

М. А. ДАВТЯН, Е. Г. БАГДАСАРЯН, Л. А. НАВАСАРДЯН

## ФРАКЦИИ БЕЛКОВ НЕГОЛОДАЮЩИХ И ГОЛОДАЮЩИХ ПО АЗОТУ ДРОЖЖЕЙ *CANDIDA GUILLIERMONDII* 71

Изучался фракционный состав белков дрожжей *Candida guilliermondii* 71. При азотном голодании у них выявлены глубокие количественные сдвиги в белковых фракциях: резко падает уровень водорастворимой фракции и соответственно увеличивается щелочерастворимой. Происходят также качественные изменения. Об этом свидетельствуют расхождения в количестве белка при определении его по методу Лоури и по общему азоту.

Фракционный состав белков дрожжей, в частности рода *Candida*, изучен недостаточно. В этом отношении более или менее изученными являются дрожжи *C. tropicalis* [2—4]. Что же касается вопроса о фракционном составе белков дрожжей *C. guilliermondii*, то он совершенно не исследован. Цель нашей работы состояла в исследовании фракций белков дрожжей *C. guilliermondii*. Для выяснения роли отдельных белковых фракций в метаболизме клетки нами определялся фракционный состав белков исследуемых дрожжей также при азотном голодании.

**Методика.** Дрожжи *C. guilliermondii* выращивались на синтетической среде Ридера. Способ культивирования и режим выращивания дрожжей описаны в предыдущих публикациях [5, 6]. Выращенная культура подвергалась азотному голоданию по ранее описанному способу [5]. Для фракционирования исходной и голодающей по азоту культур дрожжевые клетки разрушались в стеклянном гомогенизаторе типа Потер-Элведжема в присутствии окиси алюминия.

Фракционирование белка проводилось по общепринятому методу [1], при этом в качестве растворителей использовались  $H_2O$ , 1 м КСl, 80% этанол, 0,2 и 0,5 н NaOH, в результате чего получались следующие фракции: водорастворимая, солерастворимая, спирторастворимая, щелочерастворимая (фракция I и II) и остаток, который не растворялся в используемых растворителях. В отдельных фракциях определялись общий азот (по микрометоду Кьельдаля) и белок (по методу Лоури).

**Результаты и обсуждение.** Данные по количественному содержанию белковых фракций дрожжей *C. guilliermondii* приведены в табл. 1.

Как видно из таблицы, водорастворимая фракция белков составляет  $14,7 \pm 0,72\%$  от веса биомассы, тогда как солерастворимые и спирторастворимые фракции составляют незначительную часть ( $0,28 \pm 0,05$  и  $0,07 \pm 0,015\%$  соответственно). Белки, растворимые в 0,2 н и 0,5 н NaOH, составляют  $5,8 \pm 0,4$  и  $1 \pm 0,09\%$  соответственно. Значительная часть белка ( $6,6 \pm 0,6\%$ ) остается в нерастворимом остатке. Общее содержание белка, т. е. сумма белковых фракций, составляет  $28,4 \pm 1,88\%$ . Согласно

Таблица 1  
Фракционный состав белка дрожжей *S. guilliermondii* 71, %

Фракции	От биомассы дрожжей	От общего количества белка
Водорастворимая	14,7±0,72	52,3±2,2
Солерастворимая	0,28±0,05	0,8±0,05
Спирторастворимая	0,07±0,015	0,25±0,02
Щелочерастворимая I	5,8±0,40	21,3±1,3
Щелочерастворимая II	1±0,09	3,5±0,5
Нерастворимый остаток	6,6±0,6	23±0,8
Сумма	28,4±1,88	

литературным данным [3], содержание белка у дрожжей *S. tropicalis* (культивируемых в жидкой минеральной среде, содержащей октадекан в качестве источника углерода) несколько выше—34—38%.

Различия между *S. guilliermondii* и *S. tropicalis* более выражены в отношении количественного соотношения белковых фракций.

По нашим данным (табл. 1), водорастворимые белки у *S. guilliermondii* составляют почти половину всех белков (52,3±2,2%), в то время как у *S. tropicalis*—21±1%. Что же касается щелочерастворимых белков, то их значительно больше у *S. tropicalis* [3].

