

М. А. ТЕР-КАРАПЕТЯН, С. П. ОГАНЕСЯН, А. М. ТЕР-КАРАПЕТЯН

ОБМЕН АМИНОКИСЛОТ У ДРОЖЖЕЙ РОДА *CANDIDA*

3. Влияние длины углеродной цепи и расположения аминной группы на проникновение и накопление аминокислот в дрожжевых клетках*

Проникновение веществ через мембрану живых клеток обеспечивается двумя дополняющими друг друга механизмами: пассивный перенос, происходящий в основном путем диффузии или проталкиванием молекулами воды, и активный перенос, осуществляемый при помощи особых «транспортных систем», уподобленных некоторыми исследователями ферментам или ферментоподобным катализаторам [7, 15].

Характерным для пассивного переноса является то, что проникновение продолжается до тех пор, пока концентрация частиц по обеим сторонам мембраны достигает уровня, определяемого законом доннановского равновесия [9].

Механизм пассивного переноса не объясняет важнейших сторон явлений проницаемости как передвижения веществ против градиента концентраций с накоплением их на уровне, иногда намного превышающем таковой во внешней среде. Он не объясняет специфичности проникновения в зависимости от структурных особенностей (изомерия, замещения) частиц, обладающих одинаковыми молекулярными размерами, а также коррелятивность между интенсивностью проникновения и энергетическими процессами клетки [12]. Последним рядом явлений доказано, что проникновение в клетки неорганических ионов, моносахаридов, аминокислот и др. сильно подавляется при воздействии ингибиторов дыхания, брожения, окислительного фосфорилирования как KCN, ICH_2COOH , 2,4-ДНФ и др.

Все эти стороны процессов проникновения можно истолковать участием ферментоподобных катализаторов, действующих на уровне клеточной мембраны.

С точки зрения теории активного переноса, особенно убедительными являются факты, устанавливающие, что скорость прохождения аминокислот через мембрану клеток (слизистую оболочку кишечника) намного превышает скорость диффузии, а также зависимость интенсивности проникновения от физиологического состояния клетки ряда микроорганизмов [9, 12, 17].

По механизму проницаемости за последние годы была выдвинута новая гипотеза, сформулированная под названием «облегченной диффу-

* Сообщение 1 и 2-ое см. «Биологический журнал Армении», №№ 1 и 9, т. XXI, 1968 г.

зии», согласно которой перенос веществ в клетки происходит путем обратимого связывания молекул субстрата с особой (органической) системой, переносящей частицы с одной поверхности мембраны на другую [13, 16].

Полагается, что перенос комплекса носитель-субстрат через мембрану осуществляется либо по механизму теплового движения, либо путем изменений конфигурации носителя.

По своей первоначальной формулировке «облегченная диффузия» считается вариантом пассивного транспорта, не требующего энергии [15]. Однако, если допустить, что активация переносчика происходит с помощью АТФ, то можно прийти к выводу, что транспорт через клеточную мембрану осуществляется при помощи совместно действующих факторов пассивного и активного переноса.

Изучение как пассивных, так и активных процессов, лежащих в основе клеточной проницаемости, приводит к разграничению «сфер» действия каждого из этих механизмов и к разработке единой теории проницаемости, основанной на участии обеих групп процессов. Особый интерес в разрешении этих вопросов представляет изучение взаимоотношений между структурой субстратов и закономерностями их проникновения.

В настоящее время установлены некоторые факты, показывающие влияние структуры на скорость проникновения и уровень накопления аминокислот у бактерий. Однако имеющиеся данные недостаточно освещают специфичность таких явлений, как зависимость проникновения от структуры углеродного скелета (его длина и разветвление), от амфотерных свойств аминокислот и др.

Представления о механизме активного переноса аминокислот через клеточные мембраны осложняются еще больше выявлением таких факторов, как групповая специфичность транспортных систем к нескольким субстратам как валин, лейцин, изолейцин [8], аргинин, лизин [10, 11].

Настоящая работа преследует цель исследовать влияние длины углеродного скелета и позиции NH_2 функциональной группы в молекуле аминокислот на скорость проникновения и уровень накопления их у представителей рода *Candida*. Этот вопрос еще мало изучен, в частности, у дрожжевых организмов, и его изучение даст новые факты, способствующие выяснению сущности механизма активного переноса через клеточную мембрану.

М е т о д и к а

Объектом исследования служили представители дрожжей рода *Candida* — *C. guilliermondii*, *C. guilliermondii* *membranaefaciens*, полученные из отдела типовых культур Института микробиологии АН СССР (проф. В. И. Кудрявцев).

