Л. Е. ЛАЧИНЯН, С. С. ЦАТУРЯН, М. А. ДАВТЯН

ДЕЗАМИНИРОВАНИЕ АЗОТСОДЕРЖАЩИХ СУБСТРАТОВ ДРОЖЖАМИ РОДА CANDIDA

Выявлена дезаминирующая активность в суспензиях целых клеток дрожжей *Candida guilliermondii* 71 (ВКМ-У-42) и *Candida tropicalis* ДН-3 (ВКМ-У-959) в отношении ряда аминокислот, а также глюкозамина. Гомогенаты дрожжей не проявляют указанную активность. Доказано стимулирующее влияние голодания дрожжевой культуры на интенсивность дезаминирования аланина и глутаминовой кислоты в суспензиях целых клеток.

Дрожжи рода *Candida* обладают ферментативными системами, обеспечивающими рост клеток в присутствии аминокислот—единственных источников азота [6, 8, 9, 13, 23, 26].

Очевидно, первичным механизмом усвоения аминокислот является отщепление аминной группы, главным образом путем переаминирования и дезаминирования. Показано интенсивное трансаминирование многих D и L-аминокислот как суспензиями, так и бесклеточными препаратами дрожжей рода *Candida* [3, 4].

В предыдущем сообщении было показано интенсивное выделение аммиака при инкубировании суспензий дрожжей *Candida guilliermondii* 71 (ВКМ-У-42) в присутствии аланина, одновременно являющегося единственным источником углерода и азота [7].

В настоящей работе испытывалась возможность дезаминирования аминокислот, а также некоторых нуклеотидов, нуклеозидов, пуриновых и пиримидиновых азотистых оснований и гексозаминов у изучаемых дрожжей.

Материал и методика. Объектом исследования служили представители рода *Candida*, *C. guilliermondii* 71, (ВКМ-У-42) и *C. tropicalis* ДН-3 (ВКМ-У-959), полученные из Отдела типовых культур Института микробиологии АН СССР. Методика выращивания дрожжей описывалась ранее [5]. Дезаминирующая активность азотсодержащих субстратов определялась инкубированием суспензий целых дрожжевых клеток (50—100 мг абсолютно сухих дрожжей на пробу) или гомогенатов (2—3 мг белка на пробу) в присутствии субстратов в фосфатном 0,1 М К₂Н₄Р₂О₇ буфере, рН 7,4 с 0,0001 М MgCl₂ в атмосфере воздуха при непрерывном качании, с последующим определением отщепившегося аммиака микродиффузионным методом Зелитсона в модификации Силаковой и сотр. [11]. Белок определялся по методу Лоури [21]. Гомогенизация проводилась в стеклянном гомогенизаторе типа Поттера-Элведжема с порошком Al₂O₃ в фосфатном буфере.

Результаты и обсуждение. Данные о приросте аммиака при инкубировании в среде с различными азотсодержащими субстратами приведены в табл. 1.

Таблица 1

Прирост свободного аммиака из азотсодержащих субстратов целыми клетками и гомогенатами дрожжей рода *Candida*. (Исходное количество аммиака в среде 25 мкмоль для L изомеров и нуклеотидов, 50 мкмоль для DL изомеров, время инкубации 1 час при 37°, объем исследуемых проб 4 мл)

Субстрат	Целые клетки NH ₃ , мкм на 100 мг абс. сух. дрожжей	Гомогенат NH ₃ , мкм на 1 мг белка
<i>Candida guilliermordii</i> 71		
L-глицин	13,85 ± 0,02	0
L-серин	12,86 ± 0,06	0
L-цистеин	5,31 ± 0,003	0
L-аспарагиновая кислота	22,6 ± 0,05	0
L-глутаминовая кислота	8,31 ± 0,03	0
L-гистидин	0	0
DL-аланин	5,32 ± 0,63	0
L-аланин	6,08 ± 0,92	0
L-глюкозамин	6,80 ± 0,85	0
L-галактозамин	1,60 ± 0,20	0
<i>Candida tropicalis</i> DH ₃ -3		
L-глицин	17,81 ± 0,04	0
L-серин	30,30 ± 0,03	0
L-цистеин	35,50 ± 0,02	0
L-аспарагиновая кислота	0,4 ± 0,01	0
L-глутаминовая кислота	2,85 ± 0,03	0
L-гистидин	2,82 ± 0,01	0
Аденин	0	3,42 ± 0,01
Гуанин	0	0
Урацил	0	0
Тимин	0	0
Никотин амид	0	0
НАД	0	0
НАДФ	0	0
АМФ	0	0
АДФ	0	0
АТФ	0	0
ЦТФ	0	0

