

УДК 612, 398:547.965

Г.С. Андріяш, Г.М. Заболотна, С.М. Шульга

ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України»,
вул. Осиповського, 2а, 04123, Київ, Україна, e-mail: Shulga5@i.ua

РЕГУЛЮВАННЯ ТА ШЛЯХИ ІНТЕНСИФІКАЦІЇ БІОСИНТЕЗУ ЛІЗИНУ

В огляді проаналізовано шляхи інтенсифікації мікробіологічного синтезу лізину, що використовується у виробництві кормів, у харчовій і фармацевтичній промисловості. Приведено біохімічну схему регулювання та синтезу лізину бактеріями через діамінопімелат. Показано, що підвищений синтез незамінних амінокислот у мікроорганізмів пов'язаний з певними мутаційними порушеннями регуляторного контролю біосинтезу. Відображено технологічні способи підвищення біосинтезу лізину. За рахунок зміни технологічних параметрів біосинтезу лізину досягав рівня 30–50 г/дм³, а штами-мутанти у поєднанні з біотехнологічними прийомами продукували 50–70 г/дм³ та забезпечували 40% конверсію субстрату до амінокислоти.

Ключові слова: ауксотрофність, біосинтез, інтенсифікація, лізин, продуцент.

Незамінна амінокислота лізин (α , ϵ -амінокапронова кислота) є одним із джерел для синтезу ацетил-Коензиму А (Ацетил-КоА), регуляторним чинником у метаболізмі інших амінокислот, яка не синтезується в організмі тварин. Лізин (Lys), при достатньому та своєчасному його надходженні в організм сприяє секреції травних ферментів, упереджує розвиток атеросклерозу, остеопорозу, покращує короткотермінову пам'ять [1].

Мікробіологічне виробництво амінокислот за об'ємом продукції займає 2-е місце в світі після виробництва антибіотиків. Потреби сільського господарства, харчової промисловості та медицини зумовлюють інтенсивний розвиток промислового виробництва лізину [2, 3], зростання виробництва лізину складає близько 10% на рік [3]. В Україні та СНД виробництво лізину відсутнє [1].



Біотехнології лізину постійно вдосконалюють [1, 2, 4], впроваджують нові продуктивні штами, отримані селекційними та генно-інженерними методами [2, 5–7].

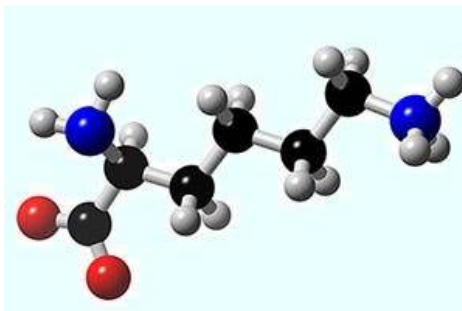
Бактерії, а саме корінебактерії та бревібактерії, синтезували лізин пентозофосфатним та гліколітичним шляхами (рис. 1) [2, 7]. За використання мічених атомів ^{13}C встановлено, що бактерії синтезували лізин через піруват, аспарагінову кислоту та α -діамінопімелінову кислоту (ДАП), а також метіонін, треонін та ізолейцин з аспартату. Встановлено, що на цьому метаболічному шляху діамінопімелатні будівельні блоки формували пептидоглікан для клітинної стінки бактерій [7,9].

У роботах [7, 18, 22, 24–29] показано, що біосинтез лізину це розгалужений ланцюг реакцій за участю понад 60 ферментів. Усі гени корінебактерій, що кодують ці ферменти, ізольовано та секвеновано [6, 7, 8, 17]. Для кожного гена визначені його місце і функція у метаболічному шляху та участь у транспортуванні лізину [10, 11, 12]. **Ключовими генами** у регуляції синтезу лізину визначені *pyc* (піруваткарбоксилаза), *lysC* (аспартаткіназа), *hom* (гомосериндегідрогеназа), *lysA* (діамінопімелат декарбоксилаза), *dapA* (дигідропіколінатсинтаза), *mgo* (малат:гуїнон оксидоредуктаза) [13-16].

Контроль біосинтезу лізину забезпечується за принципом зворотного зв'язку на рівні генів [16, 17], які відповідають за синтез відповідних ферментів (репресія) і на рівні самих ферментів, які в результаті надлишку амінокислот, що утворюються, можуть змінювати свою активність (ретроінгібування) [2, 18]. Даний механізм контролю виключав перевиробництво амінокислот, а також перешкоджає їх виділенню з клітин у навколишнє середовище [7, 16, 19, 20].

