

КРАТКИЕ НАУЧНЫЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 577:576.8,097

В. Г. ДЖАНИБЕКОВА, Е. А. БОБОХИДЗЕ, М. А. ТЕР-КАРАПЕТЯН

ПЕРЕАМИНИРОВАНИЕ АМИНОКИСЛОТ С КЕТОГЛУТАРАТОМ,  
ОКСАЛОАЦЕТАТОМ И ПИРУВАТОМ В ПРИСУТСТВИИ  
БЕСКЛЕТОЧНЫХ ЭКСТРАКТОВ ДРОЖЖЕЙ РОДА CANDIDA

В предыдущем сообщении [2] были представлены данные по активности аминотрансферазных систем, содержащихся в бесклеточных препаратах разных представителей дрожжей рода *Candida* и переносящих  $\text{NH}_2$ -группу ряда аминокислот на кетоглутарат (КГ). Установлены значительные отличия в активности выделенных из разных видов и штаммов дрожжей ферментных систем, специфичных по отношению к одной и той же аминокислоте—донору  $\text{NH}_2$ -группы, а также различных апоферментных систем, содержащихся в одном и том же препарате, по отношению к разным аминокислотам.

Другие группы аминотрансфераз, переносящие  $\text{NH}_2$ -группу аминокислот на щавелевоуксусную (ЩУК) и пировиноградную (ПВ) кислоты, менее изучены у дрожжевых организмов, в частности у представителей рода *Candida*.

Настоящее сообщение посвящено сравнительному изучению аминотрансферазных систем, реагирующих с КГ, ЩУК и ПВ в качестве акцепторов  $\text{NH}_2$ -группы и некоторыми протеиногенными аминокислотами и их изомерами. Реакции переаминирования, протекающие между внесенными в реакционную смесь обоими участниками—аминокислотами-донорами и кетокислотами-акцепторами  $\text{NH}_2$ -группы,—обозначены как «основные», а образовавшиеся в результате этих реакций аминокислоты—«основной продукт».

Ввиду того, что опыты проведены с диализированными, но неочищенными экстрактами, одновременно изучены реакции переаминирования, протекающие между аминокислотами-донорами, внесенными в среду с КГ, ЩУК и ПВ, видимо, образующимися в реакционной смеси во время инкубации. Эти реакции обозначены как «побочные», а аминокислоты, образующиеся при этом, как «побочный продукт».

Объектом исследования служили культуры *S. pulcherrima* (шт. 95) и *S. guilliermondii* (шт. 71), выращенные в жидкой синтетической среде и собранные в конце экспоненциальной фазы роста.

Методы выращивания культур, приготовление бесклеточных экстрактов и постановка опытов описаны в предыдущей работе [2].

Активность отдельных аминотрансферазных систем рассчитана по формуле  $Q = \frac{N}{N \cdot t} \cdot 10^{-2}$ , где Q—активность препарата, P—количество аминокислоты, синтезированной во время опыта, в мкг, N—содержание азота в экстракте, поставленном на инкубацию, в мг, t—продолжительность инкубации в часах.

Результаты экспериментов представлены в табл. и на рис. 1.

Таблица 1

ПЕРЕАМИНИРОВАНИЕ АМИНОКИСЛОТ С КГ, ЩУК И ПВ В ПРИСУТСТВИИ  
БЕСКЛЕТОЧНОГО ЭКСТРАКТА ИЗ *S. PULCHERRIMA*

Состав реакционной смеси: 20 мкмоль нейтрализованной аминокислоты (0,2 мл), 40 мкмоль нейтрализованной кетокислоты (0,2 мл), фосфатный буфер M/10 pH—7,6—7,8 (0,2 мл), пиридоксаль-фосфат—20 мкг (0,1 мл). Общий объем смеси составлял 1 мл. Данные в мкмоль

