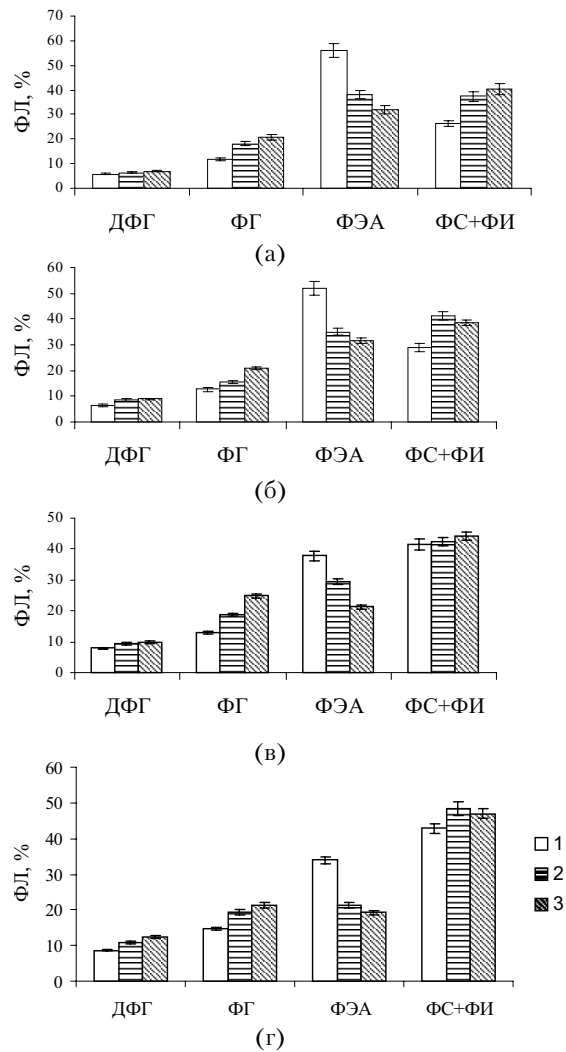


Рисунок 3. Изменение фосфолипидного состава клеток *R. erythropolis* Ac-858 T при культивировании на средах с различными концентрациями гексадекана на вторые (а), четвертые (б), шестые (в), восьмые (г) сутки роста (1 – 1% гексадекана; 2 – 5% гексадекана; 3 – 10% гексадекана).

Таблица 1. Влияние степени аэрации на рост *R. erythropolis* Ac-858 T в условиях полунепрерывного культивирования

Время культивирования, ч	Биомасса, г/л		Белок, мг/мл	
	20% O ₂	60% O ₂	20% O ₂	60% O ₂
24	15,06±0,75	14,26±0,71	0,025±0,001	0,009±0,0005
48	19,27±0,96	12,18±0,60	0,057±0,003	0,027±0,001
72	18,51±0,93	22,96±1,15	0,135±0,006	0,115±0,005
120	6,23±0,31	6,98±0,35	0,072±0,003	0,093±0,004
Инокулят 10%				
24	22,14±1,11	20,09±1,00	0,256±0,013	0,263±0,013
72	29,56±1,49	28,96±1,45	0,235±0,011	0,251±0,012
96	13,01±0,65	10,45±0,52	0,100±0,005	0,104±0,005
Инокулят 5%				
24	15,82±0,79	8,82±0,44	0,277±0,013	0,101±0,005
48	19,96±1,00	14,73±0,73	0,150±0,007	0,230±0,011
72	25,02±1,25	15,78±0,79	0,099±0,005	0,191±0,009
96	14,06±0,70	7,54±0,38	0,085±0,004	0,138±0,006

Таблица 2. Содержание отдельных фракций фосфолипидов, в% от общих липидов в культуре *R. erythropolis* ВКМ Ас-858 Т

Фракции фосфолипидов	20% насыщение среды кислородом			60% насыщение среды кислородом		
	1 этап	2 этап	3 этап	1 этап	2 этап	3 этап
ДФГ	8,0±0,4	8,5±0,4	9,0±0,5	5,8±0,3	7,8±0,3	8,0±0,3
ФС+ФИ	42,5±2,1	43,2±1,9	44,6±2,1	35,7±1,7	37,1±1,8	38,4±1,8
ФЭА	34,4±1,7	33,6±1,7	32,1±1,5	39,6±1,9	35,1±1,7	33,9±1,6
ФГ	16,1±0,8	14,7±0,7	14,3±0,6	18,9±0,9	20,0±0,9	19,7±0,9

Таким образом, проведенные исследования показали, что в процессе полунепрерывного культивирования *R. erythropolis* в данных условиях максимальная скорость роста и убыли растворенного и эмульгированного гексадекана наблюдается уже в первые сутки культивирования при использовании 5% инокулята и при 60% насыщении среды кислородом.