Шлях біосинтезу від аспарагінової кислоти до лізину у корінебактерій, на відміну від інших мікроорганізмів, має лише один контрольований кінцевим продуктом етап — фосфорилування аспарагінової кислоти (рис. 1). Реакція каталізується аспартаткіназою (АК), здатною у штамів дикого типу до полівалентного пригнічення лізином і треоніном [1,2].

Спільний попередник (напівальдегід аспарагінової кислоти) в синтезі лізину та треоніну витрачається у корінебактерій переважно на синтез треоніну (рис. 1). Ферментативна активність гомосериндегідрогенази (ГД) у 15 разів вища за активність дигідропіколінатсинтази, тому процес біосинтезу скеровується на виробництво треоніну. Біосинтез треоніну регулюється АК і ГД за принципом зворотного зв'язку та репресії [18, 21].



Модель молекули лізину
The model of lysine molecule

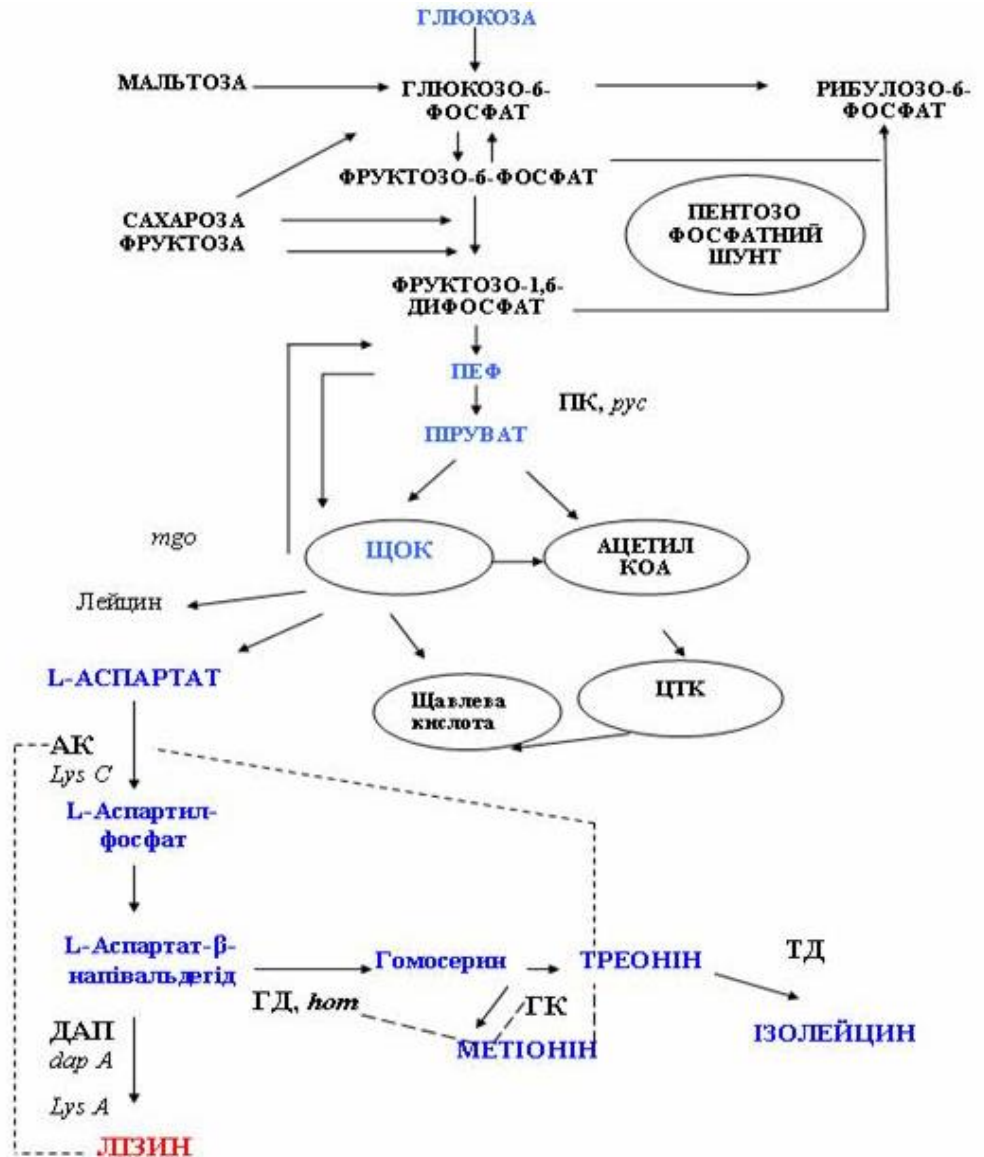


Рис. 1. Схема синтезу лізину через ДАП-шлях [7,9].