В следующей серии опытов нами исследовалось влияние азотного голодания (инкубация 48 час. в среде, содержащей 2% глюкозы, а в дальнейшем — 18 час. в водной среде) на рост биомассы и содержание общего азота, общего белка, а также белковых фракций в ней. Данные, приведенные в табл. 2, показывают, что в процессе голодания, несмотря на отсутствие источника азота, наблюдается определенный прирост биомассы (почти на 50%).

Содержание суммарных белков биомассы (до и после голодания) почти не меняется (хотя процентное содержание белка в биомассе падает, вероятно, вследствие прироста биомассы за счет углеводов).

Таблица 2  
Изменение количества биомассы, общего азота и белка *S. guilliermondii* 71 при азотном голодании, мг

Опыт	Количество биомассы		Количество белка по Лоури		Количество общего азота	
	до голодания	после голодания	до голодания	после голодания	до голодания	после голодания
1	600	965	165	170	34	25,5
2	610	975	165	175	35	27
3	320	435	80	76	17	12,5

Интересным является факт значительного уменьшения количества общего азота биомассы (20—25%) после голодания. Ввиду того, что общий азот экстрагируемого водой пула составляет 10—12% от общего азота биомассы [6], исключается, что уменьшение последнего после голодания происходит за счет уменьшения его в запасном фонде. Очевидно, это уменьшение обусловлено экскрецией конечных продуктов азотного

катаболизма ( $\text{NH}_4^+$ ), протекающего в клетке. Таким образом, при голодании количество суммарных белков не меняется, хотя общий азот снижается. Это, по-видимому, происходит вследствие образования белков, содержащих преимущественно аминокислоты с высоким молекулярным весом или же с меньшим содержанием диаминокислот. Нельзя исключить также факт увеличения содержания фракций белков, дающих максимальную окраску с реактивом Фолина по Лоури. Итак, почти неизменное количество суммарных белков при голодании на фоне уменьшения общего азота свидетельствует о том, что в процессе голодания произошли глубокие качественные и количественные сдвиги во фракционном составе белков дрожжей.

Данные табл. 3 свидетельствуют о том, что, действительно, при азотном голодании происходят глубокие сдвиги во фракционном составе белков.

Таблица 3

Фракционный состав белка дрожжей *S. guilliermondii* 71 после азотного голодания, %

Фракции	От биомассы дрожжей	От общего количества белка
Водорастворимая	5,4 ± 0,23	28,3 ± 0,26
Солерастворимая	0,24 ± 0,02	1,25 ± 0,11
Спирторастворимая	0,04 ± 0,007	0,22 ± 0,02
Щелочерастворимая I	7 ± 0,18	39,5 ± 0,5
Щелочерастворимая II	2,1 ± 0,15	11,5 ± 0,2
Нерастворимый остаток	3,25 ± 0,4	18 ± 0,6
Сумма	18,05 ± 0,98	

При сравнении данных табл. 1 и 3 можно прийти к заключению, что после голодания резко увеличиваются щелочерастворимые фракции белков, и наоборот, уменьшается водорастворимая.

С целью выяснения также и качественных сдвигов внутри белковых фракций нами определялось количество белка как по методу Лоури, так и исходя из содержания общего азота ( $\times 6,25$ ). Соответствующие данные приведены в табл. 4.

Как видно из таблицы, определение белка в водорастворимой фракции (до голодания) по общему азоту дает завышенные цифры по сравнению с методом Лоури. По-видимому, это объясняется тем, что в этой фракции содержится значительное количество небелкового азота (азот запасного фонда). Сказанное подтверждается тем, что после голодания, когда запасной фонд исчерпывается, величины содержания белка, определяемые двумя методами, совпадают.

Интересно, что после голодания щелочерастворимая фракция белков при определении методом Лоури дает более высокие цифры, чем при определении, исходящем из содержания общего азота. Это свидетельствует о том, что щелочерастворимая фракция не является гомогенной и, возможно, после голодания увеличивается одна или несколько подфракций, дающих интенсивную окраску с реактивом Фолина или же содержа-

Таблица 4

Количество общего азота, белка по Лоури и по общему азоту в отдельных белковых фракциях дрожжей *C. guilliermondii* 71 до и после азотного голодания культуры, мг

Фракции	До голодания			После голодания		
	общий азот	белок по общему азоту	белок по Лоури	общий азот	белок по общему азоту	белок по Лоури
Водорастворимая	24,1	150,6	98,5	7,65	47,8	49,5
Солерастворимая	0,88	5,5	1,5	0,6	3,75	2,9
Спирторастворимая	0,21	1,31	0,3	0,16	1	0,32
Щелочерастворимая I	4,55	28,5	30,2	9	56,2	67
Щелочерастворимая II	1,02	6,4	4,6	3,35	20,9	23,5

ших меньше диаминокислот и больше аминокислот с высоким молекулярным весом.

