

М. А. ТЕР-КАРАПЕТЯН, С. М. ИНДЖИКЯН, С. В. ЧУБАРЯН

ОБМЕН АМИНОКИСЛОТ У ДРОЖЖЕЙ РОДА *CANDIDA*

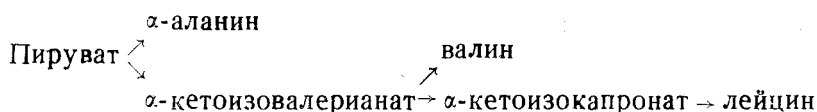
1. Усвоение азота и углерода аминокислот группы α -аланина

Из аминокислот, являющихся источником питания для дрожжевых организмов, особый интерес представляет группа α -аланина, включающая в себя α -аланин, валин и лейцин.

Объединение этих аминокислот в единую группу основывается на том, что углеродный скелет α -аланина (или пировиноградной кислоты) питательной среды служит одновременно кирпичиком—предшественником для синтеза α -аланина, валина и лейцина в развивающихся клетках.

Такая точка зрения опирается на результаты исследований, проведенных на трех микроорганизмах, принадлежащих к разным видам, а именно: *E. coli*, *N. crassa* и *S. utilis* при их аэробном выращивании в присутствии глюкозы в качестве источника углерода, и α -аланина, меченного по углероду (с C^{14}) в качестве источника азота. Пируват, α -кетонизовалерианат, α -кетонизокапрокат, валин и лейцин, содержащие стабильный изотоп углерода— C^{12} , введенные в этих условиях в среду, конкурируют с C^{14} α -аланином при включении последнего в биосинтетические реакции, образующие запасной фонд.

Полученные данные обобщены в схеме, показывающей пути превращения углеродного скелета этих аминокислот [7, 8, 11, 13]:



Однако указанные работы освещают лишь один аспект обмена аминокислот, именно, пути включения их углеродного скелета, являющегося побочным источником углерода в присутствии глюкозы—основного источника углерода среды. Следует указать, что эти исследования оставляют в стороне и другую, не менее важную сторону вопроса, как включение аминной группы отдельных аминокислот, служащих единственным источником азота.

Согласно методике, применяемой в цитированной литературе, анализу подвергались гидролизаты цельной биомассы дрожжей, образуемых во время опытов. Полученные данные выражают только суммарный эффект и не дают представления о первичных этапах включения α -аланина в обменные процессы клеток. Эти данные не раскрывают также механизма реакций переноса аминной группы аланина на α -кетонизовалерианат, α -кетонизокапрокат и др. кетокислоты, являющиеся исходным угле-

родным субстратом для синтеза аминокислот запасного фонда дрожжевых клеток. Наконец, вышеупомянутые работы не указывают на возможность обратимости реакций взаимопревращения в группе α -аланин-валин-лейцин.

В связи с этим может вызвать сомнение существование в пределах одного и того же организма коррелятивной связи между включением в обмен и взаимопревращением углеродного скелета отдельных аминокислот, с одной стороны, и включением и усвоением их аминной функциональной группы—с другой. Изучение такой взаимосвязи является основной целью настоящей работы, а именно, если за основу сравнения взять включение не углеродного скелета аланина, валина и лейцина, а аминного азота последних, то возникает вопрос, действительно ли принадлежность данных аминокислот к одной и той же группе (или семейству).

Работа преследует также цель определить отношение отдельных представителей (виды, разновидности, штаммы) одного и того же рода *Candida* к аминокислотам группы α -аланина, что позволит нам выявить существование межвидовой и внутривидовой специфичности в процессах расщепления и включения углеродных и азотистых составных частей молекулы аминокислот.

Несмотря на многочисленные работы, проведенные по изучению усвоения природных аминокислот у множества родов и видов дрожжей, до настоящего времени нет ясных представлений о механизме этого процесса. Основная причина в следующем: методика, применяемая при оценке отдельных аминокислот в качестве источников питания (азота и углерода), основана на недостаточном числе показателей (рост биомассы) без учета роли аминокислот в других аспектах жизнедеятельности дрожжей.

Для разрешения последнего ряда задач наши исследования проводились на представителях дрожжей рода *Candida*, из которых два по двум штаммам от каждого, а критерием оценки аминокислот являлись: расщепление глюкозы, интенсивность дыхания, показатели синтеза биомассы, накопление азотистых соединений в биомассе суммарно и некоторых аминокислот в запасном фонде и др.

Методика. Объектом исследования служили культуры: *C. guilliermondii* № 71, *C. guilliermondii membranaefaciens* № 72, *C. utilis* № 106, *C. chevalieri* № 66, *C. arborea* № 64, *C. pulcherrima* № 95, *C. tropicalis* DH—3, *C. tropicalis* K3—10, полученные из отдела типовых культур Института микробиологии АН СССР (проф. В. И. Кудрявцев).