Примітка: — — — — репресія, — — — — ретроінгібування
 ЩОК — щавлевооцтова кислота, ДАП — діамінопімелат, ЦТК — цикл трикарбонових кислот, ГК — гомосеринкіназа, ТД — треоніндегідрогеназа, АК (аспарататкіназа) ген *lysC*, ПК (піруваткарбоксілаза) ген *pus*, ГД (гомосериндегідрогеназа) ген *hom*, ДАП -(дігідропіколінатсинтаза) ген *dapA*, (малат:гуїнон оксидоредуктаза) ген *mgo*.

Fig. 1. Scheme of lysine synthesis through the DAP-way

Note: — — — — repression, — — — — retroinhibition
 ЩОК — oxaloacetic acid, ДАП — diaminopimelate, ЦТК — citric acid cycle, ГК — homoserine, ТД — threonine dehydrogenase, АК — (aspartatkinaza) gene *lysC*, ПК — (pyruvatecarboxylase) gene *pus*, ГД — (homoserine) gene *hom*, ДАП — (digidropikolinatsintaza) gene *dapA*, (malate: guinon oxidoreductase) gene *mgo*.



Біосинтез лізину у природних (диких) штамів розпочинається після насичення клітини треоніном, метіоніном та ізолейцином [2]. Для підвищення рівня синтезу лізину блокується їх синтез шляхом пригнічення активності ГД або гомосеринкінази (ГК). Для інтенсифікації синтезу лізину необхідно в першу чергу усунути пригнічення АК [1, 2, 7]. Цього досягали завдяки зниженню внутрішньоклітинного вмісту треоніну або ж генетичною зміною АК, що полягала в десенсибілізації до дії лізину та треоніну. Більшість промислових продуцентів це ауксотрофні або регуляторні мутанти. Вони не чутливі до впливу лізину та треоніну, і умовно розділені на основні класи мутантів, що продукують лізин [1]:

- ауксотрофи за гомосерином з відсутністю активності ГК;
- ауксотрофи за треоніном з відсутністю активності ГД;
- метіонін — чи треонінчутливі мутанти з низькою активністю ГД;
- резистентні мутанти до антиметаболітів лізину (найбільш вживаний S-(2-аміноетил)-L-цистеїн) або ж регуляторні, у яких АК нечутлива до ретроінгібування;

- ауксотрофи за лейцином;
- інші аналогорезистентні мутанти.

Найвищий рівень накопичення лізину (коефіцієнт конверсії глюкози складає 30-40%) мають ауксотрофи за гомосерином або лейцином [7, 16, 17].

Генетичне блокування ГД зупиняє у таких мутантів синтез треоніну та дозволяє, шляхом обмеження вмісту треоніну в середовищі, зняти пригнічення АК. За рахунок повного дефекту ГД спільні попередники лізину та треоніну витрачаються тільки на синтез лізину [18–21].

Ауксотрофи за треоніном та метіоніном, з генетичним блокуванням гомосеринкінази (ГК), продукують менше лізину та одночасно накопичують гомосерин із збереженням активності ГД [18].

Продуценти лізину *Brevibacterium flavum* мають знижену активність ГД (в 20–50 разів), проте це забезпечує потребу клітин у гомосерині. Особливий фенотип цих мутантів зумовлений властивостями ГД. Ріст продуцентів на мінімальному середовищі пригнічується у присутності високих концентрацій треоніну чи метіоніну внаслідок голодування за однією з цих амінокислот, що викликає пригнічення активності ГД треоніном чи репресією синтезу ГД метіоніном. Метіонін— чи треонінчутливі мутанти продукують лізин з концентрацією 20 г/дм³ на середовищах з глюкозою [1, 19].

Показано [13, 18–21], що аналогорезистентні мутанти синтезують лізин внаслідок генетичної зміни АК, яка стала не чутливою до дії лізину та треоніну. Аналогорезистентні мутанти, які мають тільки змінену АК продукують лізин з концентрацією 15 г/дм³ на середовищі з глюкозою. Мутанти стійкі до штучного пригнічувача аспартаткінази S-(2-аміноетил)-L-цистеїну (аналогу лізину), у яких вихід лізину досягає 33 г/дм³, синтезують фермент у 100 разів менш чутливий порівняно з вихідним штамом.

Регуляторні мутанти отримують за допомогою трансдукції, здійснюючи при цьому відбір спочатку окремих мутантів з розбалансованим механізмом регуляції. В результаті, у одного штаму послідовно закріплюється стійкість до кількох аналогів [5, 18, 20–22].

