

широкая циркуляция различных представителей семейства кишечных бактерий, способных к продукции гемолизина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беляя О. С., Сутылова А. А. ЖМЭИ, 5, 66, 1978.
2. Бычевой И. Ф. Ветеринария, 10, 51, 1975.
3. Бычевой И. Ф. Ветеринария, 5, 42, 1979.
4. Еремеев М. Н. Ветеринария, 2, 40, 1975.
5. Кудлай Д. Г. Внесхромосомные факторы наследственности бактерий и их значение в инфекционной патологии. М., 1977.
6. Минацканов С. Т., Коцимян М. Е., Лиходуд В. Г., Раскин Б. М., Акопян Р. Г., Лобова Е. А., Денисова С. В. Лаб. дело, 8, 498, 1984.
7. Румянцев С. Н., Перкус Л. В. ЖМЭИ, 11, 69, 1972.

Поступило 17.XI 1986 г.

Бюлог. ж. Армении, т. 40, № 4, 325—327, 1987

УДК 576.8.575.24.577.15.591.8

АКТИВНОСТЬ L-АСПАРАГИНАЗЫ И L-ГЛУТАМИНАЗЫ РИБОСОМНЫХ МУТАНТОВ *ESCHERICHIA COLI*

Э. Г. МУГНЕЦЯН, К. Р. СТЕПАНИН

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

Ключевые слова: мутанты рибосомные *E. coli*, аспарагиназа, глутаминаза.

Изучение выделенных нами ранее рибосомных мутантов различных штаммов *E. coli* выявило pleiotропное действие мутаций к стрептомицину-устойчивости (СМ-у), специфическое различение генетической информации [2, 4], различие в уровне спонтанного и индуцированного мутагенеза у стрептомицинчувствительных (СМ-ч) штаммов *E. coli* и их СМ-у мутантов [3, 5]. Различие между СМ-ч и СМ-у обнаружено и при изучении нитрогеназной активности *Rhizobium japonicum* в искусственной симбиотической системе с культурой каллусной ткани растения [1].

Интересно влияние СМ-у мутации на уровень активности ферментов *E. coli*, в частности, ферментов с идентифицированной противоположной активностью.

Цель настоящей работы состояла в определении активности L-аспарагиназы и L-глутаминазы у лабораторных и природных штаммов *E. coli*, выделенных из фекалий практически здоровых лиц и онкологических больных одинаковых возрастных групп, не принимавших антибиотиков в течение 6 месяцев.

Материал и методика. В работе использованы лабораторные штаммы *E. coli*, их СМ-у мутанты и природные штаммы, выделенные на среде Эндо и отсутствие антибиотика—стрептомицина (СМ). Отношение бактериальных культур к антибиотикам проверялось методом дисков и в присутствии СМ в полиоценной среде Эндо-500 мкг/на чашку. Бактериальные культуры выращивали из отдельных независимых колоний в полиоценной жидкой питательной среде: рыбный бульон, пептонная вода—1/1,2 мл/л, 40%-ная глюкоза. Культура выращивалась в 750-мллитровых колбах до $5 \cdot 10^8$ кл/мл

Активность L-аспарагиназы и L-глутаминазы лабораторных и природных штаммов *E. coli* и их стрептомицинустойчивых мутантов

Штаммы и их происхождение	Способность сбраживать лактозу	Потребность в факторах роста	Отношение к стрепто- мицину	Активность аспа- рагиназы, мкг N/1,2 мг сухих клеток	%	Активность глутаминазы, мкг NH ₃ на сухих клетках	%
K12 ВНИИ Генетика	+	прототроф	СМ — ч	118	100	40,0	
1/K12 оригинальный спонтанный мутант	+	прототроф	СМ — у	44	37		
591 ВНИИ Генетика	—	прототроф	СМ — ч	108	100	40,0	100
1/591 оригинальный нитрозо-гуанидининдуциро- ванный мутант	—	ауксотроф	СМ — у	75	70	29,6	74
27 природный штамм практически здоровой жел- шны	+	прототроф	СМ — ч	101	100	37,6	100
1/27 индуцирован УФ-лучами	+	прототроф	СМ — у	71	70	22,8	70
В ВНИИ Генетика	+	прототроф	СМ — ч	63	100	28,4	100
1/В оригинальный нитрозо-гуанидининдуцирован- ный мутант	—	ауксотроф	СМ — у	43	68	22,0	61
15, 28, 85 выделены из фекалий больных раком	—	ауксотроф	СМ — у	72			
44, 41, 83 толстой кишки	—	прототроф	СМ — у	60			
16 ВНИИ Генетика	—	прототроф	СМ — у	34			
180	+	прототроф	СМ — ч	62	100		
1/180 оригинальный спонтанный мутант	—	прототроф	СМ — у	53	68		