Культуры выращивались на синтетической основной среде (ОС) следующего состава на 1 литр водопроводной воды: глюкоза—10 г, KH_2PO_4 —1,23 г, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ —0,625 г, $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ —0,125 г, NaCl —0,125 г, тиамин—500 мкг (для *C. utilis*) и биотин—8 мкг (для всех других культур, кроме *C. chevalieri*, являющейся ауксоавтотрофной).

ОС дополнялась одним из следующих источников азота, вносимых в количествах (г/л), равных по азоту: сульфата аммония (контрольная среда)—3,10, α -аланин—4,24, валин—5,57, лейцин—6,24. Эти количества полностью обеспечивают потребности в азоте биомассы дрожжей ожидаемого от 10 г глюкозы; кроме того, углеродный скелет аминокислот может служить побочным источником углерода.

Все ингредиенты среды перекристаллизовывались, чистота аминокислот проверялась хроматографически. рН среды доводилась до 5,5. Посевным материалом служила культура, выращенная в жидкой синтетической среде и подвергнутая голоданию в 1 или 2% растворе глюкозы, до полного расхода последней.

Опыты первой серии длились 18—27 час., что соответствовало в большинстве случаев сроку расщепления $90\% \pm 10$ глюкозы в контрольном варианте с сульфатом аммония, во второй серии они продолжались до ее расщепления свыше 75% в каждом варианте.

Инкубация культур проводилась в термокамере при $30^\circ \pm 1^\circ\text{C}$, в условиях интенсивного аэрирования на круговой качалке (200 об/мин.).

Оценка полученных результатов проводилась следующими методами: глюкоза—микрометодом феррицианида, азот—микрометодом Кьельдаля. Полученная биомасса определялась как по весу в абсолютно сухих дрожжах, так и по экономическому коэффициенту

$\left(\frac{\text{синтезированная биомасса}}{\text{расщепленная глюкоза}} \times 100 \right)$, дыхание клеток с помощью аппарата Варбурга, аминокислоты — методом хроматографии на бумаге.

Влияние аминокислот на расщепление глюкозы. Результаты исследований приведены в табл. 1.

Таблица 1
Расщепление глюкозы при усвоении аминокислот группы α -аланина

Дата опытов	Продолжительность инкубации в час	Заданная глюкоза в мг	Расщепленная глюкоза							
			NH_4^+		α -аланин		лейцин		валин	
			в мг	в %	в мг	в %	в мг	в %	в мг	в %
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11

C. guilliermondii

22.XI 61 г.	21	482	472	98	185	38	50	10	45	9
1.XI 62 г.	22	940	825	88	405	43	144	15	136	14
16.XII 64 г.	27	1055	765	72	310	29	130	12	140	13
	33		—	—	988	94	—	—	—	—
	39		—	—	—	—	587	56	649	61

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
<i>C. guilliermondii membranaefaciens</i>										
21.V 63 г.	25	950	944	99	334	35	595	63	262	27
1.VI 63 г.	26	930	925	99	310	33	617	66	154	17
6.IV 64 г.	26	925	919	99	130	14	727	79	110	12
	29		—	—	—	—	825	88	—	—
	37		—	—	891	96	—	—	726	78
<i>C. pulcherrima</i>										
5.VII 62 г.	25	925	497	54	285	31	221	24	180	19
17.XI 62 г.	22	935	744	80	449	48	435	42	90	12
8.XI 63 г.	26	975	945	97	487	50	550	56	150	15
	30		—	—	731	75	940	96	—	—
	39		—	—	—	—	—	—	948	97
<i>C. arborea</i>										
10.VII 62 г.	25	925	707	76	698	75	201	22	217	23
21.VII 62 г.	24	970	607	63	305	31	142	15	150	15
10.X 63 г.	23	950	941	99	659	69	322	34	290	30
	26		—	—	943	99	—	—	—	—
	31		—	—	—	—	939	99	874	92
<i>C. chevalieri</i>										
8.IX 61 г.	18*	477	414	87	302	63	37	7	0	0
11.VI 62 г.	21	970	632	65	280	29	26	3	15	1
15.VI 64 г.	23	975	965	99	706	72	205	21	15	1,5
	25		—	—	908	93	—	—	—	—
	35		—	—	—	—	968	99	—	—
	71		—	—	—	—	—	—	952	98
<i>C. utilis</i>										
3.X 62 г.	27	1015	715	74	541	53	812	80	482	47
13.X 62 г.	27	1005	480	48	475	47	687	68	417	41
1.I 65 г.	24	900	596	66	508	56	718	80	470	52
	26		—	—	—	—	886	98	—	—
	28		751	83	796	88	—	—	—	—
	30		—	—	—	—	—	—	889	99
<i>C. tropicalis</i> ДН—3										
26.VIII 62 г.	23	890	883	99	723	81	258	29	186	21
11.IX 62 г.	24	895	885	98	585	65	333	37	171	19
23.XII 63 г.	27	960	948	99	785	82	435	46	316	33
	29		—	—	915	96	—	—	—	—
	32		—	—	—	—	935	97	—	—
	33		—	—	—	—	—	—	926	96
<i>C. tropicalis</i> КЗ—10										
13.III 63 г.	25	935	593	63	380	41	443	47	387	41
22.III 63 г.	22	940	634	67	520	55	722	77	295	31
11.III 64 г.	24	950	944	99	632	66	650	68	446	47
	28		—	—	941	99	932	98	—	—
	30		—	—	—	—	—	—	932	98

* Посевная культура подвергалась голоданию в воде.