Характерною особливістю продуцентів є здатність до перетворення проміжної ланки лізину піперидин-2,6-дикарбоксилату до діамінопімелату двома шляхами. Перший шлях складають три реакції за участю сукциніл-амінокетопімелату, та сукциніл-амінопімелату, другий шлях — одна реакція з участю діамінопімелат дегідрогенази. Розподіл потоку за цими двома шляхами регулюється присутністю іонів амонію та біотину в середовищі, за допомогою ферментів, що кодували гени *mgo*, *pus*, *dap* [7, 9, 21].

«Потоком» від аспартату до лізину, керували аспартаткіназа (зворотний зв'язок) та дигідропіколінатсинтаза. Отримано мутанти з підвищеним синтезом лізину, у яких виявили посилену дію вказаних ферментів (гени *lys C* та/або *dapA*) [10, 13, 20, 21].

Підвищення біосинтезу лізину зумовлено ауксотрофними мутаціями, які блокують один з етапів синтезу треоніну та спрямовують процес на утворення лізину.

З метою розширення виробництва амінокислот та підвищення економічної ефективності технологій, розроблено та впроваджено способи, збільшення виходу цільової амінокислоти [2, 4]. Інтенсифікація біосинтезу здійснюється як використанням високопродуктивних штамів [2, 4, 5], так і біотехнологічними заходами (розширенням спектру використання субстратів, оптимізацією умов культивування, вдосконаленням масообмінних процесів та технологічного обладнання) [2, 11, 12, 23–25]. Шляхи інтенсифікації біосинтезу лізину представлено на рис. 2.

Сировиною для одержання лізину зазвичай є м'яса, сахароза, сульфат амонію, фосфати, кукурудзяний екстракт [2–4]. Штами-продуценти лізину використовують як субстрат окремі хімічні сполуки, природні полімери та відходи харчових і сільськогосподарських виробництв [2, 4, 18].

Використання в технології лізину ауксотрофних мутантів також пов'язано з інтенсифікацією біосинтезу. Це стосується, в першу чергу, складу поживних середовищ та умов культивування, які індивідуально підбирали для кожного нового штаму [4, 5, 19].

Для підвищення синтезу лізину суттєвим є процес забезпечення стабілізації основних параметрів культивування на стадії ферментації, оскільки вихід цільової амінокислоти залежить від температури середовища, інтенсивності аерації, тривалості ферментації, дози та віку інокуляту [2, 4, 18], а також від наявності біологічно активних речовин (БАР) у середовищі культивування штамів-продуцентів [2, 4].

Окрім джерел вуглецю, азоту та фосфору у середовище вносили як ростовий фактор та джерело БАР кукурудзяний екстракт (1,2–1,5% за сухою речовиною). Дослідження [18, 21] показали, що за наявності в се-