л объеме 200 мл без аэрации при 37°. Изучено свыше 20 независимых культур в 3 повторностях. Характеристики культур приводятся в таблице.

В качестве ферментативного препарата использованы высушенные при 30° в течение 25—30 ч бактериальные клетки. Активность ферментов определяли инкубированием препарата в течение 60 мин при 37° в присутствии L-аспарагина или L-глутамината с последующим определением отщепившегося NH_3 микродиффузионным методом Зеллвассона в модификации Силаковой с соавт. [6].

Активность ферментов выражали в мкг NH_3 на мг сухих клеток. Инкубационная смесь (4 мл) состояла из 2,5 мг высушенных бактерий, 50 мМоль L-аспарагина или L-глутамината и 0,05 М Na_2HPO_4 К-фосфатного буфера, pH 8,3.

Результаты и обсуждение. Результаты исследования показали, что штаммы *E. coli* K12, 594, В, несущие дикую аллель *grsL* локуса, ответственного за СМ-ч, обладают сравнительно высокой активностью как L-аспарагиназы, так и L-глутаминазы. Бактериальные культуры *E. coli*, выделенные из отдельных независимых фекальных жидкостей практически здоровых лиц, наряду с СМ-ч, характеризуются высокой активностью этих ферментов. Спонтанная и индуцированная физическими и химическими факторами мутация *grsL* локуса приводит к СМ-у или СМ-зависимости, что связано с изменением S 12 белка 30 S субъединицы рибосом *E. coli* [7, 8]. Эта мутация изменяет физиолого-морфологические характеристики колониеобразующих клеток [4, 5]. Результаты настоящего сообщения свидетельствуют о снижении активности L-аспарагиназы и L-глутаминазы у рибосомных мутантов независимо от источника и способа их выделения и других характеристик (способности сбраживать лактозу, потребности в факторах роста и др.). У некоторых СМ-у мутантов, выделенных как из лабораторных, так и природных штаммов, активность L-аспарагиназы снижена более чем на 60%. Штаммы с высокой L-аспарагиназной активностью обладали также сравнительно высокой L-глутаминазной активностью, которая у всех изученных штаммов была ниже аспарагиназной и составляла примерно 40% ее.

Трудно экспериментально оценить и тем самым объяснить установленный факт понижения L-аспарагиназной и глутаминазной активности СМ-устойчивых мутантов как следствие количественного или качественного изменения ферментов в результате рибосомной мутации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мугнецян Э. Г. Мат-лы респ. конф. Арм. отд. БОГ и С им. Н. И. Вавилова, Ереван, 1982.
2. Мугнецян Э. Г., Хачатрян Т. А. Тр. IV съезда ВОГ и С им. Н. И. Вавилова. Кишинев, 1982.
3. Мугнецян Э. Г., Хачатрян С. А. Биолог. ж. Армении, 35, 7, 1982.
4. Оганесян М. Г., Мугнецян Э. Г. Биолог. ж. Армении, 29, 11, 1976.
5. Оганесян М. Г., Мугнецян Э. Г. Биолог. ж. Армении, 35, 9, 1982.
6. Силакова А. Н., Тредш Г. П., Являкова А. Вопросы мед. хим., 8, М., 1962.
7. Piggot P. et al. J. Bacteriology, 110, 1972.
8. Pongs O., Nierhus, Febs Lett., 41, 1974.
9. Rosset R. et al. J. Mol. Biol., 39, 1969.

Поступило 9.VI 1986 г.