

13. Юркова Г. Н., Ничик М. М., Левенко Б. А., Старченков Е. Г. ДАН СССР, 230, 4, 1006—1008, 1976.
14. Child J. J., Za Rue T. A. Plant Physiol., 53, 1, 89—90, 1974.
15. Holsten R. D., Burns R. C., Hardy R. W. F., Herbert R. R. Nature, 232, 5307, 173—176, 1971.
16. Phillips D. A. Plant Physiol., 53, 1, 67—72, 1974.
17. Phillips D. A. Plant Physiol., 54, 4, 654—655, 1974.
18. Scofield N. R. Nature, 233, 5490, 351—352, 1974.

Ереванский государственный университет,
кафедра физиологии и анатомии растений

Поступило 8.IV 1985 г.

УДК 577.15.591.8

ИЗОЭНЗИМНЫЙ СПЕКТР ТРАНСАМИНАЗЫ РАЗВЕТВЛЕННЫХ АМИНОКИСЛОТ В ПРОЦЕССЕ РОСТА ДРОЖЖЕЙ РОДА *CANDIDA*

И. В. ГОГНИЯН, М. А. ДАВТЯН

Обнаружено резкое снижение активности трансаминазы разветвленных аминокислот бесклеточного экстракта дрожжей при выращивании их в течение 12, 18 и 24 часов. Выявлены некоторые количественные сдвиги в изоэнзимном спектре трансаминазы разветвленных аминокислот: активность ФIII с увеличением продолжительности выращивания падает (активность ФI и ФII при этом не меняется).

Կետրանկերի անձան 12, 18 և 24 ժամվա ընթացքում դիտվել է նրանց ակտիվ էնսիմների հստակ-հստակ ամինաթթուների տրանսամինազայի ակտիվության խիստ նվազում: Այդ դեպքում հայտնաբերվել են որոշ քանակական տեղաշարժեր ճյուղավորված ամինաթթուների տրանսամինազայի իզոէնզիմային սպեկտրում՝ ФIII-ի ակտիվությունը անձան ընթացքում զգալի նվազում է (ФI և ФII ակտիվությունը փոփոխության չի ենթարկվում):

The activity of transaminase of yeasts branched amino acids cellfree extract decreases quite sharply during the growth of yeasts in course of 12, 18 and 24 hours. Some quantitative changes in the isoenzyme spectrum of branched amino acids transaminase are detected: during the growth the activity of ФIII decreases (the activity of ФI and ФII is not changed).

Ключевые слова: дрожжи, трансаминаза разветвленных аминокислот, изоферменты.

Ранее нами было установлено, что дрожжи *Candida guilliermondii* ВКМ У-42 содержат, по крайней мере, три изофермента трансаминазы разветвленных аминокислот, два из которых (ФI и ФIII) специфичны ко всем трем разветвленным аминокислотам (валин, лейцин, изолейцин), а один (ФII)—лишь к лейцину [1]. Выделенные изоэнзимы по своей субстратной специфичности и некоторым кинетическим свойствам напоминают соответствующие ферменты животного происхождения [2].

Следует отметить, что физиологическая роль каждого из изоферментов до настоящего времени неясна. Очевидно, в выяснении этого вопроса определенную роль могут сыграть результаты исследования возможных сдвигов в изоферментном спектре при различных физиологических состояниях живого организма.

В литературе имеются данные, согласно которым спектр изоферментов трансаминазы разветвленных аминокислот претерпевает определенные качественные и количественные изменения в зависимости от физиологического состояния животных (в онтогенезе крыс, в нормальных и опухолевых клетках различных животных, в регенерирующей печени крысы и т. д.) [4-6].

Цель настоящего исследования заключалась в изучении изоферментного спектра трансаминазы разветвленных аминокислот в течение роста дрожжей.