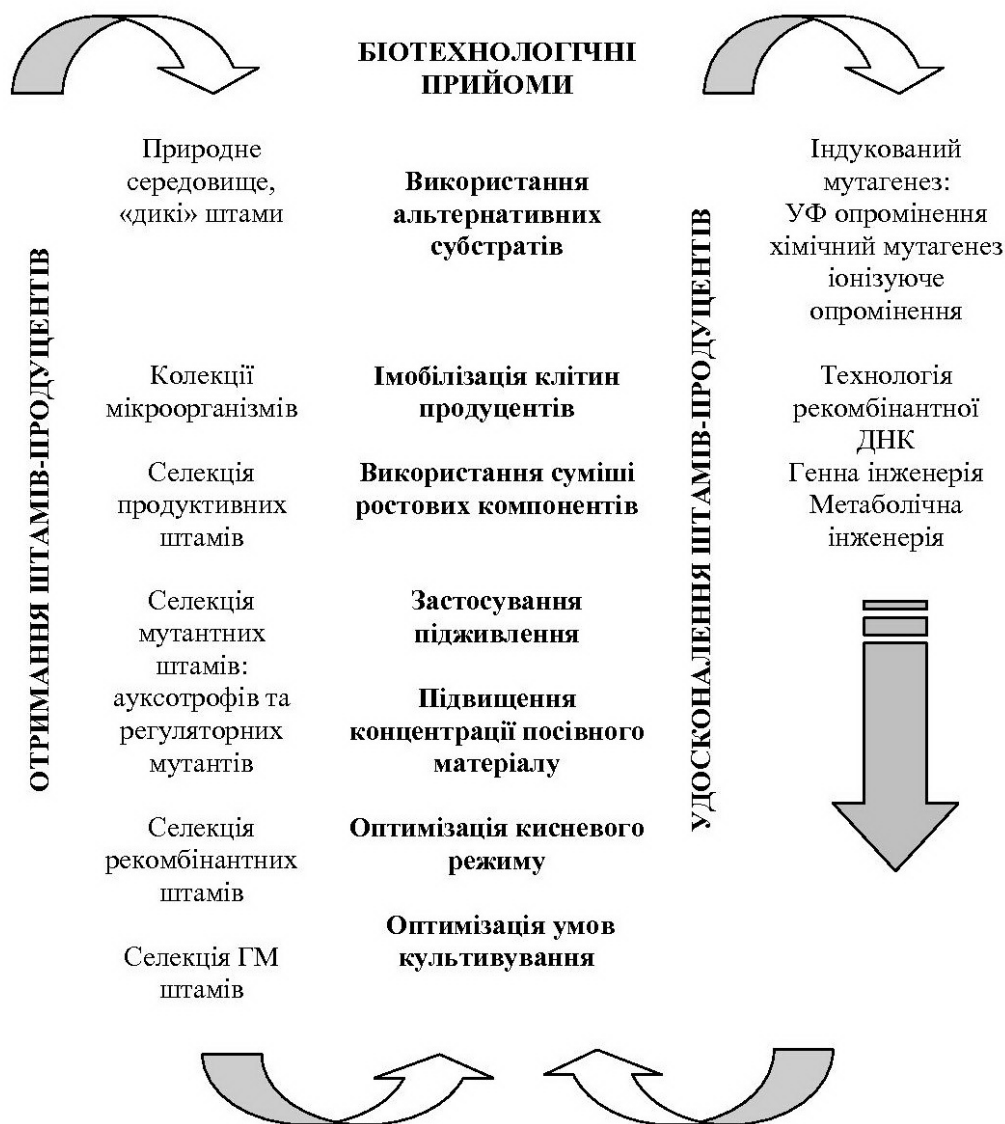


Рис.2. Шляхи інтенсифікації біосинтезу лізину

Fig.2. The ways to intensify the biosynthesis of lysine

редовищі метіоніну, треоніну та біотину з концентрацією 15–20 мкг/дм³, штам-продуцент синтезував лізин. При зменшенні концентрації біотину (7–13 мкг/дм³) у культуральній рідині накопичувалась глютамінова кислота. При зниженні вмісту біотину до 2,5 мг — утворювалась молочна кислота.

Оптимальним співвідношенням вуглецю та азоту в середовищі було 11:1, при збільшенні частки вуглецю (зсув вліво) вихід лізину знижувався, а при зменшенні частки азоту (зсув вправо) — накопичувався аланін.

Рівень аерації (повітря/середовище) за хвилину складав 1:1 (v/v). При зменшенні аерації утворювалась молочна кислота [22].

На першу добу ферментації за періодичних умов продуценти використовували до 25% цукрів і при цьому накопичували біомасу. Далі, на тлі зниження швидкості росту, клітини активно синтезували лізин. Для стабілізації рН періодично проводили титрування 25%-м розчином аміаку. При додатковому дробному внесенні цукру та азоту (підживлення) отримували підвищений вихід лізину. Такими технологічними заходами досягали кінцевих концентрацій лізину 40 г/дм³, а залишкова концентрація цукру складала 0,5–1,0 г/дм³ [19].

Одним із способів підвищення синтезу лізину є застосування підживлення (внесення додатково меляси) в процесі періодичної ферментації штаму *Brevibacterium sp.* та збільшення дози посівного матеріалу [2, 18].

У промисловому виробництві лізину відходи цукрового і крохмалепатокового виробництв було замінено на синтетичну оцтову кислоту [18]. В зв'язку з токсичністю ацетату для продуцента необхідно було поступове надходження ацетату у культуральну рідину, при цьому концентрація його в середовищі не повинна була перевищувати 2%. Додаткове внесення цукру (1%) у ферментаційне середовище підвищувало вихід лізину на 30–50%, коефіцієнт конверсії ацетату складав 27%. Концентрація лізину при цьому досягала 40–50 г/дм³ [18,19].

Мутантні штами *B. flavum*, здатні на ацетатному середовищі забезпечити вихід лізину до 73 г/дм³ [18]. За однакових параметрів культивування одержано вдвічі більше лізину при використанні оцтової кислоти, ніж при використанні меляси [19].

Підвищення концентрації лізину у КР (до 16,6 г/дм³) відмічено у штаму-продуценту *B. flavum*, (ауксотроф за гомосерином, стійкий до дії S-(2-аміноетил)-L цистеїну) при внесенні у середовище 2% диметилсульфоксиду. Інтенсифікація синтезу у цього мутантного штаму відмічена вже через 28 годин після початку ферментації [26]. Для підвищення синтезу використовували інтенсивне перемішування або збагачене киснем повітря [27].

