

The influence of ferric (III) citrate on ATP-hydrolases of *Desulfuromonas acetoxidans* IMV B-7384

Досліджено вплив різних концентрацій ферум (III) цитрату на АТФ-гідролази *Desulfuromonas acetoxidans* IMV B-7384 протягом чотирьох діб культивування. Показано, що питома АТФ-гідролазна активність *D. acetoxidans* IMV B-7384 змінюється залежно від тривалості культивування та концентрації солі металу. Внесення ферум (III) цитрату у відносно низьких концентраціях (10-12 мМ) спричиняє зростання питомої АТФ-гідролазної активності клітин *D. acetoxidans* IMV B-7384, порівняно з контролем. За збільшення концентрації солі металу питома АТФ-гідролазна активність *D. acetoxidans* IMV B-7384 інгібується. Зі збільшенням тривалості культивування питома АТФ-гідролазна активність знижується. Внесення ферум (III) цитрату у середовище культивування спричиняє зростання Na^+ , K^+ -АТФ-азної активності одночасно з інгібуванням активності Mg^{2+} -АТФ-гідролази протягом чотирьох діб культивування.

Зміни активності АТФ-гідролаз можуть бути індикатором стресорного впливу, наприклад, токсичності важких металів.

Исследовано влияние различных концентраций феррум (III) цитрата на АТФ-гідролазы *Desulfuromonas acetoxidans* ИМВ В-7384 в течение четырех суток культивирования. Показано, что удельная АТФ-гідролазная активність *D. acetoxidans* ИМВ В-7384 изменяется в зависимости от продолжительности культивирования и концентрации соли металла. Внесение феррум (III) цитрата в относительно низких концентрациях (10-12 мМ) приводит к росту удельной АТФ-гідролазної активності клеток *D. acetoxidans* ИМВ В-7384, по сравнению с контролем. При увеличении концентрации соли металла удельная АТФ-гідролазная активність *D. acetoxidans* ИМВ В-7384 ингибируется. С увеличением продолжительности культивирования удельная АТФ-гідролазная активність активність снижается. Внесение феррум (III) цитрата в среду культивирования приводит к росту Na^+ , K^+ -АТФ-азной активності одновременно с ингибированием активності Mg^{2+} -АТФ-гідролазы в течение четырех суток культивирования.

Изменения активності АТФ-гідролаз могут быть индикатором стрессорного воздействия, например, токсичності тяжелых металлов.

Desulfuromonas acetoxidans obtains energy for growth by the complete oxidation of organic compounds with carbon dioxide formation under anaerobic conditions. It was investigated that ferrum and manganese can be used as terminal electron acceptors in the processes of anaerobic respiration, such as dissimilative Fe^{3+} - and Mn^{4+} -reduction, carried out by these bacteria [2]. *D. acetoxidans* IMV B-7384 can be used as anode biocatalyst in microbial fuel cell with high electron recovery through acetate oxidation to the electric current as a result of electron transfer to the anode or 3d-type transition metals, such as ferrum and manganese, in the process of their reduction [4]. Investigation of changes of biochemical parameters of *D. acetoxidans* IMV B-7384 under the influence of Fe (III) compounds is important for optimization of the process of electricity generation by these bacteria.

ATP-hydrolase is located in cytoplasmic membrane, and its subunits are exposed to both the cytoplasm and the external environment. Therefore, the changes of this enzyme activity can be used as an indicator of various stress exposure. Presence of ferric iron ions in the bacterial growth medium could catalyze generation of organic reactive oxygen species, such as peroxy (ROO^\cdot) and alkoxy (RO^\cdot) radicals. Lipid peroxidation is one of the main reasons of cell damage and its following death under the influence of reactive oxygen metabolites. It is known that lipid peroxidation and membrane transport processes are somehow interrelated, but mechanisms of such interaction are still unidentified. In our previous researches we have shown the influence of ferric

(III) citrate on the intensity of lipid peroxidation of *D. acetoxidans* IMV B-7384 [3]. Significant increase of the content of lipid peroxidation products (lipid hydroperoxides, conjugated dienes and malondialdehyde) in bacterial cells has been observed under the addition of ferric (III) citrate into the cultural medium. The increase of the concentration of lipid peroxidation products in bacterial cells confirms free radical mechanism of oxidation of polyunsaturated fatty acids. Thus, for fulfilling complete analyses of cell response against oxidative stress it was reasonable to investigate the influence of ferric(III) citrate on specific ATP-hydrolase activity, Na⁺,K⁺-ATP-hydrolase activity and Mg²⁺-ATP- hydrolase activity of *D. acetoxidans* IMV B-7384.

Bacteria were cultivated in the modified Postgate C medium during four days under the anaerobic conditions and temperature +27°C with addition from 10 to 20 mM of ferric (III) citrate into the growth medium. Control samples didn't contain investigated metal salt. Chosen concentrations of metal salt caused inhibition of bacterial growth by 20-50%. Activities of ATP-hydrolases were investigated as described [1].

It was shown, that specific ATP-hydrolase activity of *D. acetoxidans* IMV B-7384 is changing in dependence on duration of ferric (III) citrate exposure and concentration of metal salt. Addition of ferric (III) citrate in relatively low concentrations (10 – 12 mM) causes increasing of specific ATP-hydrolase activity of *D. acetoxidans* IMV B-7384 in comparison with control. Activity of investigated enzymes was inhibited under the increasing of metal salt concentration in bacterial growth medium. Increase of duration of *D. acetoxidans* IMV B-7384 cultivation causes decrease of ATP-hydrolase activity. Addition of ferric (III) citrate causes simultaneous increasing of Na⁺, K⁺-ATP-hydrolase activity and inhibition of Mg²⁺- ATP- hydrolase activity during four days of bacterial cultivation.

1. Данилович Г. В. Ідентифікація та каталітичні властивості Mg²⁺-залежної АТФ-гідролази цитоплазматичної мембрани *Bacillus sp* B4253, здатних до накопичення золота / Г. В. Данилович, Т. Г. Грузіна З. Р. Ульберг С. О. Костерін // Укр. біохім. журн. – 2004. – Т.76, № 5. – С. 45–51.
2. Lovely, D., Holmes, D, Nevin, K. Dissimilatory Fe (III) and Mn (IV) reduction / D. Lovely, D. Holmes, K. Nevin // *Advances in microbial physiology* – 2004. – Vol. 49. – P 246-259.
3. Maslovska, O. Hnatush, S. The influence of ferric (III) citrate on the intensity of lipid peroxidation and activity of antioxidative system of *Desulfuromonas acetoxidans* // Proc. 5th Ukrainian-Polish Weigl Conference. Chernivtsi, Ukraine, 2013. – P. 46.
4. Vasylyv, O., Bilyy, O., Ferensovich, Ja., Hnatush, S. Electric current generation by sulfur-reducing bacteria in microbial-anode fuel cell // Proc. SPIE. San-Diego, USA, 2012. Vol. 8472. – P. 84720Z-1-7.