

Е. Н. МАКАРОВА, А. Б. МЕЛКОНЯН

УСВОЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ СЕМЕЙСТВА ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ В КАЧЕСТВЕ ЕДИНСТВЕННЫХ ИСТОЧНИКОВ УГЛЕРОДА И АЗОТА ДРОЖЖАМИ РОДА CANDIDA И SACCCHAROMYCES

Из аминокислот семейства глутаминовой кислоты в качестве единственных источников углерода дрожжами рода *Candida* могут использоваться глутаминовая кислота, глутамин, пролин и орнитин, дрожжами рода *Saccharomyces* лишь глутаминовая кислота. Названные аминокислоты целесообразнее использовать в качестве дополнительного источника углерода на средах с углеводородами.

В настоящее время хорошо изучены вопросы об усвоении различных аминокислот как единственных источников азота и в качестве специфических факторов роста и добавок к неорганическим источникам азота в глюкозосодержащей среде [2—4]. В меньшей степени изучено усвоение аминокислот в качестве единственных источников углерода [3, 7]. Однако изучение утилизации углеродного скелета аминокислот представляет большой интерес, в частности с точки зрения понимания механизма включения в клеточный обмен аминокислоты в целом, позволяющего регулировать процесс роста у дрожжей. Специфика усвоения углеродного скелета аминокислот является к тому же одним из важных показателей, которые могут быть использованы при классификации дрожжей [1, 9].

Целью данной работы явилось изучение влияния аминокислот семейства глутаминовой кислоты в качестве единственных источников углерода и азота на накопление биомассы у восьми культур дрожжей, а также на содержание общего азота в биомассе.

Кроме того, перед нами стояла задача выявить влияние глутаминовой кислоты в качестве дополнительного источника углерода на скорость роста и накопление сырого протеина в биомассе углеводород-окисляющего штамма *S. guilliermondii* НП-4.

Материал и методика. Объектом исследования служили музейные культуры: *S. chevaleri* ВКМ У-37; *S. guilliermondii* ВКМ У-42, *S. guilliermondii* var. *membr.* ВКМ У-43, *S. utilis* ВКМ У-74, *S. tropicalis* КЗ-10, *S. carlsbergensis* шт. 108 и ВКМ у-1173, а также производственный углеводородокисляющий штамм *S. guilliermondii*: НП-4, полученный из ВНИИсинтезбелок.

Опыты проводились в жидкой синтетической среде следующего состава (%): KH_2PO_4 —0,123; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ —0,0625; NaCl —0,0125; CaCl_2 —0,0125. В качестве источника углерода и азота использовались глутаминовая кислота—0,7; глутамин—0,35; пролин—0,72; аргинин—0,84; орнитин—0,4; цитруллин—0,28. Во всех вариантах в опыт вносилось одинаковое количество элемента углерода, соответствующее 1% глюкозы. Контролем служили варианты, в которые вместе с аминокислотами

вносилась также глюкоза. Продолжительность опытов—72 часа. Оценка результатов производилась по количеству накапливаемой биомассы через каждые 24 часа. Общий азот определялся микрометодом Кьельдаля.

Результаты и обсуждение. Динамика накопления биомассы. Полученные данные представлены в таблице 1 и на рис. 1, 2. *C. chevalieri*

Таблица 1
Усвоение аминокислот в качестве единственных источников углерода и азота дрожжами рода *Candida* и *Saccharomyces*

Источники углерода и азота	Биомасса, мг абс. сух. в-ва/100 мл среды		
	24 час.	48 час.	72 час.
<i>Candida chevalieri</i> ВКМ У—37			
Глутаминовая кислота	166	510	530
Глутамин	70	280	280
Аргинин	15	16	18
Пролин	20	96	410
Орнитин	16	41	320
Цитруллин	16	20	20
<i>Candida guilliermondii</i> ВКМ У—42			
Глутаминовая кислота	36	169	300
Глутамин	40	120	210
Аргинин	12	18	15
Пролин	25	86	300
Орнитин	16	68	131
Цитруллин	10	15	15
<i>Saccharomyces carlsbergensis</i> шт. 108			
Глутаминовая кислота	10	26	138
Глутамин	15	26	42
Аргинин	0	0	0
Пролин	10	10	18
Орнитин	0	0	0
Цитруллин	0	0	0