Для изучения проникновения в качестве субстратов применялись следующие DL-аминокислоты (АК): в первой серии опытов α -аминомасляная (α -АМК), γ -аминомасляная (γ -АМК), α, γ -аминомасляная (α, γ -АМК) кислоты, во второй серии опытов гомологичные ряды α -аминокислот — α -аланин, α -АМК, α -аминовалериановая (α -АВК), α -аминокапроновая (α -АКК) кислоты и ω -аминокислот- β -аланин, γ -АМК, δ -аминовалериановая (δ -АВК) и ϵ -аминокапроновая (ϵ -АКК) кислоты.

Подготовка культур к опытам проводилась следующим способом: музейные культуры, хранившиеся на 1,5—2% сусле-агаре, выращивались в аэробных условиях на круговой качалке (200 об/мин) в жидкой синтетической среде следующего состава: глюкоза—10 г, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ —3,1 г, KH_2PO_4 —1,23 г, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ —0,625 г, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ —0,125 г, NaCl —0,125 г, биотин—8 мкг).

В конце цикла роста культуры, завершаемого в течение 18—20 часовой инкубации, биомасса отделялась центрифугированием, подвергалась азотному голоданию [5] путем инкубирования в термокамере на круговой качалке в 2% растворе глюкозы до расхода последней (48—50 час.); голодание продолжалось на дистиллированной воде при этих же условиях инкубации в течение 16—18 час.

Путем такой обработки содержание общего азота в исходной биомассе падает от 6—8 до 2,5—3,5% (к абс. сух. веществу) со снижением аминокислот запасного фонда до едва заметных количеств, кроме α -аланина и глутаминовой кислоты. Такая культура является весьма удобным объектом для изучения проникновения и накопления метаболитов в клетке.

Биомасса использовалась в виде суспензии в фосфатном буфере M/15 (pH: 5,5—5,8), содержащем 0,06 м NaCl (3,9 г на 1 л) [6] с густотой в пределах 9,6—17 мг (сух. вещества) в 1 мл. В такую суспензию вносились аминокислоты в расчете от 47 ± 2 мМ в 1 л.

Инкубация в присутствии аминокислот проводилась в термостате при $30 \pm 0,2$ С; пробы для оценки проникновения и накопления брались в сроки 5, 30, 60 мин. Отобранная проба, содержащая 31—37 мг сух. вещества, тут же дважды промывалась холодным 0,15 м раствором NaCl .

Затем биомасса экстрагировалась в 80% этаноле с гидромодулем

$$\frac{V}{P} = \frac{\text{этанол}}{\text{вес сух. дрожжей}} = 30 \text{ в течение 1 часа.}$$

Для анализов брались 0,2 мл из отдельных экстрактов. Уровень накопления аминокислот определялся в сроки 5, 30, 60 мин. после начала инкубации. Результаты выражались в микромолях (мкМ) в 100 мг сухих дрожжей.

Скорость накопления аминокислот (V) определялась в интервалах 0—5, 5—30, 30—60 мин. по формуле: проникнувшая аминокислота (мкМ) : мг дрожжей (сух. вещества) : продолжительность интервала (мин.); учитывалась в основном V в интервале 0—5 мин.

Степень концентрирования аминокислот в клетке оценивалась по отношению концентрации накопленной в клетках аминокислот—конц. кл. (с учетом содержания 75% влаги) к концентрации во внешней среде—конц. ср.

Проникновение и накопление α -АМК, γ -АМК, α, γ -АМК у *Candida guilliermondii membranaefaciens*

Исследуемые аминокислоты представляют интерес в том отношении, что *C. guilliermondii membranaefaciens* расщепляет глюкозу в присутствии γ -АМК и $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ после прохождения лаг фазы не больше 2—3 час. [2, 3], а в присутствии α -АМК и α, γ -АМК соответственно 22—26 и 45—50 час. (рис. 1).

Таким образом, опыты проводятся с суспензией в состоянии «покоя» клеток [5]. Нужно также отметить, что углеродный скелет γ -АМК хорошо усваивается этой культурой в присутствии глюкозы, в то время как α -АМК и α, γ -АМК, наоборот, сильно подавляют у нее усвоение углеродного скелета глюкозы, в силу чего роста почти не происходит биомассы. Результаты опытов приведены в табл. 1.

Полученные данные показывают, что все три аминокислоты проникают и накапливаются в клетках *C. guilliermondii membranaefaciens* независимо от их усвояемости.