Аминокислоты-доноры	Кетокислоты-акцепторы NH <sub>2</sub> -группы					
	КГ	ПВ		ЩУК		
		основной продукт гл	основной продукт ала	побочный продукт гл	основной продукт асп	побочный продукт гл
Лей	18,7	0,4	3,5	5,5	2,3	3,0
Нлей	14,2	0,1	1,6	7,3	1,1	2,6
Илей	16,3	0,2	1,5	1,3	1,3	0,7
Арг	3,0	0,2	0,3	следы	следы	—
Тир	2,2	0,7	0,5	—	—	—
Цис-SH	0,3	0,8	0,7	—	—	—
Гис	7,4	0,3	1,1	следы	следы	0,5
Вал	17,8	0,1	2,1	2,0	2,7	1,0
Нвал	10,2	0,2	1,7	2,7	1,3	6,6
Фла	3,0	0,2	0,2	8,2	2,1	2,1
Глу				15,3	—	1,8
α-Амк	8,0	0,2	1,6	1,1	0,7	7,6
Мет	11,5	0,2	2,0	4,0	2,2	2,4
Лиз	2,0	0,1	0,7	следы	следы	0,8
α-Ала	5,3			следы	следы	1,0
Тре	13,7	0,4	2,2	следы	следы	2,5
Асп	20,0	0,2	2,7			
Гли	1,7	0,5	0,7	0	—	5,1
Сер	0,7	0,3	0,5	0	следы	2,3

По отношению к внесенным в среду кетокислотам аминотрансферазные системы активных экстрактов из обоих штаммов наиболее интенсивно переносят NH<sub>2</sub>-группу всех аминокислот на КГ и слабее на ЩУК и ПВ.

Весьма интенсивно протекает в двух направлениях реакция, катализируемая глутамат-аспартат аминотрансферазой. При внесении в реакционную смесь кетоглутарата образуется глутамат, как единственный продукт переаминирования, а при ЩУК и ПВ наряду с основным продуктом (аспартатом и α-аланином) образуются и побочные аминокислоты; из последних в смеси, содержащей ЩУК, выявлены значительные