Полученные данные показывают, что в присутствии различных источников азота расщепление глюкозы у одной и той же культуры осуществляется разной динамикой; кроме того, один и тот же источник азота по-разному действует у отдельных культур.

Опыты, проведенные при кратковременной инкубации (18—27 час.), показали, что у всех исследуемых культур, за исключением *C. utilis*, аммоний наиболее интенсивно стимулирует расщепление глюкозы; однако у *C. utilis* он уступает лейцину и по эффективности незначительно превышает аланин и валин.

Среди аминокислот аланин оказался вообще наиболее активным стимулятором расщепления глюкозы, однако в этом отношении лейцин более эффективен, у *C. guilliermondii membranaefaciens*, *C. tropicalis* КЗ—10 и *C. utilis*.

Весьма интересно отметить, что по своему отношению к α -аланину и лейцину испытываемые два штамма *C. guilliermondii* ведут себя совершенно различно; также обстоит дело между двумя штаммами *C. tropicalis*.

Из исследуемых источников азота на расщепление глюкозы менее всех действует валин, который достигает активности α -аланина только у *C. tropicalis* КЗ—10. В присутствии валина, в течение относительно длинных сроков инкубации (до 20—25 час.) *C. chevalieri* не расщепляет глюкозу, после чего происходит постепенный распад, завершающийся в пределах 70 час. и выше.

При удлинении сроков инкубации усиление способности расщепления интерпретируется нами как явление адаптации, которое наиболее сильно выражено у *C. chevalieri* с валином.

Опыты, проведенные при более длительных сроках инкубации (свыше 27 час.), показали, что все применяемые соединения способствуют полному расщеплению глюкозы у всех культур.

Для пояснения вышеизложенных данных у некоторых культур было изучено влияние аминокислот группы α -аланина на поглощение кислорода, с целью установления возможной коррелятивной связи между дыханием, интенсивностью расщепления глюкозы и стимулирующим действием аминокислот.

Влияние аминокислот на дыхание дрожжевых клеток. Опыты проводились в аппарате Варбурга с *C. guilliermondii*, *C. guilliermondii membranaefaciens* и *C. chevalieri* (табл. 2).

Полученные данные показывают определенное влияние различных источников азота на дыхание дрожжевых клеток. Действие NH_4^+ и аминокислот приобретает совершенно разный характер в зависимости от присутствия или отсутствия глюкозы.

NH_4^+ в условиях отсутствия глюкозы у *C. chevalieri* слабо стимулирует дыхание, в то время как у двух других культур замечается большая стимуляция дыхания. Такие расхождения могут быть объяснены содержанием в клетках различных количеств запасных углеводов (гликоген и т. п.).

Отдельные аминокислоты по-разному стимулируют дыхание культур. У трех исследуемых штаммов α -аланин оказывает наиболее сильное действие, а лейцин и валин действуют у *C. chevalieri* в равной степени или несколько сильнее аммиака, но сравнительно слабее, чем у двух дру-

Таблица 2

Влияние различных источников азота и глюкозы на интенсивность дыхания.

В инкубационном сосудике: дрожжевая суспензия — 1 мл с содержанием 15 мг сухих дрожжей; субстрат — 33 мкМ в 0,5 мл; фосфатный буфер — М/15 0,5 мл, T° опыта — 32° ; рН среды — 5,2; число качаний — 100–120 качаний в минуту, продолжительность опытов — 2 часа

Варианты по добавкам к дрожжевой суспензии	C. chevalieri			C. guilliermondii			C. guilliermondii membranaefaciens		
	VO_2 мм ³	QO_2	стимули- рование в %	VO_2 мм ³	QO_2	стимули- рование в %	VO_2 мм ³	QO_2	стимули- рование в %
Эндогенный	234	8,2	—	293	9,2	—	332	10,7	—
Глюкоза	868	30,3	—	644	20,0	—	1130	36,0	—
NH_4^+	286	10,1	22	702	21,8	140	657	21,9	97
NH_4^+ + глюкоза	1360	44,5	57	1084	33,8	68	1700	55,1	50
α -аланин	452	15,9	93	980	30,5	234	838	27,2	152
α -аланин + глюкоза	1203	42,1	39	1121	34,9	74	1647	53,4	46
Валин	310	10,9	33	642	20,2	119	605	19,6	82
Валин + глюкоза	309	31,8	4	890	27,7	38	1441	46,7	28
Лейцин	938	11,9	44	707	22,0	140	549	17,7	65
Лейцин + глюкоза	1131	39,5	31	1011	31,5	57	1483	49,1	32

* Рассчитано в каждой серии опытов (без и с глюкозой) по соотношению к VO_2 в присутствии аминокислот или NH_4^+ и VO_2 эндогенного дыхания.