При исследовании содержания клеточных липидов, было обнаружено, что количество ОЭЛ при росте культуры на модифицированной среде Таусона существенно не изменялось. При изучении изменения количественного соотношения фракций фосфолипидов в процессе роста на среде с гексадеканом было обнаружено, что в целом характер изменения содержания фосфолипидов имеет сходные тенденции. Так ФС+ФИ во всех вариантах опыта повышается со временем культивирования, а содержание ФЭА падает. Доля ФЭА в клетках практически не зависела от условий аэрации биомассы (таблица 2). ДФГ и ФГ практически не изменялось в процессе культивирования.

Таким образом, оптимальной для роста и проявления липидсинтезирующей активности штаммом *R. erythropolis* Ас – 858 Т является среда, содержащая 1% гексадекана и 4 мг/л Ca²⁺. Установлено, что рост этой бактерии сопровождается изменениями в количественном соотношении отдельных фракций фосфолипидов без изменения их качественного состава. При этом доля фосфатидилэтанол-

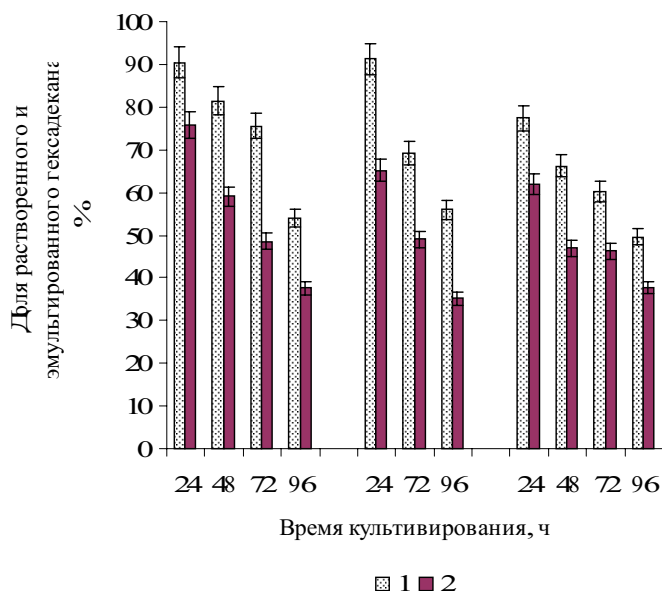


Рисунок 4. Влияние степени насыщения кислородом на изменение доли растворимого и эмульгированного гексадекана при росте культуры *R. erythropolis* (1 – 20% насыщение среды кислородом; 2 – 60% насыщение среды кислородом)

ламина снижается, в то время как доля дифосфатидилглицерина и объединенной фракции фосфатидилсерина и фосфатидилинозита возрастает. В условиях полунепрерывного культивирования увеличение степени аэрации до 60% приводит к интенсификации процессов метаболизма и получению более активной клеточной массы, накапливающей до 11,3% общих липидов (от сырой биомассы). При этом изменения в фосфолипидном составе аналогичны как и на первом этапе культивирования. Данный вариант может служить прототипом для получения нефтеокисляющих препаратов.

Список использованной литературы:

1. Кейтс М. Техника липидологии. – М.: Мир, 1975. – 324с.
2. Коронелли Т.В. Липиды микробактерий и родственных микроорганизмов. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1984. – 160 с.
3. Крутецкая З.И., Лебедев О.Е., Курилова Л.С. Механизмы внутриклеточной сигнализации. – СПб.: Изд-во С. Петерб. Ун-та, 2003. – 208 с.
4. Куюкина М.С., Ившина И.Б., Рычкова М.И., Чумаков О.Б. Влияние состава клеточных липидов на формирование неспецифической антибиотикорезистентности алканотрофных родококков // Микробиология. – 2000. – Т.69. – №1. – С. 62-69.