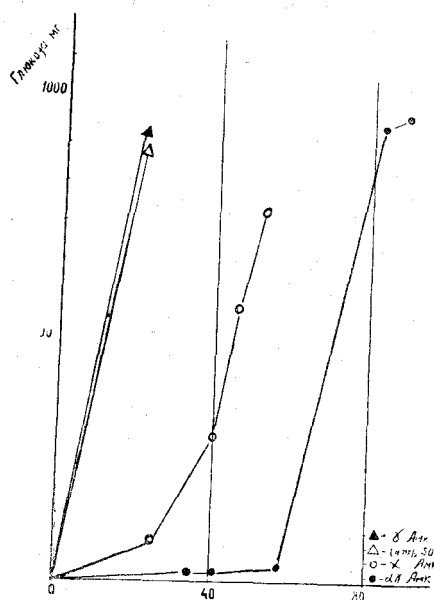


Рис. 1. *Candida guilliermondii membranaefaciens*. Динамика расщепления глюкозы в присутствии HN_4^+ , α -, γ -, $\alpha\gamma$ -аминоасляной кислоты.

Таблица 1

Проникновение и накопление α -АМК, γ -АМК и $\alpha\gamma$ -АМК в клетках *C. guilliermondii membranaefaciens*.

Концентрация субстрата в среде: α -АМК, γ -АМК—45 мМ, $\alpha\gamma$ -АМК—34 мМ в указанных весовых количествах. Инкубированная биомасса 85 мг (оп. 42) 150 мг (оп. 24) в 15 мл буфера

№ и дата опытов	Субстрат (мг)	Продолжительность инкубации в мин.	В отсутствии глюкозы			При наличии глюкозы		
			АК мкМ в 100 мг сухих дрожжей	V в мкМ 1 мг/мин $\times 10^3$	конц.кл. конц.сп.	АК мкМ в 100 мг сухих дрожжей	V в мкМ 1 мг/мин. $\times 10^3$	конц.кл. конц.сп.
18.XI 1965 оп. 24	α -АМК 70	5	9,6	19,4	0,55	5,8	11,6	0,30
		30	16,0	2,4	0,84	10,7	1,8	0,56
		60	14,4	0,5	0,75	11,8	0,3	0,62
	γ -АМК 70	5	1,3	2,6	0,06	3,1	6,2	0,16
		30	12,3	7,2	0,60	17,0	1,2	0,90
		60	14,3	0,5	0,75	17,0	1,2	0,90
22.V 1966 оп. 42	$\alpha\gamma$ -АМК 55	5	2,7	5,3	0,21	2,3	4,6	0,18
		30	3,4	0,3	0,27	7,7	2,1	0,30
		60	6,4	0,9	0,44	6,0	0,0	0,48
	α -АМК 70	5	3,5	7,0	0,18	1,8	3,5	0,09
		30	7,1	1,3	0,37	5,8	1,5	0,30
		60	9,5	0,7	0,50	6,6	0,2	0,34
	γ -АМК 70	5	0,9	1,7	0,05	0,8	0,3	0,04
		30	4,2	1,2	0,02	6,8	2,3	0,35
		60	6,8	0,8	0,35	12,4	1,8	0,65
	$\alpha\gamma$ -АМК 55	5	1,1	2,2	0,08	1,2	2,5	0,10
		30	1,7	0,2	0,26	3,4	0,8	0,30
		60	3,3	0,5	0,30	4,1	0,17	0,83

В отсутствии глюкозы скорость проникновения аминокислот располагается в убывающем порядке — α -АМК $>$ γ -АМК $>$ γ -АМК, а уровень их накопления в порядке — α -АМК $>$ γ -АМК $>$ α , γ -АМК.

В присутствии глюкозы скорость проникновения резко замедляется для трудноусвояемой α -АМК и несколько стимулируется для хорошо усвояемой γ -АМК, существенно не меняется для α , γ -АМК; глюкоза значительно повышает уровень накопления γ -АМК, понижает уровень α -АМК в клетках и несущественно действует на накопление α , γ -АМК.

Проникновение и накопление α -АМК, γ -АМК и α , γ -АМК у *Candida guilliermondii*

Эта культура в присутствии γ -АМК в отличие от предыдущей расщепляет глюкозу почти с такой же скоростью, как в присутствии $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ после прохождения лаг фазы, не превышающей 2—3 час. При α -АМК лаг фаза продолжается до 8—10 час.; культура не усваивает α , γ -АМК.

У *C. guilliermondii* углеродный скелет γ -АМК слабо усваивается, α -АМК не препятствует усвоению углерода глюкозы (Е. Багдасарян — неопубликованные данные).