гих культур. Установленные факты частично могут быть объяснены стимулирующим действием освобожденного при дезаминировании аминокислот аммония, а также одновременным образованием соответствующих кетокислот.

Для выяснения роли каждого из этих факторов была изучена интенсивность стимулирования дыхания в присутствии одного из следующих субстратов: NH_4^+ , пируват, пируват + NH_4^+ , α -аланин соответственно эквимольного с NH_4^+ и с пируватом (табл. 3).

Полученные данные показывают, что в стимулировании дыхания (поглощение O_2 и выделение CO_2) ведущее место принадлежит ионам аммония, в то время как пируват является менее эффективным. Эти результаты могут быть объяснены дефицитом NH_4^+ в запасном фонде, возникающим вследствие длительного азотного голодания клеток.

В присутствии α -аланина происходит менее выраженное стимулирование дыхания, по всей вероятности, в силу постепенного дезаминирования аланина.

Иной характер приобретают процессы стимуляции дыхания, происходящие при наличии глюкозы. Здесь абсолютные значения VO_2 и QO_2 значительно превышают таковые, наблюдаемые в соответственных вариантах без глюкозы. В этих же условиях стимулирующий эффект источников азота значительно меньше выражен у всех культур, со всеми источниками, кроме варианта аммония у *C. chevalieri*. Максимальность стимулирующего эффекта наблюдается у *C. guilliermondii* и *C. guil-*

Таблица 3

Влияние различных источников азота и углерода на интенсивность дыхания у *C. guilliermondii*.

В инкубационном сосудике: дрожжевая суспензия — 1 мл с содержанием 8—15 мг сухих дрожжей; субстрат 33 мкМ — 0,5 мл; фосфатный буфер $M/15$ — 0,5 мл, T° опыта — 32; pH среды — 5,2; число качаний — 100—120 в минуту; продолжительность опытов — 2 часа

Варианты по добавкам к дрожжевой суспензии	Дыхание			Брожение			Дыхательный коэффициент
	V_{O_2} мм ³	Q_{CO_2}	стимулирование в %	V_{CO_2}	Q_{CO_2} мм ³	стимулирование в %	
Эндогенный	266	10,5	—	180	6,9	—	0,66
NH_4^+	713	29,4	168	444	18,2	147	0,61
Пируват	525	21,1	97	353	14,1	96	0,66
Пируват + NH_4^+	980	40,1	268	639	26,2	254	0,65
α -аланин (по C)	718	29,1	170	573	23,2	218	0,80
α -аланин (по N)	755	30,7	184	605	24,6	236	0,80
Эндогенный	164	10,9	—	123	8,1	—	0,74
NH_4^+	306	20,1	86	204	13,4	65	0,66
Пируват	276	18,3	67	186	12,3	50	0,67
Глюкоза	252	16,7	54	300	19,9	144	1,20
Пируват + NH_4^+	397	25,9	142	255	16,6	107	0,64
Глюкоза + NH_4^+	446	29,3	172	444	29,2	241	1,00

guilliermondii membranaefaciens с NH_4^+ и аланином, а у *C. chevalieri* в основном с NH_4^+ , меньше с аланином и лейцином. У последней культуры интенсивность стимулирования аланина приближается к таковой лейцина, в то время как у двух других культур лейцин уступает аланину.

У всех культур из источников азота меньше всего стимулирует дыхание валин; у *C. chevalieri* этот эффект подходит к нулю, что согласуется с фактом неусвоения этой аминокислоты в условиях проведенного опыта (табл. 1).

Некоторые данные по сравнению глюкозы и пирувата как источников углерода в присутствии или отсутствии NH_4^+ обобщены также в табл. 3.

Отмечается, что в отсутствие NH_4^+ глюкоза стимулирует поглощение O_2 в таком же порядке, как пируват, но меньше, чем NH_4^+ , что подтверждает гипотезу дефицита последнего в клетке. Однако глюкоза в своем действии значительно отличается от пирувата тем, что она служит субстратом, усиливающим аэробное брожение, в то время как пируват фактически не включается в этот процесс и, следовательно, не стимулирует его. Последнее подтверждает то обстоятельство, что в присутствии пирувата выделяется меньше CO_2 , чем при добавке NH_4^+ , стимулирующего аэробное брожение за счет эндогенных источников углерода.

В системе глюкоза + NH_4^+ происходит максимальная стимуляция процессов дыхания. Такие наблюдения сделаны и различно интерпретированы Холдзером и Ченсом на культуре *Saccharomyces cerevisiae* [9, 10]. Так как в случае глюкозы происходит стимулирование аэробного брожения, то ДК приближается к 1,0, в то время как во всех вариантах без глюкозы ДК не превышает 0,60—0,74, что указывает на расход клетками главным образом соединений кислотного ряда. В этом отношении несколько отличается аланин, вероятно, служащий источником образования в клетках соединений углеводного ряда.