и *C. guilliermondii* ВКМ у-42 являются культурами, которые хорошо усваивают аминокислоты семейства глутаминовой кислоты в качестве источников азота на глюкозосодержащей среде. Уровень накопленной биомассы высок, он достигает максимума через 18—24 часа. Исключение составляет цитруллин, который усваивается хуже, лишь на вторые сутки. Когда в среде нет глюкозы и в качестве источника углерода используется углеродный скелет указанных аминокислот, то отношение культур к ним меняется—усвоение аминокислот наступает после продолжительной лаг-фазы. В случае с глутаминовой кислотой она продолжается около восьми часов у *C. chevalieri* и около 12—15 час. у *C. guilliermondii*, с глутамином—около 16 и 12 час. соответственно, а с пролином и орнитинном—почти двое суток. После лаг-периода культуры начинают интенсивно расти, причем в варианте с глутаминовой кислотой и глутамином медленнее, чем в глюкозосодержащей среде; максимальное количество биомассы отмечается через 60—72 час.

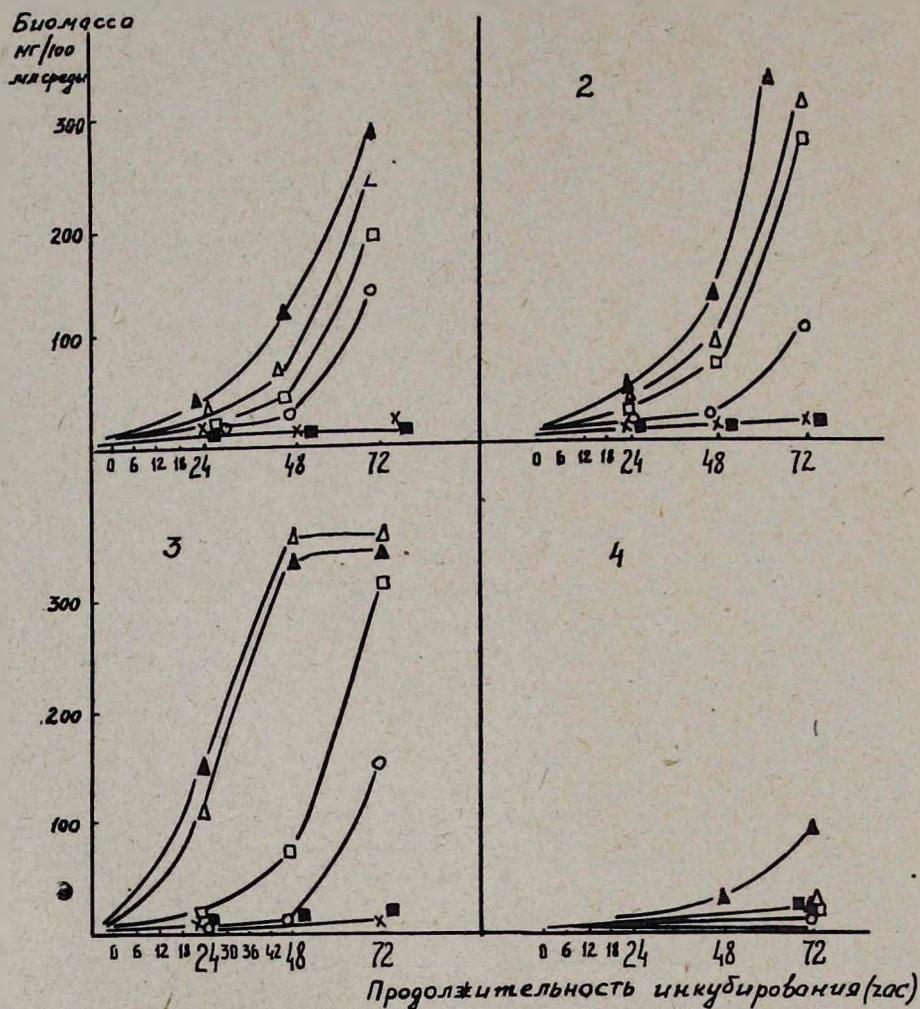


Рис. 1. Усвоение аминокислот семейства глутаминовой кислоты в качестве единственных источников углерода и азота дрожжами *Candida* и *Saccharomyces*. 1. *C. guilliermondii* var. membr. 2. *C. tropicalis* K3-10. 3. *C. utilis*. 4. *S. carlsbergensis* шт. 1173. ▲ — глутаминовая кислота, □ — глутамин, ■ — аргинин, △ — пролин, ○ — орнитин, × — цитруллин.