Підвищення концентрації лізину до 58 г/дм³ отримано при культивуванні мутантного штаму, резистентного до S-(2-аміноетил)-L-цистеїну, залежного від гомосерину і лейцину та чутливого до 2-фторпірувату натрію [18].

Використання мутантів *Corynebacterium glutamicum 9366–AEC/100*, гомосеринзалежних і стійких до S-(2-аміноетил)-L-цистеїну, гідроксамату лізину дає вихід лізину в кількості 35 г/дм³ [5, 23, 24].

Штами-продуценти *Brevibacterium sp.*, іммобілізовані на кульках з гелю альгінату на середовищі з глюкозою протягом 120 годин синтезували лізин у концентрації 60 г/дм³ [28].



Мутантний штам *Brevibacterium sp.* 90 накопичував 65 г/дм³ лізину за 72 години культивування в лабораторних умовах та до 56 г/дм³ за 60 годин в промислових умовах. Конверсія цукру складала 45–49%. [18].

Максимальний рівень синтезу лізину досягнуто за умов безперервного культивування мутантного штаму *Corynebacterium glutamicum* В–6 (до 105 г/дм³) [29].

З метою інтенсифікації біосинтезу лізину розроблено генно-інженерні методи отримання надпродуцентів амінокислот з використанням *E. coli* [7, 30–33]. Такі надпродуценти за промислових умов виявилися не стійкими і не давали підвищеного виходу цільових амінокислот [2, 18, 19].

Таким чином, визначення метаболічних шляхів, шляхів регулювання біосинтезу [34], оптимальних параметрів культивування [2, 4, 35–37], уможливають інтенсифікацію мікробіологічного синтезу лізину.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1 Андріяш Г.С., Заболотна Г.М., Шульга С.М. Ауксотрофність продуцентів лізину *Brevibacterium sp.* // К.: Біотехнологія. — 2012. — том 4, № 1 — С. 70–77.

2 Пирог Т.П., Ігнатова О.А. Загальна біотехнологія: Підручник. — К.: НУХТ, 2009. — 336 с.

3. <http://www.biotechnolog.ru>.

4. Підгорський В.С., Іутинська Г.О., Пирог Т.П. Інтенсифікація технологій мікробного синтезу. — К.: Наук. думка. — 2010. — 328 с.

5. A. Haleem Shah, Hameed A., Saeed ur Rehman, A. Hamid Jan Nutritional and Mutational Aspects of Lysine Production by *Corynebacterium glutamicum* Auxotrophs // Pakistan J. Zool. — 2012. — V. 44, № 1 — P. 141–149.

6. Ikeda M., Ohnishi J, Hayashi M., Mitsushashi S. A genome based approach to create a minimally mutated *Corynebacterium glutamicum* for efficient L-lysine production // J. Ind. Microbiol. Biotechnol. — 2006. — V. 33. № 7 — P. 610–615.

7. Koffas Mattheos, Stephanopoulos Gregory Strain improvement by metabolic engineering: lysine production as a case study for systems biology // Current Opinion in Biotechnology.— 2005.— 16. — P. 361–366.

8. Ohnishi J, Mitsushashi S, Hayashi M, Ando S, Yokoi H, Ochiai K, Ikeda M A novel methodology employing *Corynebacterium glutamicum* genome information to generate a new L-lysine— producing mutant // Appl Microbiol Biotechnol. —2002.— №58. — P. 217–223.

9. Sindelar Georg, Wendisch Volker F. Improving lysine production by *Corynebacterium glutamicum* through DNA microarray-based identification of novel target genes //Appl Microbiol Biotechnol. — 2007. — № 76. — P. 677–689.