В результате вышеизложенных исследований найдена определенная коррелятивная связь между степенью стимулирования дыхания и количеством расщепленного сахара (в настоящей работе данные не приведены).

Интересным фактом является низкое соотношение $\frac{\text{O}_2}{\text{глюкоза}}$ при инкубировании всех трех исследуемых культур с аланином по сравнению с NH_4^+ и другими аминокислотами, что объясняется использованием дрожжами скелета пировиноградной кислоты, полученной вследствие распада аланина, о чем свидетельствует также высокий экономический коэффициент синтеза биомассы с аланином.

Влияние аминокислот на синтез биомассы. Результаты исследований приведены в табл. 4.

Полученные данные показывают значительные расхождения между культурами по способности синтезировать биомассу при усвоении азота отдельных аминокислот.

Найденные в разных вариантах экономические коэффициенты подразделяются на три категории. Коэффициент равный или близкий к таковому, полученному при усвоении аммония, как, например, у *S. arborescens*. Этот факт интерпретируется нами как случай синтеза клеточной массы за счет осколков глюкозы без заметного участия углеродного скелета аминокислот. Однако окончательное утверждение этой гипотезы может быть сделано путем применения соединения, меченного по углероду. Коэффициент выше в присутствии аминокислот, чем в случае аммония—это можно считать признаком усвоения углеродистого скелета аминокислот. При усвоении α -аланина такая особенность выражена у всех культур, в частности у *S. guilliermondii* и у *S. pulcherrima*, что указывает на хорошую усвояемость пировиноградной кислоты. Коэффициент пониженный по сравнению с таковым, найденным при наличии аммония. Такой эффект интерпретируется как подавление усвоения углеродных осколков глюкозы углеродным скелетом аминокислот. Эти данные получены с лейцином и валином у *S. guilliermondii membranaefaciens* и *S. chevalieri*.

В настоящее время трудно высказаться о механизме последнего рода явлений: только в порядке рабочей гипотезы можно предполагать возможность конкуренции между кетопроизводными лейцина и валина,

Таблица 4

Синтез биомассы и экономический коэффициент при усвоении аминокислот группы аланина

Дата опытов	Продолжи- тельность инкубации в час	Синтезированная био- масса в мг				Экономический коэффи- циент в ‰			
		NH ₄ ⁺	α-ала- нин	лей- цин	валин	NH ₄ ⁺	α-ала- нин	лей- цин	валин
C. guilliermondii									
22.XI 61 г.	21	218	111	20	18	46	60	40	40
1.XI 62 г.	22	398	238	54	49	48	59	37	41
16.XII 64 г.	27—39	352	503	180	203	46	51	31	31
C. guilliermondii membranaefaciens									
21.V 63 г.	25	384	169	184	91	41	51	31	35
1.VI 63 г.	26	428	179	208	56	46	58	34	36
6.IV 64 г.	26—37	411	532	308	302	45	60	37	41
C. pulcherrima									
5.VII 62 г.	25	114	108	71	49	23	38	32	27
17.XI 62 г.	22	205	180	148	32	28	40	34	35
31.X 63 г.	22—30	209	288	270	200	26	35	28	30
8.XI 63 г.	26—39	204	232	274	270	22	32	29	28
C. arborea									
10.VII 62 г.	25	246	253	72	78	35	36	36	36
21.VIII 62 г.	24	211	112	50	55	35	37	35	37
19.IX 63 г.	21—29	275	269	290	248	34	36	31	34
10.X 63 г.	23—31	320	359	296	294	34	38	31	33
C. chevalieri									
8.IX 61 г.	18*	177	168	7	—	43	56	19	—
8.VI 64 г.	23—70	397	445	277	272	41	46	29	29
11.VI 64 г.	23—71	398	467	—	292	41	51	—	31
C. utilis									
3.X 62 г.	27	253	227	280	160	35	42	35	33
13.X 62 г.	27	171	195	241	149	36	41	35	36
1.I 65 г.	24—30	292	351	292	299	39	44	33	34
C. tropicalis ДН—3									
26.VIII 62 г.	23	385	348	109	79	44	48	42	43
11.IX 62 г.	24	380	294	142	79	43	50	43	46
2.XII 63 г.	25—32	317	393	348	366	46	52	39	46
23.XII 63 г.	27—33	401	481	367	395	42	53	39	43
C. tropicalis КЗ—10									
13.III 63 г.	25	274	198	181	183	46	52	41	47
22.III 63 г.	22	272	261	218	127	43	50	30	43
29.II 64 г.	24—31	428	407	328	352	44	53	34	39
11.III 64 г.	24—30	409	513	306	—	43	55	33	—

и метаболитами цикла Кребса, ведущими к синтезу важнейших аминокислот, таких, как глутаминовая, аспарагиновая и др.