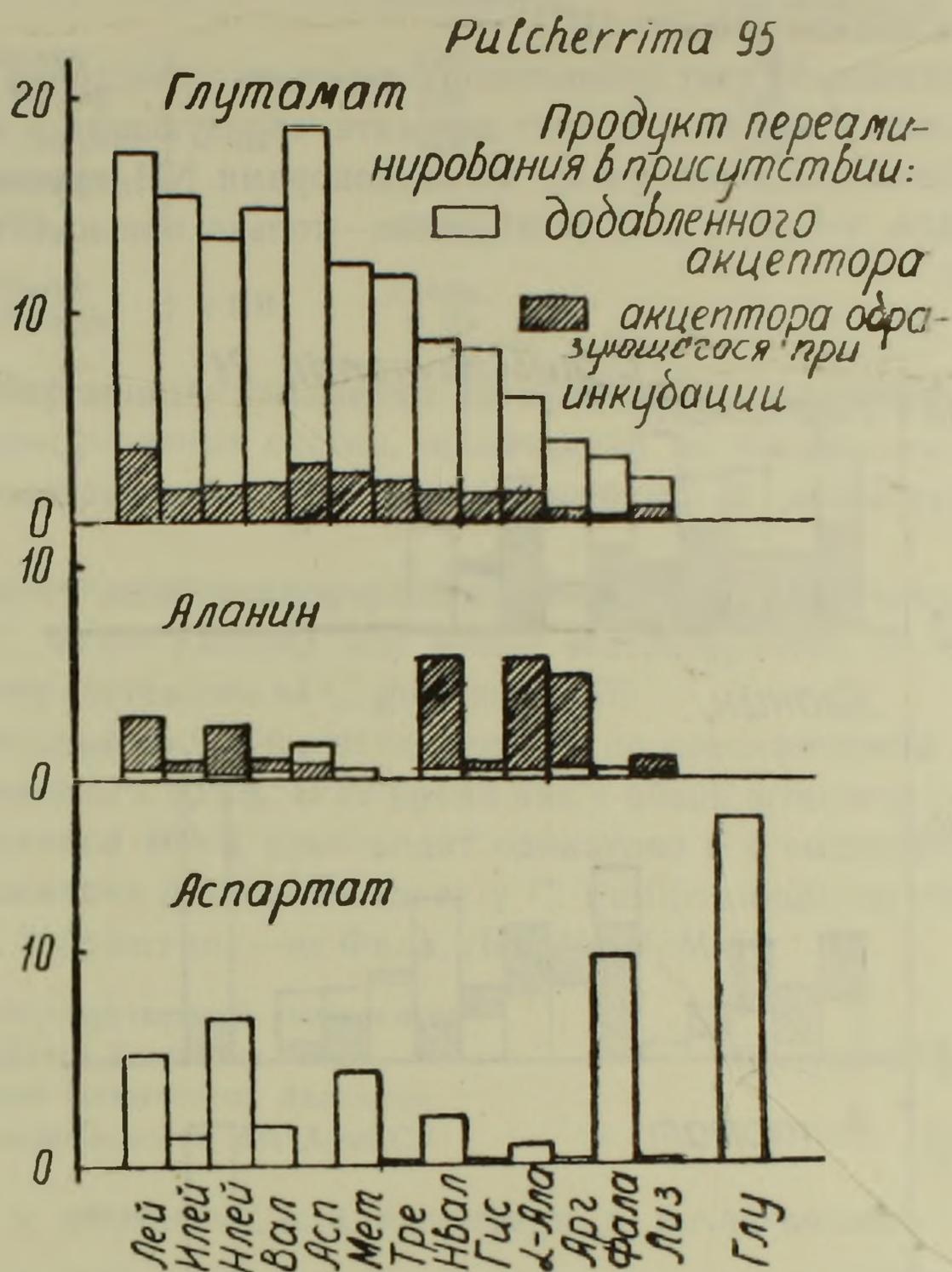


Рис. 1.

количества глутамата и  $\alpha$ -аланина, а в смеси с пируватом—глутамат и следы аспартата.

В указанных условиях глутамат и аланин синтезируются соответственно из кетоглутарата и пирувата, образующихся за счет компонентов экстрактов.

Количество глутамата, синтезируемого в инкубационных смесях, содержащих ПВ или ЩУК, значительно уступает глутамату, образуемому как основной продукт в присутствии добавленного в смесь кетоглутарата; в первом случае, вероятно, уровень кетоглутарата является фактором, ограничивающим синтез глутамата.

Что касается побочно образуемого  $\alpha$ -аланина в смеси, к которой добавлена ЩУК, в большинстве случаев его количество значительно превышает аланин, образуемый в смеси, содержащей добавленный извне пируват.

Побочное образование аминокислот при изучении реакций переаминирования с ПВ и ЩУК описано также в работах с экстрактами из актиномицетов. В этих опытах в реакционной смеси, содержащей внесен-

ные извне кетоглутарат и ЩУК, параллельно с синтезом Глу и Асп имели место образование аланина [1].

Синтез аланина за счет добавленного пирувата происходит интенсивнее по сравнению с синтезом за счет пирувата, образующегося в экстракте у *S. guilliermondii* лишь тогда, когда донорами  $\text{NH}_2$ -группы служат Мет, Глу, Фала,  $\alpha$ -Амк, а у *S. pulcherrima*—только при наличии Асп и притом слабо.