Материал и методика. Выращивание дрожжей, разделение изоферментов и определение ферментативной активности осуществляли по ранее описанному методу [1]. Урожай дрожжей собирали через 12 (середина экспоненциальной фазы), 18 (конец экспоненциальной фазы) и 24 (стационарная фаза) часа. В качестве донора аминокислотной группы использовали лейцин, акцептора — α -кетоглутаровую кислоту.

Результаты и обсуждение. На первом этапе исследований изучалась общая активность ферментов переаминирования разветвленных аминокислот в бесклеточном экстракте дрожжей (табл. 1).

Таблица 1. Лейцин- α -кетоглутараттрансаминазная активность бесклеточного экстракта дрожжей в зависимости от продолжительности выращивания

Продолжительность выращивания, ч	Активность, мг глу	
	на 100 мг сухих дрожжей	удельная
12	14.4	0.85
18	4.2	0.63
24	2.0	0.76

Как видно из таблицы, наивысшей активностью переаминирования лейцина дрожжевые клетки обладают в середине экспоненциальной фазы роста. Далее активность процесса падает и достигает минимального значения в стационарной фазе. Интересно отметить, однако, что удельная активность переаминирования лейцина в процессе роста дрожжей почти не меняется.

В этих опытах нами была замечена определенная закономерность в изменении количества водорастворимого белка в зависимости от продолжительности выращивания дрожжей. Как видно из табл. 2, наи-

Таблица 2. Количество биомассы и водорастворимого белка в зависимости от продолжительности выращивания дрожжей

Продолжительность выращивания, ч	Количество сухих дрожжей, мг	Общее количество белка, мг	Количество белка в 100 мг сухих дрожжей
12	152.0	25.9	17.0
18	422.0	26.1	6.2
21	422.0	11.1	2.6

большее количество его обнаруживается в дрожжах, выращиваемых в течение 12 часов. К 18-му часу оно заметно снижается, а к 24-му достигает минимального значения.

Подобные результаты были получены Рачилеким и его сотрудниками [3], которые вели систематические исследования изменения белковых фракций дрожжей рода *Candida* в течение их роста. Наибольшее количество белка оказалось в водорастворимой и щелочерастворимой фракциях, причем в течение роста количество водорастворимого белка заметно падает, а щелочерастворимого—увеличивается [3].

Далее мы провели разделение изоэнзимов трансаминазы разветвленных аминокислот по разработанному в нашей лаборатории методу [1].