Уровень биомассы, накапливаемый производственным штаммом *C. guilliermondii* НП-4, значительно выше по сравнению с таковым у музейных культур. В глюкозосодержащей среде с глутаминовой кислотой, глутамином и пролином (рис. 2) количество биомассы достигало 1 г/100 мл и больше; в средах с орнитином, цитруллином и аргинином—600—700 мг, с сульфатом аммония—500 мг/100 мл. В среде без глюкозы хороший рост культуры, как и у музейных культур, наблюдался лишь в вариантах с глутаминовой кислотой и пролином. Другие аминокислоты плохо использовались в качестве источников углерода.

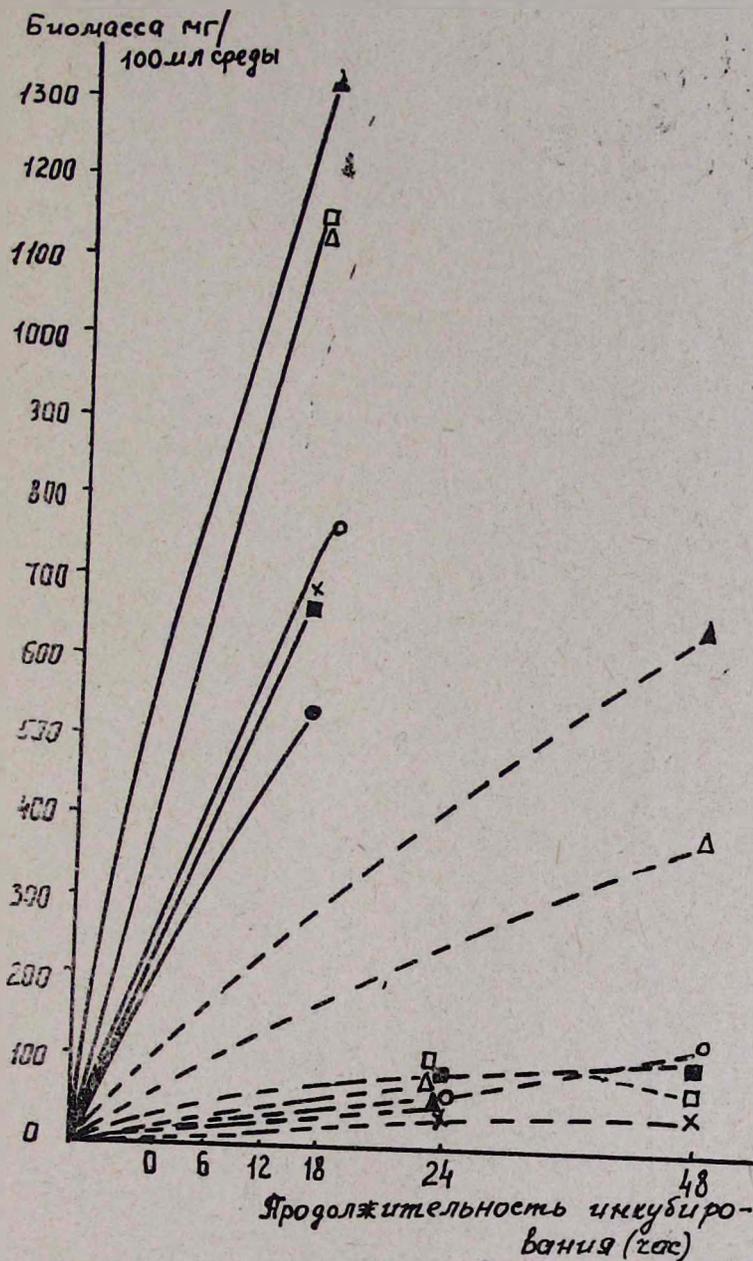


Рис. 2. Усвоение аминокислот семейства глутаминовой кислоты в качестве единственных источников азота и углерода дрожжами *S. guilliermondii* НП.-4. --- источники углерода и азота, — источники азота в среде с глюкозой, ● — сульфат аммония, ▲ — глутаминовая кислота, ■ — аргинин, △ — проллин, ○ — орнитин, × — цитруллин.

Культуры дрожжей рода *Saccharomyces*, так же как и рода *Candida*, хорошо использовали аминокислоты семейства глутаминовой кислоты в качестве источников азота в среде с глюкозой. При этом Биологический журнал Армении, XXIX, №6—5

наблюдалось различное отношение дрожжей рода *Candida* и *Saccharomyces* к одной и той же аминокислоте. Так, оба штамма *S. carlsbergensis* больше всего биомассы накапливали в среде с глутамином и пролином; цитруллин и глутаминовая кислота усваивались одинаково. У *S. carlsbergensis* 1173 и 108 слабее проявлялась способность к усвоению аминокислот в качестве единственных источников углерода и азота.