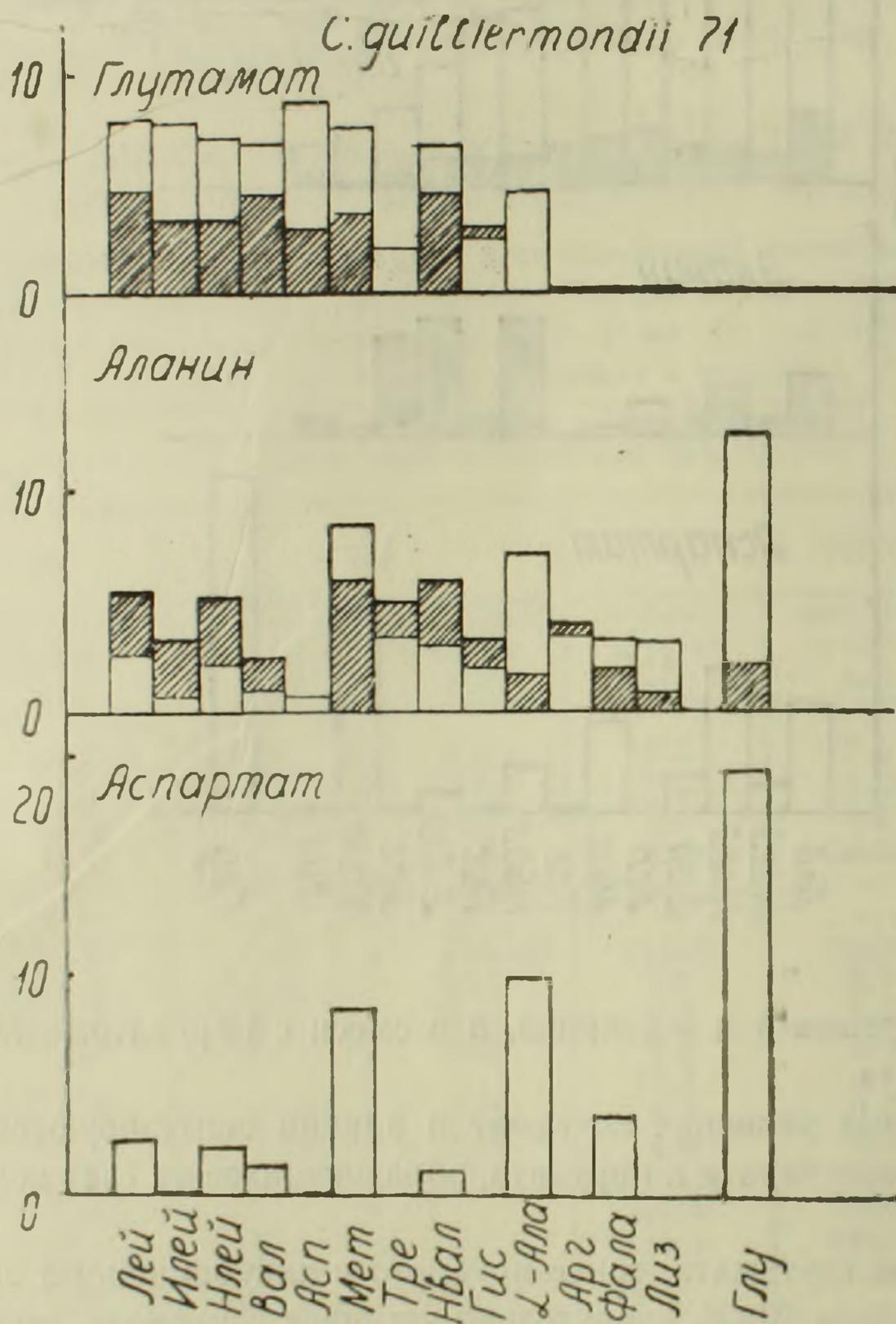


Рис. 2.

Приведенные результаты указывают на определенные расхождения в механизме образования глутамата и аланина в зависимости от происхождения кетокислот, за счет которых они синтезируются. В данном случае необходимо определить, образуются ли указанные аминокислоты путем переаминирования или путем восстановительного аминирования соответствующих кетокислот.