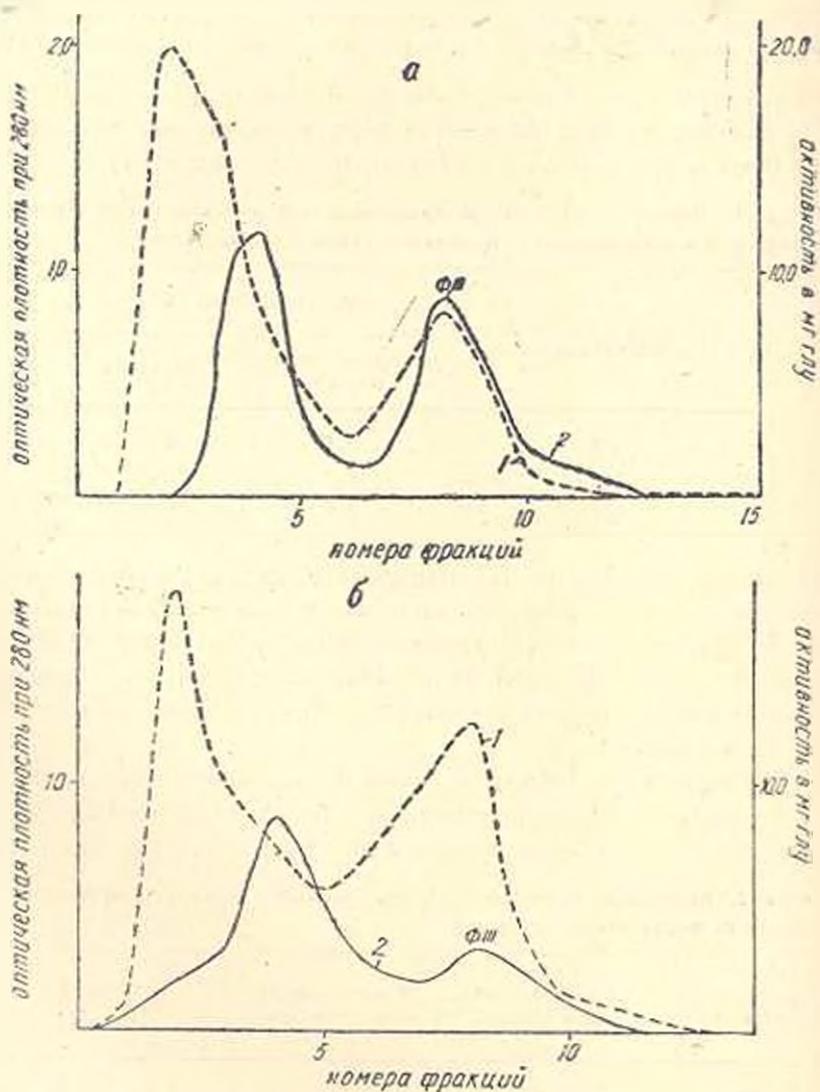


Рис. 1. а) Гельфильтрация бесклеточного экстракта 12-часовой культуры на сефадексе G-200; б) гельфильтрация бесклеточного экстракта 18-часовой культуры на сефадексе G-200. Белок — — — Активность — — —

Данные гельфильтрации бесклеточного экстракта дрожжей на сефадексе G-200 свидетельствуют о том, что активность переаминирования лейцина в вариантах с 12-часовой культурой фильтруется в виде двух почти одинаковых пиков во фракциях 3—5 и 7—10, в то время как основная часть исследуемой активности 18-часовой культуры фильтруется в виде одного большого пика, заметно уступающего первому, во фракциях 7—10. (рис. 1, а, б).

Данные, полученные нами ранее в опытах с 24-часовой культурой (дрожжи собирались в стационарной фазе роста), выявили более низкий уровень второго пика активности изучаемого фермента, полученного при гельфильтрации на сефадексе G-200 [1]. Следует напомнить