Как показывают приведенные данные, суспензии целых дрожжевых клеток подвергают интенсивному дезаминированию ряд природных аминокислот. Из гексозаминов наиболее интенсивно дезаминируются глюкозамин, значительно слабее — галактозамин. Однако некоторые аминокислоты, подвергаемые дезаминированию, не являются эффективными источниками азота в отношении роста биомассы [5, 9, 10].

При исследовании возможностей дезаминирования тех же источников азота в гомогенатах дрожжей оказалось, что проявляется лишь адениндезаминирующая активность. Обобщая полученные данные, следует подчеркнуть, что сохранение целостности клетки является необходимым условием для проявления дезаминирующей активности. Необходимо

также подчеркнуть, что и в гомогенатах животных тканей также не обнаруживается дезаминирующая активность в отношении природных аминокислот, хотя при перфузии органов или в срезах почек эта активность проявляется [1, 15, 16, 18—20, 22]. Можно предположить, что ферментные системы дезаминирования аминокислот, подобно глутаматдегидрогеназе, по-видимому, имеют низкие значения констант равновесия и, возможно, ингибируются аммиаком, вследствие чего при нарушении механизма экскреции азота (при дезинтеграции клеток) не проявляется дезаминирующая активность этих ферментов. Это совпадает с нашими предыдущими данными [2] о наличии в гомогенатах изучаемых дрожжей выраженной активности аминирования кето-кислот, главным образом, пирувата. Следует, однако, отметить, что нельзя исключить возможность существования в изучаемых дрожжах отдельных изоэнзимов, обеспечивающих либо катаболизм аминокислот (дезаминирование), либо их анаболизм (прямое аминирование кето-кислот), подобно существующим изоэнзимам глутаматдегидрогеназы у некоторых организмов, в том числе дрожжей [17, 24].

Наличие ферментной системы дезаминирования аминокислот у изучаемых дрожжей доказывается и в опытах с голодающей культурой; данные представлены в табл. 2.

Таблица 2

Выделение свободного аммиака из суспензий дрожжей *Candida guilliermondii* 71 (ВКМ-У142) в зависимости от способа голодания. (Исходное количество аммиака 720 мкмоль, время инкубации 4 часа при 30°, объем инкубационных проб 50 мл, аммиак в этих опытах определялся по Кьельдалю) NH₃, мкмоль на 100 мг абс. сухих дрожжей

Вариант	Аланин	Глу, кислота
Исходная культура	154	112,3
Голодающая по азоту культура (48 часов в 2% глюкозе)	56,0	57,0
Голодающая по углероду и азоту культура (48 часов в H ₂ O)	308,7	427

Данные таблицы показывают, что дрожжи после предварительного 48-часового голодания на воде проявляют более высокую аланин- и глутаматдезаминирующую активность. По-видимому, ферментные системы дезаминирования аминокислот при этом подвергаются индукции за счет продуктов белкового катаболизма, интенсивно протекающего при голодании. А при 48-часовой инкубации дрожжей в среде с 2% глюкозой (азотное голодание), наоборот, дезаминирующая активность дрожжей резко падает. Очевидно, при этом происходит катаболитная репрессия глюкозой ферментативной системы дезаминирования аминокислот.

На основании полученных данных можно заключить, что дрожжи *Candida* обладают ферментативными возможностями дезаминирования ряда аминокислот аденина и глюкозамина.

В гомогенатах дрожжей проявляется дезаминирующая способность лишь в отношении аденина, другие азотсодержащие субстраты в гомогенатах не дезаминируются, вероятно, вследствие низких значений констант равновесия соответствующих ферментов дезаминирования или же ингибирования последних аммиаком. Указанные ферментные системы, по-видимому, подвергаются индукции, а также катаболитной репрессии.

Ереванский государственный университет,
кафедра биохимии

Поступило 13.1 1975 г.