Таким образом, в исследуемые сроки проникновение всех трех аминокислот происходит в состоянии «покоя» клеток. Кроме того, культура показывает менее отрицательное отношение к α -аминокислотам. Результаты опытов приведены в табл. 2.

Полученные данные показывают, что как в отсутствии, так и в присутствии глюкозы скорость проникновения трех исследуемых соединений располагается в порядке — α -АМК $>$ γ -АМК $>$ γ -АМК, а уровень их накопления — γ -АМК $>$ α -АМК $>$ α , γ -АМК.

У этой культуры также нет прямой коррелятивной связи между усвояемостью и скоростью проникновения аминокислот в клетки. Глюкоза значительно замедляет скорость проникновения трудноусвояемой α -АМК, в то время как она несколько стимулирует скорость проникновения хорошо усвояемой γ -АМК. На темпы проникновения α , γ -АМК глюкоза не оказывает существенного влияния.

Как у предыдущей культуры, у *C. guilliermondii* глюкоза несколько повышает уровень накопления α -АМК и α , γ -АМК, но в этом случае она повышает также уровень α -АМК. Последний факт хорошо коррелирует с лучшим усвоением α -АМК у *C. guilliermondii*.

Проникновение и накопление Н-аминокислот гомологических рядов в зависимости от α - или концевой (ω —) положения аминной группы в молекуле

Исследования проводились у *C. guilliermondii membranaefaciens* рядами α -Ала, α -АМК, α -АВК, α -АКК и β -Ала, γ -АМК, δ -АВК и ε -АКК. Результаты исследования приведены в табл. 3 и на рис. 2 и 3.

Полученные данные показывают, что гомологические ряды амина-

Таблица 2

Проникновение и накопление α -АМК, γ -АМК и α, γ -АМК в клетках *C. guilliermondii*

Концентрация субстрата в среде: α -АМК, γ -АМК—45 мМ, α, γ -АМК—34 мМ в указанных количествах. Инкубированная биомасса: 237 мг (оп. 39) и 27 мг (оп. 41) в 15 мл буфере

№ и дата опытов	Субстрат (мг)	Продолжительность инкубации в мин.	В отсутствии глюкозы				При наличии глюкозы			
			АК мкМ в 100 мг сухих дрожжей	V в мкМ 1 мг/мин $\times 10^3$	конц. кл.	конц. ср.	АК мкМ в 100 мг сухих дрожжей	V в мкМ 1 мг/мин $\times 10^3$	конц. кл.	конц. ср.
7.IV 1966 оп. 39	α -АМК-70	5	6,8	13,6	0,36		5,0	9,7	0,26	
		30	8,2	0,5	0,43		9,1	1,5	0,48	
		60	8,7	0,1	0,45		10,5	5,0	0,55	
	γ -АМК 70	5	2,0	4,0	0,10		1,6	3,3	0,10	
		30	10,7	3,0	0,46		10,8	3,6	0,56	
		60	15,3	1,4	0,80		16,5	1,8	0,87	
13.IV 1966 оп. 41	α, γ -АМК 60	5	1,8	3,6	0,14		1,7	3,4	0,13	
		30	2,9	0,4	0,23		2,6	0,3	0,21	
		60	3,0	0,5	0,24		4,3	0,5	0,35	
	α -АМК 70	5	3,5	7,0	0,18		2,3	4,6	0,12	
		30	7,9	1,7	0,41		7,6	2,3	0,40	
		60	8,0	0,1	0,42		9,7	0,6	0,50	
	γ -АМК 70	5	1,5	2,9	0,08		1,7	3,5	0,09	
		30	7,6	2,0	0,40		10,6	3,6	0,55	
		60	10,5	0,9	0,55		12,1	0,5	0,64	
	α, γ -АМК 55	5	2,2	4,4	0,18		2,4	4,8	0,19	
		30	2,6	1,6	0,21		3,5	0,3	0,28	
		60	4,7	0,6	0,37		6,6	0,8	0,53	

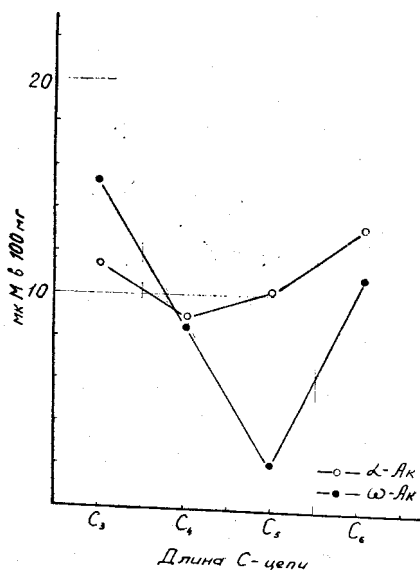


Рис 2. Накопление α и ω -аминокислот у *Candida guilliermondii* мембранофагического (опыт 76).