Влияние аминокислот на накопление азота в синтезируемой биомассе. Данные анализов, полученные на материалах вышеуказанных опытов, приведены в табл. 5.

Таблица 5

Влияние источников азота на содержание общего и спирторастворимого азота
в мг %

Исходная культура		Источники азота							
		(NH ₄) ₂ SO ₄		α-аланин		лейцин		валин	
		общий	растворимый	общий	растворимый	общий	растворимый	общий	растворимый
<i>C. guilliermondii</i>									
4,06	0,46	6,72	1,68	7,14	1,43	5,74	1,05	5,32	1,43
3,92	0,50	6,58	1,47	7,28	1,76	5,81	1,00	5,18	0,97
—	0,46	—	1,43	—	1,62	—	0,97	—	—
<i>C. guilliermondii membranaefaciens</i>									
4,06	0,63	5,74	1,60	5,18	0,88	5,75	1,60	6,00	1,68
2,66	0,63	6,23	2,39	6,16	2,10	6,02	2,27	6,58	1,97
2,80	—	6,30	—	6,30	—	6,09	—	6,72	—
<i>C. chevalieri</i>									
5,04	0,84	7,70	1,49	6,72	1,20	7,14	1,09	5,46	0,97
5,18	—	7,84	1,51	6,24	1,18	—	1,05	5,32	0,92
<i>C. utilis</i>									
4,06	—	5,53	1,13	5,88	1,39	6,44	0,96	6,72	1,22
3,92	0,38	5,60	1,18	6,02	1,41	6,58	—	7,42	—
—	—	5,74	—	6,16	—	6,72	—	7,56	—
<i>C. tropicalis</i> ДН-3									
4,20	—	5,18	—	5,60	—	6,44	—	—	—
4,34	0,60	5,32	1,28	5,74	1,46	6,58	1,54	5,88	1,54
<i>C. tropicalis</i> КЗ-10									
3,64	—	—	—	5,74	—	6,02	—	5,60	—
3,71	0,80	5,04	0,92	5,88	0,97	6,16	1,47	5,74	0,97
<i>C. arborea</i>									
—	0,46	—	1,43	—	1,47	—	1,00	—	1,09

Полученные результаты показывают следующее: по уровню накопления азота при наличии NH₄⁺ *C. chevalieri* выгодно отличалась от всех исследуемых культур. Оба штамма *C. tropicalis* показывают низкий уровень накопления азота. Остальные культуры занимают промежуточное положение. Все приведенные данные совпадают с ранее полученными данными нашей лаборатории.

Отношение азота спирторастворимой фракции к общему составляет в основном, с некоторыми исключениями, от 17—25%. Оно очень низко у голодающих культур (10—15%), как это наблюдалось раньше [3, 6, 12].

Данные по накоплению общего азота при различных источниках азота показывают, что последние определенно влияют на уровень накопления азотистых соединений в клетках. Максимальное значение наблюдается не всегда в условиях выращивания в присутствии аммония:

у двух штаммов *C. tropicalis* и у *C. utilis* в присутствии аминокислот в клетках накапливается больше азота.

Среди исследуемых культур особенно отрицательное отношение показывает *C. utilis* к NH_4^+ , что было уже установлено при изучении и других показателей, как динамика расщепления глюкозы и синтеза биомассы. Такое свойство у штаммов *C. utilis* известно по некоторым примерам [3, 12], где показано, что NO_3^- для этих культур является лучшим источником азота.

Выявлено различное поведение отдельных аминокислот группы α -аланина в процессе накопления азота в клетках разных культур. Так, у *C. guilliermondii* α -аланин способствует большему накоплению азота по сравнению с другими аминокислотами. Наоборот, у *C. guilliermondii membranaefaciens*, *C. utilis*, у двух штаммов *C. tropicalis* лейцин и иногда валин способствуют большему накоплению азота по сравнению с α -аланином. Из последних штаммов *C. guilliermondii membranaefaciens* известен своим отрицательным поведением к α -аланину, в то время как он лучше усваивает аминокислоты с концевой NH_2 группой [1, 2]. Валин и лейцин довольно сильно подавляют накопление азота у *C. guilliermondii* и *C. chevalieri*. Последняя культура особенно отличается своим отрицательным отношением к валину как по расщеплению глюкозы, так и по накоплению биомассы в его присутствии.

Фракция спирторастворимого азота варьирует в пределах 18—32%, от общего азота между культурами: заметного влияния источников азота на его уровень у разных культур не установлено. В большинстве случаев растворимый азот снижается как в процессе голодания, так и при низкой усвояемости источника азота (в среде с валином у *C. chevalieri*).

Исследования нашей лаборатории установили ряд новых фактов, показывающих тесную зависимость состава спирторастворимых аминокислот от источников азота [1, 2, 4, 5], углерода [6], витаминов [5] и др. факторов внешней среды. В настоящей работе приводится новый пример по влиянию аминокислот группы α -аланина на образование состава спирторастворимых аминокислот у *C. guilliermondii membranaefaciens*.