5. Нестеренко О.А., Квасникова Е.И., Ногина Т.М. Нокардиоподобные и коринеподобные бактерии. – Киев: Наукова думка, 1985. – 336 с.
6. Феофилова Е.П., Бурлакова Е.Б., Кузнецова Л.С. Значение реакций свободнорадикального окисления в регуляции роста и липидобразования эукариотных и прокариотных организмов // Прикладная биохимия и микробиология. – 1987. – Т.23. – №1. – С.3-13.
7. Berridge M.J., Bootman M.D., Lipp P. Calcium – a life and death signal // Nature. – 1998. – V. 395. – P.645-648.
8. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principal of protein-dye binding // Anal. Biochem. – 1976. – V. 72. – P. 248 – 254.
9. Broekhuysse R.M. Phospholipids in tissues of the eye. I. Isolation, characterization and quantitative analysis by two-dimensional thin-layer chromatography of diacyl and vinyl-ether phospholipids // Biochim. Biophys. Acta. – 1968. – V.559. – №4. – P. 307-315.
10. Chayabutra C., Wu J., Ju L.K. Rhamnolipid production by *Pseudomonas aeruginosa* under denitrification: effects of limiting nutrients and carbon substrates // Biotechnol. Bioeng. – 2001. – V. 72. – P. 25-33.
11. Desai J.D., Banat I.M. Microbial production of surfactants and their commercial potential // Microbiol. and Mol. Biol. Rev. – 1997. – V.61. – №1. – P.47-64.
12. Jung I.G., Park C.H. Characteristics of *Rhodococcus pyridinovorans* PYJ-1 for the biodegradation of benzene, toluene, m-xylene (BTX), and their mixtures // J. Biosci. Bioeng. – 2004. – V.97. – №6. – P. 429-431.
13. Packter N.M., Olukoshi E.R. Ultrastructural studies of neutral lipid localisation in *Streptomyces* // Arch. Microbiol. – 1995. – V.164. – P.420-427.
14. Sikkema J., Bont J. A., Poolman B. Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons // Microbiol. Rev. – 1995. – V. 59. – №2. – P. 201-222.
15. Sokolovski I., Rozenberg R., Riez C., Rouxhet P.G., Agathos S.N., Wattiau P. Carbon source-induced modifications in the mycolic acid content and cell wall permeability of *Rhodococcus erythropolis* E1 // Appl. Environ. Microbiol. – 2003. – V. 69. – №12. – P. 7019-7027.
16. Tsitko I.V., Zaitsev G.M., Lobanok A.G., Salkinoja-Salonen M.S. Effect of aromatic compounds on cellular fatty acid composition of *Rhodococcus opacus* // Appl. Environ. Microbiol. – 1999. – V. 65. – №2. – P. 853-855.
17. Van Hamme J.D., Ward O. P. Physical and metabolic interactions of *Pseudomonas* sp. strain JA5-B45 and *Rhodococcus* sp. strain F9-D79 during growth on crude oil and effect of a chemical surfactant on them // Appl. Environ. Microbiol. – 2001. – V. 67. – №10. – P. 4874-4879.
18. Vaskovsky V.E., Kostetsky E.Y., Vasendin I.M. A universal reagent for phospholipid analysis // J. Chromatogr. – 1975. – V. 114. – P. 129-141.
19. Vaskovsky V.E., Latyshev N.A. Modified Jungnickel's reagent for detecting phospholipids and other phosphorus compounds on thin-layer chromatograms // J. Chromatogr. – 1975. – V. 115. – P. 246-249.
20. Waltermann M. A., Hinz A., Robenek H., Troyer D., Reichelt R., Malkus U., Galla H.J., Kalscheuer R., Stoveken T., Landenberg P., Steinbuechel A. Mechanism of lipid body formation in bacteria: how bacteria fatten up // Mol. Microbiol. – 2005. – V.55. – P.750-763.

Работа выполнена при поддержке программы

«Развитие научного потенциала высшей школы 2006-2008» РНП.2.1.17708

«Моделирование и кинетический анализ процессов деструкции лигноцеллюлозных субстратов и ксенобиотиков с участием ферментов и липидов»