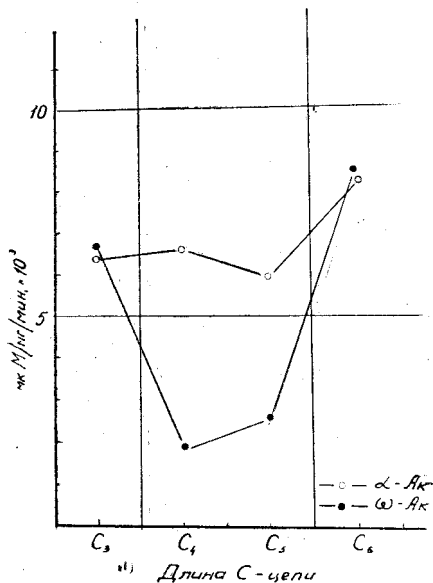


Рис 3. Скорость проникновения α и ω -аминокислот у *Candida guilliermondii* мембранофагического (опыт 76).

Таблица 3

Проникновение и накопление Н-аминокислот гомологических рядов в зависимости от расположения NH_2 -группы.

Концентрация субстрата в среде: 45 мМ в указанных несовых количествах. Инкубированная биомасса 115 мг (оп. 75), 140 мг (оп. 76) в 15 мл буфере в отсутствии глюкозы

Субстрат (мг)	Продолжительность инкубации в мин.	Опыт-75 29.V.1967 г.			Опыт 76 30.V.1967 г.		
		АК мкМ в 100 мг су- хих дрож- жей	в мкМ 1 мг/мин. $\times 10^3$	конц.-кл. конц.-сп.	АК мкМ в 100 мг су- хих дрож- жей	в мкМ 1 мг/мин. $\times 10^3$	конц.-кл. конц.-сп.
α -Ала 60	5	5,0	10,1	0,30	3,2	6,4	0,18
	30	13,0	2,9	0,72	11,2	3,1	0,60
	60	13,8	0,2	0,76	11,5	0,1	0,64
β -Ала 60	5	6,8	13,5	0,38	3,3	6,7	0,18
	30	15,1	3,2	0,86	9,1	2,2	0,50
	60	21,3	1,7	1,20	15,3	2,2	0,85
α -АМК 70	5	5,7	10,1	0,30	3,3	6,6	0,18
	30	8,8	1,4	0,48	8,6	1,3	0,50
	60	9,3	0,19	0,50	8,9	0,87	0,50
γ -АМК 70	5	0,8	1,7	0,05	0,9	1,8	0,08
	30	4,6	1,4	0,25	5,4	1,4	0,30
	60	7,7	0,9	0,42	8,6	1,0	0,50
α -АВК 84	5	5,8	11,1	0,30	3,0	5,9	0,16
	30	8,8	1,1	0,46	8,0	1,1	0,40
	60	10,7	0,6	0,56	10,2	0,69	0,50
δ -АВК 84	5	1,6	3,2	0,08	1,4	2,6	0,07
	30	2,6	0,17	0,17	1,7	0,08	0,09
	60	3,8	0,6	0,19	2,1	0,08	0,11
α -АКК 90	5	6,0	11,4	0,32	4,1	8,1	0,20
	30	11,2	2,0	0,61	11,1	2,7	0,60
	60	12,0	0,3	0,06	13,1	0,6	0,70
ϵ -АКК 90	5	5,1	9,9	0,25	1,9	8,4	0,20
	30	9,7	1,3	0,52	9,8	2,2	0,50
	60	10,3	0,2	0,56	10,8	0,3	0,60

кислот с α - NH_2 и ω - NH_2 группами подчиняются совершенно разным закономерностям как по скорости проникновения, так и по уровню накопления. В первые 5 мин. инкубации аминокислоты α - NH_2 ряда проникают почти с одинаковой скоростью, что позволяет выдвинуть гипотезу о едином механизме их переноса через мембрану. Аминокислоты ω - NH_2 ряда проникают со скоростью, сильно варьирующей в зависимости от длины углеродного скелета; при этом, скорости проникновения γ -АМК и δ -АВК минимальны. Такая специфичность скорости проникновения отдельных членов ω -гомологического ряда указывает на вероятность участия активного механизма, характерного для ферментоподобного катализатора, участия пассивных и активных механизмов в процессе проникновения.