Нижеследующие данные (в мкг Глу и Ала в 1 мл реакционной смеси) показывают, что в условиях проведенных экспериментов основным механизмом синтеза аминокислот можно считать переаминирование.

	<i>C. pulcherrima</i>	<i>C. guilliermondii</i>
Валин	120	98
Лейцин	146	106
Аспартат	124	102
Аланин	—	13
NH <sub>4</sub>	следы	13
Валин	следы	—
Лейцин	0,05	—

Полученные данные указывают на существенные отличия в активности аминотрансферазных систем, извлеченных из исследуемых культур дрожжей и реагирующих с разными донорами и акцепторами NH<sub>2</sub>-группы.

Большинство аминотрансферазных систем из *C. pulcherrima*, реагирующих с КГ, более активно или лучше экстрагируется по сравнению с аналогичными системами из *C. guilliermondii*.

Исследованные культуры отличаются и по специфичности активных систем в отношении к ЩУК. В то время как у обоих штаммов синтез Асп из Глу и внесенной ЩУК происходит одинаково и с высокой интенсивностью, образование Асп интенсивнее у *C. guilliermondii* из Мет, α-Амк и Фала, а у *C. pulcherrima* — из Фала, Лей, Илей, Мет.

Ереванский государственный университет,  
кафедра биохимии  
и лаборатория технической биохимии,  
Институт микробиологии АН АрмССР

Поступило 23.III 1971 г.

Վ. Գ. ԶԱՆԻՔԵԿՈՎԱ, Ե. Ա. ԲՈՔՈՒԵԶԵ, Մ. Ա. ՏԵՐ-ՎԱՐԱՊԵՏՅԱՆ

**CANDIDA ՑԵՂԻ ՈՉ-ԲՋՋԱՅԻՆ ՄՋՎԱԾՔՆԵՐԻ ԱՌԿԱՅՈՒԹՅԱՄԲ ԱՄԻՆԱԹԹՈՒՆԵՐԻ ՎԵՐԱՄԻԱՅՈՒՄԸ ԿԵՏՈԴԱՅՈՒՏԱՐԱՏԻ. ԹՐԹՆՋԿԱՔԱՑԱԽԱԹԹՎԻ ԵՎ ՊԻՐՈՒՆԱՂՂԱԹԹՎԻ**

**Ա մ փ ո փ ո լ մ**

Ուսումնասիրվել են *C. guilliermondii* 71 և *C. pulcherrima* 95 ամինատրանսֆերազային սխտեմները, որոնք փոխադրում են NH<sub>2</sub> խմբի ալցեպտոր կետոպլյուտարաթիվի (ԿԳԹ), թրթնշաքացախաթիվի (ԹԳԹ), պիրոսուլդաթիվի (ՊԽ) և NH<sub>2</sub> խմբի դոնոր որոշ ամինաթթուների հետ:

Երկու շտամների մոտ էլ ամինատրանսֆերազային սխտեմները ամինաթթուների NH<sub>2</sub> խումբը ավելի ինտենսիվ են փոխադրում ԿԳԹ վրա, քան ԹԳԹ և ՊԽ:

Ռեակցիոն խառնուրդին ԹԳԹ և ՊԽ ավելացնելու դեպքում, բացի հիմնական նյութերից՝ ասպարտատ, α-ալանին, գոյանում են նաև այլ ամինաթթուներ: ԹԳԹ պարունակող խառնուրդում հայտնաբերվում է գլյուտամատի և α-ալանինի զգալի քանակություն, իսկ ՊԽ խառնուրդում՝ գլյուտամատ և ասպարտատի հետքեր:

**Л И Т Е Р А Т У Р А**

1. Безбородов А. М. Микробиология, XXXII, вып. 1, 20—25, 1963.  
2. Тер-Карапетян М. А., Джинибекова В. Г. ДАН АрмССР, 48, 3, 164—169, 1969