Результаты исследований, приведенные в табл. 6 и на рис. 1, показывают, что отдельные аминокислоты группы аланина совершенно по-разному действуют на направленность синтеза аминокислот запасного фонда у *C. guilliermondii membranaefaciens*.

В общей сумме запасной фонд больше накапливается при наличии NH_4^+ , чем при усвоении отдельных аминокислот. Среди последних валин и лейцин более эффективны по сравнению с аланином, что соответствует и данным общего азота, изложенным в табл. 5.

По влиянию отдельных источников азота наблюдается, что NH_4^+ способствует накоплению ГАМК, глутамина (может быть и аргинина), аспарагиновой кислоты, валина и лейцина. В присутствии α -аланина в основном синтезируется глутамин и орнитин, остальные аминокислоты в значительно меньших количествах. Валин и лейцин не способствуют

Таблица 6

Аминокислотный состав запасного фонда в зависимости от источников азота.
Данные в мкг в 100 мг сухих дрожжей

Аминокислоты в запасном фонде	Исходная голодающая культура		Источники азота при выращивании							
			NH ₄ ⁺		α-аланин		лейцин		валин	
	среднее	в сумме %	среднее	в сумме %	среднее	в сумме %	среднее	в сумме %	среднее	в сумме %
Орнитин	сл.	—	сл.	—	72	1,8	сл.	—	сл.	—
Лизин	38	9,0	380	6,3	99	2,5	228	4,6	235	4,3
Аргинин+глутамин . .	сл.	—	477	8,0	378	9,5	232	4,7	186	3,4
Аспарагиновая	49	11,7	250	4,2	159	4,0	200	4,0	179	3,3
Серин	34	8,3	258	4,3	68	2,5	179	3,6	190	3,5
Глицин	58	14,0	243	4,1	99	1,7	181	3,7	148	2,7
Глутаминовая	сл.	—	108	1,8	130	3,3	96	2,0	77	1,4
Треонин	сл.	—	382	6,4	175	4,4	216	4,4	235	4,5
Аланин	86	20,7	1351	22,5	2418	60,7	916	18,5	863	15,7
ГАМК	22	5,4	173	2,9	27	0,7	99	2,0	86	1,5
Валин	64	15,4	637	10,6	167	4,2	650	13,1	2424	44,2
Лейцин	63	15,2	1734	28,9	189	4,7	1962	39,5	855	15,6
Сумма аминокислот . .	414		5993		3981		4959		5479	
Сумма аминокислот, накопленных в запасном фонде после инкубации			5579		3567		4545		5065	
Сумма вновь синтезируемых аминокислот					1149		2583		2641	

Выводы

Вышеприведенные данные позволяют сделать следующие выводы:

1. Аминокислоты группы α-аланина (α-аланин, лейцин, валин) и аммиак совершенно по-разному стимулируют расщепление глюкозы как у одной и той же культуры, так и у разных представителей рода *Candida*.

2. Различные источники азота по-разному действуют на дыхание отдельных представителей рода *Candida*. Интенсивность и направленность действия аминокислот зависят от присутствия или отсутствия глюкозы.

3. Аминокислоты группы аланина специфически влияют на процессы синтеза биомассы, вероятно, в зависимости от включения их углеродного скелета в обмен клеток.

Установлены три ряда явлений. В присутствии аминокислот экономический коэффициент не изменяется, что интерпретируется неусвоением углеродного скелета; экономический коэффициент повышается, что объясняется значительным усвоением углеродного скелета, и понижается, что может быть приписано подавлению отчасти процессов расщепления и отчасти усвоению углеродного скелета глюкозы под действием аминокислоты.

4. У отдельных культур аминокислоты, служащие источником азота, по-разному действуют на степень накопления азота и синтез новых аминокислот в запасном фонде. Наглядно показана роль аммония в синтезе глутамина и гамма-аминомасляной кислоты, α -аланина — в синтезе глутамина и орнитина.

5. По примерам исследуемых культур, полученные факты показывают значительные расхождения в путях усвоения и взаимопревращения α -аланина, лейцина и валина, что указывает о неприменимости понятия группировки этих аминокислот в одном семействе для представителей одного рода или даже одного вида.

Ереванский государственный университет,
кафедра биохимии
Институт микробиологии АН АрмССР

Поступило 26.IX 1967 г.