Резкие изменения уровня накопления между аминокислотами гомологических рядов с концевой NH_2 группой можно считать другим важным фактом, указывающим на участие активного механизма в процессе их накопления. Наоборот, относительно малые изменения в уровне накопления отдельных членов ряда α -аминокислот указывают на то, что «активный» механизм не играет ведущей роли в этом процессе.

Обсуждение результатов. Полученные данные рассматриваются с точки зрения коррелятивной связи между процессами, связанными с усвоением и проникновением аминокислот, сравнения и взаимообусловленности скоростей проникновения и уровня накопления отдельных АК, участия пассивных и активных механизмов в процессе проникновения.

Сравнение ныне представленных и ранее полученных в нашей лаборатории [2—4] данных указывает на отсутствие коррелятивной связи между, с одной стороны, показателями усвоения азота и углеродного скелета отдельных аминокислот, расщепления глюкозы и дыхания в их присутствии, с другой, — показателями проникновения отдельных членов гомологических рядов аминокислот.

Отсутствие коррелятивности особенно наглядно на примере *C. guilliermondii membranaefaciens*, у которой все аминокислоты α -ряда, как источники азота, особенно α -АМК, показывают по сравнению с $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ низкие показатели усвоения, а аминокислоты ω -ряда значительно лучше усваиваются по сравнению с соответственными α -изомерами; из них — γ -АМК отличается тем, что в присутствии глюкозы она действует с такой же интенсивностью, как $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (рис. 1).

Более того, данные показывают, что интенсивность проникновения не является фактором, ограничивающим включение аминокислот в обмен клеток. Отсутствие прямой коррелятивной связи наблюдается также между дыханием клеток и проникновением аминокислот α - или ω -ряда. Так, например, α -АМК в фосфатном буфере в отсутствии глюкозы проникает в клетки в 5 раз быстрее и накапливается на 60-ой мин. на 20% больше, чем γ -АМК (табл. 1). Тем не менее она стимулирует дыхание по абсолютным данным на 21% меньше и по отношению к единице веса проникнувшей аминокислоты в 7—3 раза меньше γ -АМК [4].

Данные по гомологичным рядам аминокислот (табл. 3, рис. 2, 3) показывают противоположную картину в интенсивности проникновения аминокислот рядов (кроме β -Ала) по сравнению с их α -изомерами. Специфичность скорости проникновения отдельных аминокислот ω - NH_2 ряда у *C. guilliermondii membranaefaciens* указывает на участие специфических транспортных систем для каждой из них. В противоположность этому проникновение аминокислот α - NH_2 ряда не позволяет делать вывода об активной или пассивной природе действующего механизма.

Аминокислоты α - NH_2 и ω - NH_2 ряда отличаются также по темпам и уровням накопления в клетках обеих культур, что хорошо иллюстрируется на рис. 4.

Значительным отличием между двумя культурами является снижение уровня накопления α -АМК и повышение уровня γ -АМК в присутствии глюкозы у *C. guilliermondii membranaefaciens*, в то время как у *C. guilliermondii* глюкоза слабо стимулирует накопление обеих аминокислот.

В данном случае стимулирование в присутствии глюкозы можно считать признаком взаимообусловленности процессов накопления amino-

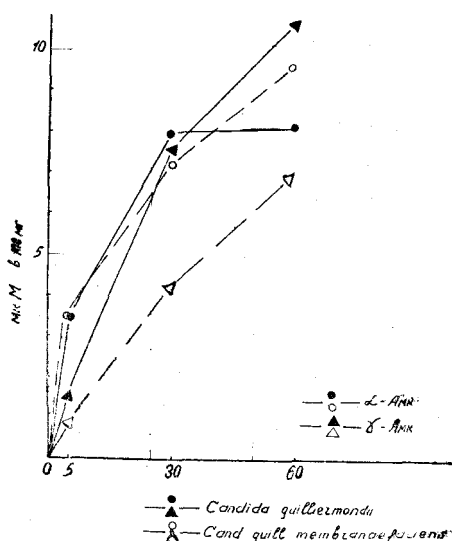


Рис. 4. Динамика накопления α-АМК, γ-АМК у двух культур дрожжей рода *Candida* (опыт 41, 42).

кислот и метаболизма клетки, т. е. признаком активного переноса и накопления.

В связи с ранее описанным явлением антагонизма между α-АМК и γ-АМК в процессе размножения *C. guilliermondii membranaefaciens* [2, 3] нами были поставлены опыты с целью выяснения, имеет ли место антагонизм на уровне клеточной мембраны, т. е. в процессе проникновения. Результаты этих опытов приведены в табл. 4.