Լ. Ե. ԼԱՉԻՆՅԱՆ, Ս. Ս. ԾԱՏՈՒՐՅԱՆ, Մ. Ա. ԴԱՎԹՅԱՆ

ԱԶՈՏ ՊԱՐՈՒՆԱԿՈՂ ՍՈՒԲՍՏՐԱՏՆԵՐԻ ԴԵԶԱՄԻՆԱՑՈՒՄԸ
CANDIDA ՅԵՂԻ ԽՄՈՐԱՍՆԿԵՐԻ ՄՈՏ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Մի շարք ամինաթթուների (գլիցին, սերին, ցիստեին, ասպարագինաթթու, գլուտամինաթթու հիստիդին և ալանին), ինչպես նաև գլյուկոզամինի նկատմամբ հայտնաբերվել է դեզամինացվող ակտիվություն *Candida guilliermondii* 71 (BKM-Y-42), *Candida tropicalis* ДН-3 (BKM-Y-959) խմորասնկերի ամբողջական բջջի սուսպենզիայում:

Խմորասնկերի հոմոգենատը չի ցուցաբերում նշված ակտիվությունը: Ադենին դեզամինազային ակտիվություն է հայտնաբերվել *Candida tropicalis* ДН-3 (BKM-Y-959) հոմոգենատում:

Բացահայտվել է քաղցի խիտանիչ ազդեցությունը խմորասնկերի ամբողջական սուսպենզիայում ալանինի և գլուտամինաթթվի դեզամինացման ինտենսիվության վրա: Խմորասնկային սուսպենզիայի ինկուբացիան գլյուկոզայի միջավայրում ազոտի աղբյուրի բացակայության պայմաններում բերում է վերջին ակտիվությունների ճնշմանը:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бунятян Г. Х., Оганесян А. С., Геворкян Ж. С. ДАН СССР, 177, 4, 1967.
2. Давтян М. А., Атанесян М. Б., Лачинян Л. Е. Биологический журнал Армении, 28, 10, 1975.
3. Джанибекова В. Г., Бобохидзе Е. А., Тер-Карапетян М. А. Биологический журнал Армении, 24, 5, 1971.
4. Джанибекова В. Г. Биологический журнал Армении, 26, 2, 1973.
5. Инджикян С. М. Уч. зап. ЕГУ, 1, 1969.
6. Коновалов С. А. Биохимия дрожжей, 1962.
7. Лачинян Л. Е., Давтян М. А. Биологический журнал Армении, 25, 10, 1972.
8. Макарова Е. Н. Микробиология, 42, 260, 1973.
9. Попов Ю. Г., Давтян М. А. Биологический журнал Армении, 27, 1, 1974.
10. Попов Ю. Г., Чубарян С. В. Биологический журнал Армении, 25, 12, 1972.
11. Силакова А. И., Труш Г. П., Явилякова А. Вопр. мед. химии, 8, 538, 1962.
12. Тер-Карапетян М. А., Инджикян С. М. ДАН АрмССР, 43, 2, 1966.
13. Barton-Wright E. C. Wallerst. Lab. Com. 2, 39, 1949.
14. Bernheim F., Bernheim M. J. biol. Chem. 106, 79, 1934.
15. Dakin H. Oxidations and reductions in the animal body, London, 1922.

16. Euler H. von Adler E., Günther G. and Das N. B. Hoppe-Seyler's J. physiol. Chem. 254, 61, 1938.
17. Hierholzer G. and Holzer H. Biochem. Zt. 339, 175, 1963.
18. Knoop F. J. physiol. Chem. 67, 489, 1910.
19. Krebs H. A. J. physiol. Chem. 217, 91, 1933.
20. Krebs H. A., Eggleston L. V. and Hems R. Biochem. J., 43, 406, 1948.
21. Lowry O. M., Rosenbrough N. S., Farr A. A., Randle R. S. J. Biol. Chem. 193, 265, 1951.
22. Neubauer O. Dtsch. Arch. Klin. Med. 95, 11, 1909.
23. Nielsen N., Hartelius V. Biochem Zt. 296, 359, 1959.
24. Nunez de Castro and all. Moll. and Cell. Biochem. 3, 2, 1974.
25. Schults a. and Pomper S. Arch. Biochem. 19, 184, 1948.
26. Thorne R. J. Jnst. Brewing, 47, 255, 1941.