Մ. Ա. ՏԵՐ-ԿԱՐՍԵՊԵՏՅԱՆ, Ս. Մ. ԻՆԺԻԿՅԱՆ, Ս. Վ. ՉՈՒԲԱՐՅԱՆ

ԱՄԻՆԱԹՔՈՒՆԵՐԻ ՆՅՈՒԹԱՓՈԽԱՆԱԿՈՒԹՅՈՒՆԸ CANDIDA ՑԵՂԻ ՆՄՈՐԱՄՆԿԵՐԻ ՄՈՏ

1. α -ալանինի խմբի ամինաթթուների ազոտի և ածխածնի յուրացումը

Ա մ փ ո փ ու մ

Նմորասնկային օրգանիզմների համար սննդառության աղբյուր հանդիսացող ամինաթթուներից ուշադրության է արժանի α -ալանինի (կամ պիրոլիսաղողաթթվի) խումբը, որը ներառում է α -ալանինը, վալինը և լեյցինը:

Հետազոտությունների արդյունքները ցույց են տալիս, որ՝

1. α -ալանինի խմբի ամինաթթուները՝ α -ալանինը, լեյցինը, վալինը և ամոնիակը (կոնտրոլ) տարբեր ձևով են խթանում գլյուկոզի ճեղքումը ինչպես միկնոյն կուլտուրայի, այնպես էլ նույն ցեղին պատկանող տարբեր ներկայացուցիչների մոտ: Կուլտուրաների մեծ մասի մոտ որպես ամենալավ խթանիչ հանդես է գալիս α -ալանինը: Բոլոր կուլտուրաների մոտ վալինը զիջում է մյուս ամինաթթուներին և նույնիսկ արգելակում է գլյուկոզի ճեղքումը *C. chevalierii* մոտ:

2. Ազոտի տարբեր աղբյուրները տարբեր ձևով են ազդում *Candida* ցեղի առանձին ներկայացուցիչների շնչառության վրա:

Գլյուկոզի ներկայությամբ ամոնիակը հանդես է գալիս որպես շնչառության խթանիչ: Գլյուկոզի բացակայության պայմաններում ամինաթթուները ավելի ուժեղ են խթանում շնչառությունը, քան ամոնիակը, քանի որ նրանք ապահովում են կուլտուրաները ոչ միայն ամինային ազոտով, այլև ածխածնային կմախքով՝ տվյալ ամինաթթուների համապատասխան կետոթթուների միջոցով: Այդ տեսակետից հատկապես ահտիվ է գործում ալանինը՝ պիրովատի միջոցով: Սակայն վերջինս խթանում է միայն թթվածնի կլանումը, մինչդեռ գլյուկոզը խթանում է նաև ածխաթթու գազի արտադրությունը, շնչառության գործակիցը հասցնելով մինչև 1-ի:

3. Ալանինի խմբի ամինաթթուները սպեցիֆիկորեն են ազդում բիոմասայի սինթեզման պրոցեսների վրա, հավանաբար կախված նրանց ածխածնային կմախքը բջիջների նյութափոխանակության մեջ ներգրավելու հատկությունից:

4. Առանձին կուլտուրաների մոտ ամինաթթուները որպես ազոտի աղբյուրներ տարբեր ձևով են ազդում ազոտի կուտակման աստիճանի և պահեստային ֆոնդի նոր ամինաթթուների սինթեզման պրոցեսի վրա: Հատկապես ակնհայտ է ամոնիակի դերը գլյուտամինի ու գամմա-ամինակարագաթթվի և α -ալանինի դերը՝ գլյուտամինի և օրնիթինի սինթեզման պրոցեսում:

5. Ստացված տվյալները ի հայտ են բերում նշանակալի տարբերություններ α -ալանինի, լեյցինի ու վալինի յուրացման և նրանց փոխարկման ուղիներում. այդ ցույց է տալիս, որ մի ցեղի կամ նույնիսկ մի տեսակի ներկայացուցիչների համար տվյալ ամինաթթուները մի ընտանիքի մեջ խմբավորելու հսկայացողությունը կիրառելի չէ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Тер-Карапетян М. А., Инджикян С. М. Тезисы IX Межд. конгресса по микробиологии, стр. 125, 1966.
2. Тер-Карапетян М. А., Инджикян С. М. ДАН АрмССР, 43, 117, 1966.
3. Тер-Карапетян М. А., Макарова Е. Н. Изв. АН АрмССР (серия биолог.), т. 16, 3, 1963.
4. Тер-Карапетян М. А., Макарова Е. Н. Изв. АН АрмССР (серия биолог.), т. 17, 27, 1964.
5. Тер-Карапетян М. А., Макарова Е. Н. ДАН АрмССР, 40, 117, 1965.
6. Тер-Карапетян М. А., Элиазян А. А. Изв. АН АрмССР (серия биолог.), т. 18, 34, 1965.
7. Abelson P., Vogel H. J. Biol. chem., 213, 365, 1955.
8. Bonner D., Tatum E., Beadle G. Bioch. Bioph. acta, 3, 71, 1943.
9. Chance B. Сб. Регуляция клеточного обмена, М., 1962.
10. Holzer H. Сб. Регуляция клеточного обмена, М., 1962.
11. Strassman M., Thomas A., Weinbach S. J. Amer. Chem. Soc., 75, 1680, 1953.
12. Virtanen A., Csaky T., Rautanen N. Bioch. Bioph. acta, 3, 208, 1949.
13. Wang Ch., Christenten B., Cheldelin V. J. Biol. chem., 213, 365, 1955.