Полученные данные показывают, что в интервале первых пяти минут инкубации γ-АМК только частично подавляет проникновение α-АМК, в то время как α-АМК полностью прекращает проникновение γ-АМК. Даже в случае, когда во внешней среде создается соотношение концентрации $\frac{\gamma\text{-АМК}}{\alpha\text{-АМК}} = \frac{4}{1}$, проникновение γ-АМК наступает только после 30 минут от начала инкубации и далеко не достигает уровня накопления 4-х кратной концентрации γ-АМК в отсутствие α-АМК.

Механизм такого взаимного подавления между изомерами аминокислот трудно объяснить. Наблюдаемые при совместном присутствии обоих изомеров в среде расхождения в скорости проникновения α-АМК и γ-АМК и факт о полном подавлении переноса γ-АМК через мембраны дают возможность допустить гипотезу, что в случае обеспечения транспорта обеих форм АМК при помощи одной и той же системы, последняя показывает больше сродства с α-АМК, чем с γ-АМК, может быть и α-NH₂ группа (скорее чем γ-NH₂) участвует в какой-то мере в связывании аминокислоты с транспортной системой.

Полученные на этом этапе данные указывают в основном пути дальнейшего разрешения вопроса: антагонизм или конкуренция между

Таблица 4

Взаимообусловленность проникновения α -АМК и γ -АМК в клетки *S. guilliermondii* (опыт 44, 26.V.66 г.).

Концентрация субстрата при инкубации: I—47 мМ, IV—4×47 мМ.

Инкубированная биомасса 164 мг в 15 мл буфере

Субстрат	Продолжительность инкубации мин	АК в 100 мг сухих дрожжей мМ	V в мМ 1 мг в 1 мин $\times 10^3$	конц.к.л. конц.ср.
α -АМК I	5	0,54	1,08	0,03
	30	0,90	0,14	0,05
	60	2,70	0,60	0,14
γ -АМК I	5	0,30	0,60	0,001
	30	2,00	0,70	0,10
	60	3,40	0,46	0,18
α -АМК I + γ -АМК I, α -АМК	5	0,27	0,54	0,001
	30	0,68	0,16	0,04
	60	0,68	0	0,04
γ -АМК	5	0	0	
	30	0	0	
	60	0	0	
γ -АМК IV	5	0,43	0,86	0,05
	30	2,10	0,67	0,03
	60	6,30	1,40	0,80
α -АМК I + γ -АМК IV, α -АМК	5	0,27	0,54	0,001
	30	0,40	0,05	0,02
	60	0,65	0,08	0,03
γ -АМК	5	0	0	
	30	0	0	
	60	2,30	0,38	0,03

α -АМК и γ -АМК имеют место только в процессе переноса, или это распространяется также на процессы накопления.

Наконец, данные по проникновению α , γ -АМК в клетки обеих культур, показывающих невосприимчивость этого субстрата клетками дрожжей рода *Candida*, противоположны имеющимся наблюдениям о клетках саркомы Эрлиха, показывающих способность накапливать высокие концентрации α , γ -АМК [14].

Таким образом, накопление диаминокислот нельзя считать общераспространенным свойством, присущим клеткам разной систематической принадлежности.

Совокупность полученных результатов, в частности, по межвидовым особенностям и по гомологическим рядам α - и ω -аминокислот, представляет новые факты к объяснению активного или пассивного механизма проникновения и накопления аминокислот в дрожжевой клетке.

Ереванский государственный университет,
кафедра биохимии и лаборатория
технической биохимии

Поступило 20.IV 1968 г.

Մ. Ա. ՏԵՐ-ԿԱՐԱՊԵՏՅԱՆ, Ս. Պ. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ, Ա. Մ. ՏԵՐ-ԿԱՐԱՊԵՏՅԱՆ

ԱՄԻՆԱԹԹՈՒՆԵՐԻ ՆՅՈՒԹԱՓՈԽԱՆԱԿՈՒԹՅՈՒՆԸ, CANDIDA ՑԵՂԻ ԽՄՈՐԱՍՆԿԵՐԻ ՄՈՏ

3. Ածխածնային շղթայի երկարության և ամինային խմբի դիրքի ազդեցությունը ամինաթթուների ներթափանցման ու կուտակման վրա՝ խմորասնկային բջիջներում

Ա մ փ ո փ ո մ

Շաքարների, ամինաթթուների, ինչպես նաև մյուս մետաբոլիտների ներթափանցման վերաբերյալ մինչև օրս ընդունված ամենահավանական տեսությունը՝ դա «պասսիվ» և «ակտիվ» մեխանիզմների զուգակցման հիպոթեզն է:

Մեր նպատակն է եղել պարզաբանել ներթափանցման հիմքում ընկած ֆիզիկո-քիմիական՝ պասսիվ և կենսաքանակական՝ ակտիվ մեխանիզմների դերը ամինաթթուների թափանցման արագության և կուտակման վրա Candida ցեղի խմորասնկային բջիջներում:

Հետազոտվել է՝ 1. α-ամինակարագաթթվի (ԱԱԿԹ), γ-ամինակարագաթթվի (ԳԱԿԹ), α, γ-ամինակարագաթթվի (ԱԳԱԿԹ) ներթափանցումը և կուտակումը C. guilliermondii membranaefaciens-ի և C. guilliermondii-ի մոտ (աղ. աղ. 1, 2, 2. α և ω-հոմոլոգ շարքերի ամինաթթուների ներթափանցումը և կուտակումը C. guilliermondii membranaefaciens-ի բջիջներում (աղ. նկ. նկ. 2—4):

Կատարված հետազոտություններից հետևում է՝

1. C. guilliermondii membranaefaciens-ի մոտ գլյուկոզի բացակայությամբ ամինակարագաթթուների ներթափանցման արագությունն ընթանում է հետևյալ հերթականությամբ՝ ԱԱԿԹ > ԱԳԱԿԹ > ԳԱԿԹ, իսկ կուտակման մակարդակը՝ ԱԱԿԹ > ԳԱԿԹ > ԱԳԱԿԹ:

Գլյուկոզը նկատելիորեն բարձրացնում է ԳԱԿԹ-ի կուտակման մակարդակը, իջեցնում՝ ԱԱԿԹ-ի մակարդակը և էականորեն չի ազդում ԱԳԱԿԹ-ի վրա:

C. guilliermondii-ի մոտ ամինակարագաթթուների ներթափանցման արագությունն արտահայտվում է ԱԱԿԹ > ԱԳԱԿԹ > ԳԱԿԹ ձևով, իսկ ըստ կուտակման մակարդակի՝ ԳԱԿԹ > ԱԱԿԹ > ԱԳԱԿԹ: Ի հակադրություն նախորդ կուտուրայի, գլյուկոզը դանդաղեցնում է դժվար յուրացվող ԱԱԿԹ-ի ներթափանցման արագությունը:

2. Ներթափանցման ընթացքում կարևոր նշանակություն ունի ամինային խմբի դիրքը: α- և ω-շարքերի ամինաթթուներն էապես տարբերվում են ինչպես ներթափանցման արագությամբ, այնպես էլ կուտակման մակարդակով: Դա վկայում է յուրահատուկ փոխադրիչ սխեմաների գոյության մասին ω-շարքի ամինաթթուների համար, մինչդեռ α-շարքում հայտնաբերված օրինաչափությունը հնարավոր չէ տարբերել դիֆուզիոն մեխանիզմից:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Гизе А. Физиология клетки, 1959.
2. Тер-Карапетян М. А., Инджикян С. М. IX Межд. конгресс по микробиологии, М., тез., 1966.
3. Тер-Карапетян М. А., Инджикян С. М. ДАН АрмССР, 43, 117, 1966.
4. Тер-Карапетян М. А., Инджикян С. М., Чубарян С. В. Биол. журн. Армении, 21, 3, 1968.
5. Тер-Карапетян М. А., Макарова В. Н., Цатурян С. С. Биол. журн. Армении, 21, 9, 3, 1968.
6. Burger M., Hejnova, Kleinzeeler A. Biochem. J. 71, 233, 1959.
7. Cohen G., Monod J. Bact. Rev. 21, 169, 1957.
8. Cohen C. N., Rickenberg H. V. Ann. Inst. Pasteur, 91, 693, 1956.
9. Freeland J. C., Gale E. F. Biochem. J. 41, 135, 1947.
10. Grenson M., Mousset J. M., Wiame J., Bechet J. Biochim, Biophys Acta 127, 325, 1966.
11. Grenson M. Biochim. Biophys. Acta 127, 339, 1966.
12. Höber R. Physical chemistry of cells and Tissues Philad. USA, 1945.
13. Hokin L. E., Hokin M. R. Membrane transport and Metabolism Praha, 204 1961.
14. Christensen H. W., Riggs T. R., Fischer H., Palatine J. J. Biol Chem. 198, 17, 1952.
15. Park C. R. Enzymes: Units of biological structure and function. Gaebler O (Ed.) New-York, 1956.
16. Rosenberg Th. Symposia of the Biochemical Soc. Cambridge, 1954.
17. Taylor E. S. J. Gen. Microbiol, 1, 86, 1947.