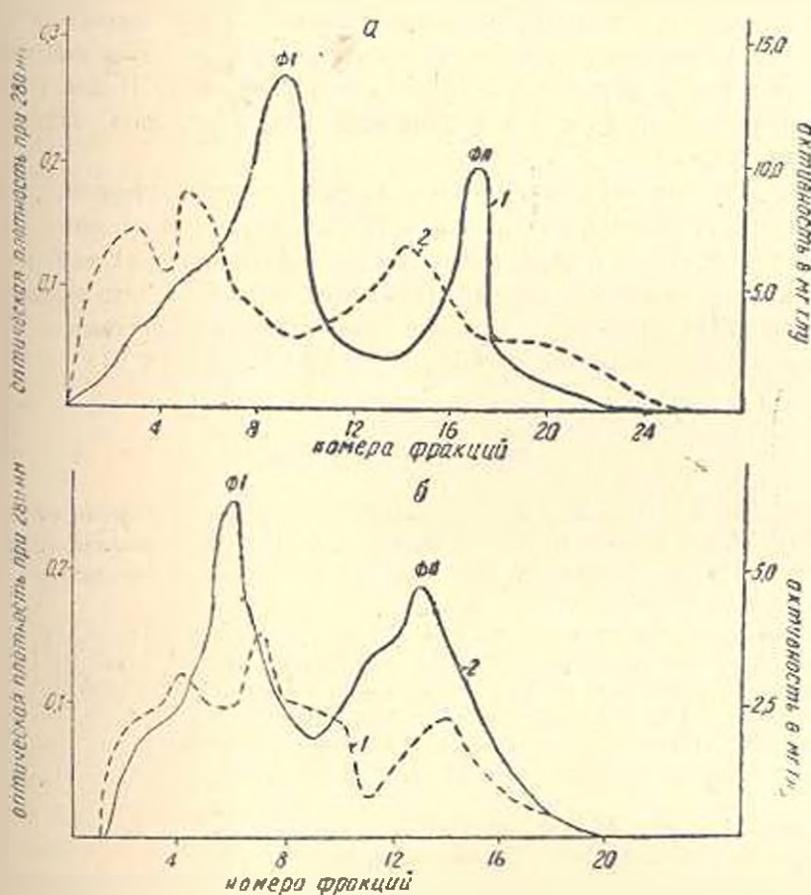


Рис. 2 а) Ионообменная хроматография фракций I пика (сефадекс G-200) 12-часовой культуры на ДЭАЭ целлюлозе; б) Ионообменная хроматография фракций I пика (сефадекс G-200) 18-часовой культуры на ДЭАЭ целлюлозе. Белок — — — —. Активность — — — —.

также, что первый пик активности трансаминазы разветвленных аминокислот, полученный гельфильтрацией, при ионообменной хроматографии на ДЭАЭ целлюлозе разделяется на два пика, один из которых (ФI) специфичен ко всем трем разветвленным аминокислотам, а второй (ФII)—лишь к лейцину. Второй же пик активности, полученный гельфильтрацией (ФIII), дальнейшему разделению на ДЭАЭ целлюлозе не

подвергается; подобно ФI он специфичен ко всем трем разветвленным аминокислотам [1].

Подобные результаты были получены нами при ионообменной хроматографии соответствующих фракций 12- и 18-часовой культур, о чем свидетельствуют данные, приведенные на рис. 2, а, б.

Обобщая, можно заключить, что при выращивании дрожжей в течение 12, 18 и 24 ч качественных сдвигов в изоэнзимном спектре трансаминазы разветвленных аминокислот не происходит. Во всех вариантах обнаруживается наличие трех изоферментов трансаминазы разветвленных аминокислот, два из которых (ФI и ФIII) специфичны ко всем трем разветвленным аминокислотам, а один (ФII) — лишь к лейцину. Однако с увеличением продолжительности выращивания дрожжей активность ФIII заметно снижается до минимального значения в 24-часовой культуре. Таким образом, максимальная активность ФIII достигается в экспоненциальной фазе роста дрожжей, т. е. в молодых, активно делящихся клетках.

Полученные нами данные коррелируют с литературными, согласно которым активность ФIII в почках новорожденных крыс и хомячков выше, чем у взрослых особей, равно как и в печени и почках эмбриона человека, по сравнению с таковой взрослого. Интересно, что высокая активность ФIII характерна для всех исследованных опухолевых тканей человека и животных, по сравнению с нормальными [8, 9].

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Гогимян И. В., Багдасарян Е. Г., Давтян М. А. Биол. ж. Армении, 29, 1, 1976.
2. Давтян М. А., Гогимян И. В., Багдасарян Е. Г. Биол. ж. Армении, 30, 1, 1977.
3. Рачинский В. В., Давидови Е. Г., Корчак О. Б. Прикладная биохимия и микробиология, 6, 621, 1971.
4. Carrusino C., Kadizaki H., Knox W. Enzyme, 23, 5, 328, 1978.
5. Goto M., Shinno H., Ichihara A. Gion. Jap. Cancer. Res., 68, 5, 663, 1977.
6. Ichihara A., Takahashi H. Biochem. et Biophys. Acta, 107, 274, 1968.
7. Ogawa K., Ichihara A. Cancer. Res., 32, 1257, 1958.
8. Ogawa K., Yokojima A., Ichihara A. J. Biochem., 68, 90, 1970.
9. Roth S., Delotto R., Kaji A. Cancer. Res., 37, 1147, 1977.

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

Поступило 23.I 1984 г.