Обнаруживаются некоторые различия в количестве белка при определении двумя методами и в солерастворимых и спирторастворимых фракциях. Однако эти различия, по-видимому, нельзя считать достоверными ввиду незначительного содержания азота в этих фракциях.

Таким образом, совокупность полученных данных позволяет заключить, что при азотном голодании происходят глубокие количественные и качественные сдвиги в белковых фракциях дрожжей.

Ереванский государственный университет,  
кафедра биохимии и лаборатория  
сравнительной и эволюционной биохимии

Поступило 31.X 1972 г.

Մ. Ա. ԳԱՎԹՅԱՆ, Ե. Գ. ԲԱԳԴԱՍԱՐՅԱՆ, Լ. Ա. ՆԱՎԱՍԱՐԳՅԱՆ

ՍՊԻՏԱԿՈՒՅԱՅԻՆ ՖՐԱԿՏԻԱՆԵՐԸ ՔԱՂՑԻ ՉԵՆԹԱՐԿՎԱԾ ԵՎ ԱԶՈՏԱՅԻՆ  
ՔԱՂՑԻ ԵՆԹԱՐԿՎԱԾ *CANDIDA GUILLIERMONDII* 71  
ԽՄՈՐԱՍՆԿԵՐՈՒՄ

Ա. մ. փ. ո. փ. ո. լ. մ.

Ուսումնասիրվել է *C. guilliermondii* խմորասնկերի սպիտակուցի ֆրակցիոն կազմը: Պարզվել է, որ ուսումնասիրված խմորասնկերը պարունակում են  $52,3 \pm 2,2\%$  ջրալուծ սպիտակուցներ,  $24,8 \pm 1,8\%$  հիմնալուծ,  $0,8 \pm 0,005\%$  աղալուծ,  $0,25 \pm 0,02\%$  սպիրտալուծ և  $23 \pm 0,8\%$  վերահիշյալ լուծիչներում չլուծվող սպիտակուցների մնացորդ:

*C. guilliermondii* խմորասնկերի կուլտուրան ազոտային քաղցի ենթարկելու դեպքում, նկատվել են սպիտակուցային ֆրակցիաների խորը բանակական տեղաշարժեր: Քաղցից հետո խիստ նվազել է ջրալուծ ֆրակցիան (իջել է  $52,3 \pm 2,2\%$ -ից  $28,3 \pm 0,26\%$ ) և համասպատասխանաբար ալվելացել է հիմնալուծ ֆրակցիան ( $24,8 \pm 1,8\%$ -ից բարձրացել է  $51 \pm 0,7\%$ ):

Անկասկած, քաղցի պայմաններում տեղի են ունեցել նաև որակական տեղաշարժեր սպիտակուցային ֆրակցիաներում, որի վկայությունն են նկատվող տարբերությունները սպիտակուցի քանակությունը հոուրի մեթոդով և ընդհանուր ազոտի քանակությամբ որոշելիս:

### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Пленков Б. П. Практикум по биохимии растений, М., 1968.
2. Рачинский В. В., Давидова Е. Г., Корчак О. Б. Изв. ТСХА, 5, 227, 1968.
3. Рачинский В. В., Давидова Е. Г., Корчак О. Б. Прикл. биохим. и микробиол., 7, 6, 621, 1971.
4. Рачинский В. В., Давидова Е. Г., Корчак О. Б. Прикл. биохим. и микробиол., 8, 2, 215, 1972.
5. Тер-Карапетян М. А., Макарова Е. Н., Цатурян С. С. Биологический журнал Армении, 21, 9, 1968.
6. Halvorson H., Fry W., Schwemmin D. J. Gen. physiol. 38, 4, 549, 1955.