10. Eggeling L., Oberle S., Sahm H. Improved l-lysine yield with *Corynebacterium glutamicum* : use of *dapA* resulting in increased flux combined with growth limitation // Appl. Microbiol. and Biotechnol. — 1998. — 49. — С. 24–30.
11. Abdul Haleem Shah, Abdul Jabbar Khan Direct Fermentative Production of Lysine // J. Chem. Soc. Pak. — 2008. — V. 30, № 1.— P. 158–164.
12. Savas Anastassiadis L-Lysine Fermentation // Recent Patent on Biotechnology. — 2007.— №1. — P. 11–24.
13. Hartmann Michael, Tauch Andreas, Eggeling Lothar, Bathe Brigitte, Mockel Bettina, Puhler Alfred, Kalinowski Jorn Identification and characterization of the last two unknown genes, *dapC* and *dapF*, in the succinylase branch of the L-lysine biosynthesis of *Corynebacterium glutamicum* // Journal of Biotechnology. — 2003. — V. 104.— P. 199–211.
14. Hayashi M, Mizoguchi H, Ohnishi J, Mitsuhashi S, Yonetani Y, Hashimoto S, Ikeda M. A *leuC* mutation leading to increased L-lysine production and rel-independent global expression changes in *Corynebacterium glutamicum* // Appl Microbiol Biotechnol. — 2006. — 72(4), № 10. — P. 783–789.
15. Ohnishi J, Katahira R, Mitsuhashi S, Kakita S, Ikeda M. A novel *gnd* mutation leading to increased L-lysine production in *Corynebacterium glutamicum* // FEMS Microbiol Lett. 242.— 2005. — V. 1, № 15. — P. 265–274.
16. Verte's Alain A., Inui Masayuki, Yukawa Hideaki Manipulating *Corynebacteria*, from individual genes to chromosomes // J. Appl. environ. microbiol. — 2005. — V. 71, № 12. — P. 7633–7642.
17. Kalinowski J, Bathe B, Bartels D, Bischoff N, Bott M, Burkovski A. The complete *Corynebacterium glutamicum* genome sequence and its impact on the production of L-aspartate-derived amino acids and vitamins // J Biotechnol. — 2003.— № 104.— P. 5–25.
18. Жданова Н.И. Современные тенденции развития селекционных работ с продуцентами аминокислот / под ред. проф. Дебабова В.Г. сб. Генетика пром. микроорганизм. и биотехнология. — М.: Высш. шк., 1990. — С. 14–31.
19. Дебабов В. Г., Лившиц В.А. Современные методы создания промышленных штаммов микроорганизмов. — М.: Высш. шк. — 1988. — 208 с.
20. Толмачев О.Э., Ивановская Л.В., Гусятинер М.М. Получение мутаций в генах аспараткиназы *Corynebacterium glutamicum* с использованием космидного вектора и специфического фагоустойчивого мутанта *Brevibacterium flavum* // М.: Генетика. — 1993. — т. 29, № 8. — С. 1246–1255.



21. *Передельчук М.Ю., Буканов Н.О., Смирнов Ю.В.* и др. Клонирование генов *asd* и *lysC Corynebacterium glutamicum* // М.: Молекул. генет., микробиол. и вирусол. — 1992. — № 5/6. — С. 25–27.

22. *Yetti Muluati Iscandar, Pudjiraharti S.* Strain improvement of *Brevibacterium sp* ATCC 21866 for L-lysine production using ultra violet irradiation // Technology Indonesia.— 2004. — № 27. — P. 9–16.

23. *Abdul Haleem Shah, Abdul Hameed, Gul Majid Khan* Fermentative Production of L-Lysine // Bacterial Fermentation Journal of Medical Sciences. — 2002.— № 2, 3.— P. 152–157.

24. *Wittmann Christoph, Heinzle Elmar* Application of MALDI-TOF MS to lysine-producing *Corynebacterium glutamicum* // Eur. J. Biochem. — 2001.—268. — P. 2441–2455.

25. *Plachy J.* Lysine production by auxotrophic — regulatory mutants of *Corynebacterium glutamicum* // Acta biotechnol. — 1989. — 9, № 3. — С. 291 — 293.

26. *Zhong Zhu Xiao, Gong C.S., Tang Ren Tian* Effect of dimethyl sulfoxide on L — lysine production by a regulatory mutant of *Brevibacterium flavum* // Can. J. Microbiol. — 1989. — 35, № 6. — С. 668–670.

27. *Вальгер Е.И., Несиневич Л.С., Емельянов В.М., Рындовская Ю.Л.* и др Интенсификация процесса биосинтеза лизина с использованием переносчиков кислорода // 14 Менделеев. съезд по общ. и прикл. химии: сб. Реф. докл. и сообщ. М.: — 1989. — Т. 2. — С. 186.

28. *Moncef Nasci, Abdelhafidh Dhouib, Fathi Zorquani, Habib Kriaa, Radouan Ellour* Production of lysine by using immobilized living *Corynebacterium sp.* cells // Biotechnol. Lett. — 1989. — 11, № 12. — С. 865–870.

29. *Toshiko Hirao, Tetsuo Nakan, Tomoki Asuma, Masahiro Sugimoto, Nakanishi Toshihide* L-lysine production in continuous culture of a lysine hyperproducing mutant of *Corynebacterium glutamicum* // Appl. Microbiol. and Biotechnol. — 1989. — 32, № 3. — С.269 — 273.