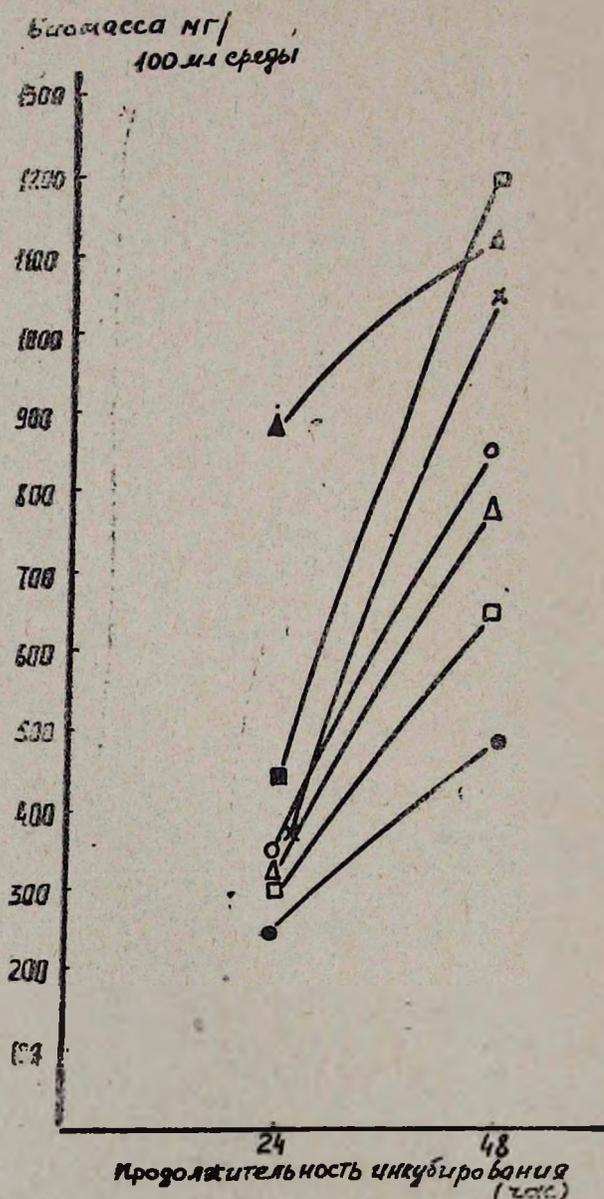


Рис. 3. Рост дрожжей *C. guilliermondii* НП-4 на среде с *n*-алканами и разными источниками азота. Условные обозначения те же, что и на рис. 1, 2.

Использование аминокислот в качестве дополнительных источников углерода в среде с *n*-алканами. На рис. 3 представлены данные о влиянии аминокислот семейства глутаминовой кислоты на углеводородоокисляющую активность *C. guilliermondii* НП-4.

Как и в среде с глюкозой, наиболее высокий уровень биомассы отмечался в вариантах с аминокислотами, а не с сульфатом аммония. Однако усвояемость аминокислот находилась в зависимости от источника углерода: при наличии глюкозы лучше усваивались глутамин и пролин, а *n*-алканов—аргинин и цитруллин. Лишь глутаминовая кислота в обоих случаях обуславливала самый высокий уровень биомассы. С этим источником азота за сутки нарастало 900—1000 мг/100 мл биомассы, т. е. столько, сколько в других вариантах за 48—72 часа.

Эти данные побудили провести опыты для выяснения влияния глутаминовой кислоты как добавки в количестве 10% нормы к среде с *n*-алканами и сульфатом при культивировании *C. guilliermondii* НП-4 и *C. tropicalis* КЗ-10 (табл. 3). Результаты опытов показали, что ука-

Таблица 2
Влияние глутаминовой кислоты на накопление биомассы и содержание в ней сырого протеина у *C. guilliermondii* НП-4 и *C. tropicalis* КЗ-10

Условия культивирования	Биомасса абс. сух. в-ва/100 мл	Сырой протеин	
		% к АСБ	мг/100 мл среды
<i>Candida guilliermondii</i> НП-4			
<i>n</i> -алканы с сульфатом аммония	480	54,4—59,4	261,1—285,7
<i>n</i> -алканы с глутаминовой кислотой	1172	35,0—42,5	409,5—487,3
<i>n</i> -алканы с сульфатом аммония и 10% нормы глутаминовой кислоты	781	46,2—51,3	360,4—400,0
<i>Candida tropicalis</i> КЗ-10			
<i>n</i> -алканы с сульфатом аммония	105	43,1—48,1	45,3—50,5
<i>n</i> -алканы с глутаминовой кислотой	607	31,3—35,0	190,9—213,5
<i>n</i> -алканы с сульфатом аммония и 10% нормы глутаминовой кислоты	396	40,0—42,5	158,4—168,3