30. *Патент RU (11) 2207376 (13) С2№ 2027621.* Способ получения L-аминокислоты методом ферментации, штамм бактерии *Escherichia coli*— продуцент L-аминокислоты (варианты) /Гусятинер М.М.; Козлов Ю.И.; Птицын Л.Р.; Альтман И.Б.; Ворошилова Э.Б.; Йомантас Юргис Антанас Владович; Ямпольская Т.А. опубл. 2003.—06.—27.

31. *Wendisch Volker F, Bott Michael, Eikmanns Bernhard J* Metabolic engineering of *Escherichia coli* and *Corynebacterium glutamicum* for biotechnological production of organic acids and amino acids // Current Opinion in Microbiology.— 2006.— P. 268–274.

32. *Schafer A., Tauch A., Jager W. et all* Small mobilizable multi-purpose cloning vectors derived from the *Escherichia coli* plasmids pK18 and pK19: selection of defined deletions in the chromosome of *Corynebacterium glutamicum* // Gene. — 1994. — 145. — С. 69–73.



33. Kirchner O., Tauch A. Tools for genetic engineering in the amino acid-producing bacterium *Corynebacterium glutamicum* // J. of Biotechnol. — 2003.— №104.— P. 287–299.
34. Andriiash G., Zabolotna G., Shulga S. Study of strains *Brevibacterium* as producer of lysine // New Biotechnology, Abstract book 15th European congress on biotechnology, September 2012, Istanbul, Turkey. — 2012. — V. 29, Is. S. — P. 557.
35. Шульга С.М., Ткаченко А.Ф., Тигунова О.О., Бейко Н.Е., Андрияш Г.С. Интенсифікація біосинтезу треоніну штамом *Brevibacterium flavum* ТН-7//К.: Біотехнологія. — 2011. — том 4, № 5. — С. 97–103.
36. Шульга С.М., Ткаченко А.Ф., Тигунова Е.А., Бейко Н.Е., Хоменко А.И. Влияние компонентов энзиматической среды на биосинтез триптофана // К.: Біотехнологія. — 2011. — Т. 4, № 3. — С. 51–55.
37. Ganguly S., Banik A.K. Optimization of physical conditions for the production of L-glutamic acid by a mutant *Micrococcus glutamicus* // International Journal of Pharma and Bio Sciences. — 2011. — № 22. — P. 4–6.

Стаття надійшла до редакції 05.06.2012 р.

УДК 612, 398:547.965

А.С. Андрияш, Г.М. Заболотная, С.М. Шульга

ГУ «Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины»,
ул. Осиповского, 2а, 04123, Киев, Украина, e-mail: Shulga5@i.ua

РЕГУЛИРОВАНИЕ И ПУТИ ИНТЕНСИФИКАЦИИ БИОСИНТЕЗА ЛИЗИНА

Реферат

В обзоре проанализированы пути интенсификации микробиологического синтеза лизина, который используется в производстве кормов, пищевой и фармацевтической промышленности. Представлена биохимическая схема регулирования и синтеза лизина бактериями через диаминопимелат. Показано, что повышенный синтез незаменимых аминокислот у микроорганизмов связан с определенными мутационными нарушениями регуляторного контроля биосинтеза. Отражены технологические способы повышения биосинтеза лизина. Указано, что за счет технологических приемов биосинтез лизина достигал уровня 30–50 г/дм³, а штаммы-мутанты в сочетании с биотехнологическими приемами производили 50–70 г/дм³ и обеспечивали 40% конверсию субстрата в аминокислоту.

Ключевые слова: ауксотрофность, биосинтез, интенсификация, лизин, продуцент.



УДК 612, 398:547.965

G.S. Andriiash, G.M. Zabolotna, S.M. Shulga

State organization «Institute of Food Biotechnology and Genomics»
of NASU, 2a, Osipovskogo str., 04123, Kyiv, Ukraine, e-mail: Shulga5@i.ua

REGULATION AND INTENSIFICATION WAYS OF LYSINE BIOSYNTHESIS

Summary

There were analysed in the review the ways of intensification of the microbiological synthesis of lysine, used in the production of food, feed and pharmaceutical industries. The biochemical synthesis scheme of lysine by bacteria through diaminopymelat and its regulation was examined. It was shown that increased synthesis of amino acids in microorganisms was associated with specific mutation disruption of regulatory control of biosynthesis. The technological ways of improvement of lysine biosynthesis were represented. It was shown lysine biosynthesis reached the level of 30–50 g/dm³ due to the technological methods and mutant strains in combination with the biotechnological techniques produced 50–70 g/dm³ and provided 40% conversion of the amino acid substrate.

Key words: auxotrophy, biosynthesis, intensification, lysine, producer.