занная концентрация аминокислот оказалась достаточной для стимулирования начальной фазы роста культур. У обеих культур уровень биомассы, накопленной на среде с аминокислотами, намного превосходил таковой в контрольной среде без добавки. За 48 час. рост культур прекращался, дальнейшее инкубирование не приводило к увеличению количества биомассы, а наоборот, наблюдалось некоторое его снижение за счет начавшегося лизиса клеток.

Согласно полученным данным, у *C. guilliermondii* НП-4 и *C. tropicalis* КЗ-10 самый высокий процент сырого протеина (к абсолютно сухой биомассе) получен при выращивании на среде с сульфатом аммония (54—59% у *C. guilliermondii* НП-4 и 43—48% у *C. tropicalis* КЗ-10), что в пересчете на 100 мл питательной среды составило 261—285 и 45—50 мг соответственно.

На среде с глутаминовой кислотой количество сырого протеина резко снижалось и достигало у *C. guilliermondii* НП-4 35—42,5, а у *C. tropicalis* КЗ-10 31,3—35% к АСБ. Поскольку выход биомассы в этом варианте был высокий, то и содержание сырого протеина на 100 мл среды оказалось значительно больше (по сравнению с вариантом с сульфатом аммония) и достигало 409,5—487,3 и 190,9—213,5 мг соответственно. Таким образом, внесение глутаминовой кислоты способствовало не только повышенному выходу биомассы, но и увеличению концентрации сырого протеина в клетках.

Как было показано ранее в опытах Лачинян и Давтян [3], увеличение нормы сульфата аммония не оказывает стимулирующего действия на выход биомассы дрожжей в глюкозосодержащей среде. Исходя из этого, мы предполагаем, что стимулирующее действие добавки глутамата к сульфату аммония на среде с n-алканами объясняется именно усвоением углеродного скелета указанной аминокислоты как дополнительного источника углерода.

Институт микробиологии АН АрмССР

Поступило 29.XII 1975 г.

Ե. Ն. ՄԱԿԱՐՈՎԱ, Ա. Բ. ՄԵԼՔՈՆՅԱՆ

CANDIDA և SACCHAROMYCES Ցեղերի ԽՄՈՐԱՍՆԿԵՐԻ
ԿՈՂՄԻՑ ԳԼՈՒՏԱՄԻՆԱԹՎԻ ԸՆՏԱՆՔԻ ԱՄԻՆԱԹՈՒՆԵՐԻ ՅՈՒՐԱՑՈՒՄԸ
ԱՐՊԵՍ ԱՍԽԱՄՆԻ ԵՎ ԱԶՈՏԻ ՄԻԱՎ ԱՂՔՅՈՒՐԻ

Ա մ փ ո փ ու մ

Ուսումնասիրվել է գլուտամինաթթվի խմբի ամինաթթուների ազդեցությունը, որպես ազոտի և ածխածնի միակ աղբյուրի կենսազանգվածի կուտակման վրա կուլտուրայի աճի դինամիկայում և ընդհանուր ազոտի ու ամինաթթուների պարունակության վրա:

Մեր խնդիրն է եղել նաև հայտնաբերել գլուտամինաթթվի ազդեցությունը որպես ածխածնի լրացուցիչ աղբյուրի *C. guilliermondii* НП-4-ի աճի արագության և թիմասսայում պրոտեինի կուտակման վրա:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Елинов Н. Автореф. докт. дисс., Л., 1961.
2. Иерусалимский Н. Азотное и витаминное питание микробов. М., 1949.
3. Лачинян Л., Давтян М. Биологический журнал Армении, 25, 10, 38, 1972.
4. Макарова Е. Микробиология, 42, 2, 260, 1973.
5. Самойлов П., Федулова И., Грищенко В., Сургучева Н., Ерошин В. Прикл. биохим. и микробиол., 3, 3, 366, 1967.
6. Хайс И., Мацек Х. Хроматография на бумаге. М., 1962.
7. Claasen, Bioch. Zs., 275, 350, 1934.
8. Romano A., Nickerson W. J. Bact., 75, 2, 161, 1958.
9. Schultz A., McMannus D., Pomper S. Arch. Biochem., 2, 412, 1949.
10. Thorne R. Wallerstein Lab. Comm., 13, 43, 319, 1950.