

БИОХИМИЯ

М. А. Тер-Карпетян, академик АН Армянской ССР, и С. М. Инджикян

Особенности усвоения моноаминомонокарбоновых кислот
 дрожжевыми организмами в зависимости от расположения
 аминной группы

(Представлено 16/V 1966)

Процессы ассимиляции дрожжевыми организмами аминной группы и углеродного скелета аминокислот в зависимости от структурных особенностей этих соединений еще недостаточно изучены.

Известны только некоторые факты, показывающие изменения степени усвоения аминокислот алифатического нормального ряда $C_2—C_8$ в зависимости от длины углеродного скелета, от положения в их молекуле метильных групп, от разветвления углеродной цепи (¹).

Весьма редки данные об усваиваемости аминокислот в зависимости от положения в молекуле аминной группы (²⁻⁴).

Показано, что γ -аминомасляная кислота (ГАМК) является для *Torulopsis utilis* (*Candida utilis*) и *Saccharomyces cerevisiae* хорошим источником азота, не уступающим сульфату аммония (⁴).

Настоящая работа преследует цель — изучить влияние α -или концевое расположения аминной группы алифатических моноаминомонокарбоновых кислот ряда $C_3—C_8$ на усваиваемость азота и углерода в условиях аэробной жизнедеятельности дрожжевых организмов.

Объектами исследования служили следующие музейные культуры из рода *Candida* — *C. chevalieri* № 66, *C. guilliermondii* № 71, *C. guilliermondii membranaefaciens* № 72, *C. pulcherrima* № 95, *C. arborea* № 64, *C. tropicalis* DH3, *C. tropicalis* K3—10.

Культуры использовались после выращивания в синтетической среде и голодания в 1-процентном растворе глюкозы в течение 24-х часов.

Выращивание культуры проводилось в синтетической среде (ОС) следующего состава на 1 литр водопроводной воды: глюкоза—10 г, KH_2PO_4 —1,23 г, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ —0,625 г, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ —0,125 г, NaCl—0,125 г, биотин—8 мкг. Основная среда дополнялась одним из следующих источников азота, вносимых в количествах, равных по азоту (г/л): аммоний-сульфат (контроль)—3,10, α - или β -аланин (ААла, БАла)—4,24, α - или γ -амино-н-масляная кислота (ААМК, ГАМК)—4,90, α - или δ -амино-н-ва-

лернановая кислота (ААВК, ДАВК)—5,57, α -амино- n -капроновая кислота (ААКК)—6,24 и глицин (Гли)—3,60. Все ингредиенты среды перекристаллизовывались, чистота аминокислот проверялась хроматографически, рН среды доводилась до 5,5.

Опыты проводились в условиях интенсивного аэрирования на круговой качалке (200 об/мин), дыхание определялось с помощью аппарата Варбурга в культуральной среде с соответствующими аминокислотами.

Влияние источников азота испытывалось, при аэробной жизнедеятельности культур, по следующим показателям: расщепленная глюкоза, синтезированная биомасса (сухое вещество), отношение $\frac{\text{синтезированная биомасса}}{\text{расщепленная глюкоза}}$ (экономический коэффициент) и в отдель-

ных случаях интенсивность дыхания, накопление азота и аминокислот „запасного фонда“ клеток.

Глюкоза определялась микро-методом феррицианида, азот микро-методом-Кьельдаля. Аминокислоты методом хроматографии на бумаге.

1. Особенности расщепления глюкозы и синтеза биомассы при ассимиляции азота α и β -аланинов. Экспериментальные данные приведены в табл. 1.

Таблица 1

Объем культуральной среды — 100 мл; посевной материал — 2 мг (сухое вещество); продолжительность инкубации — 20—22 часа

Культура	Расщепленная глюкоза (мг)			Синтезированная биомасса (мг)			Биомасса глюкоза $\times 100$		
	NH ₄ +	ААла	БАла	NH ₄ +	ААла	БАла	NH ₄ +	ААла	БАла
<i>C. chevalieri</i>	827	605	931	354	335	434	42	55	47
<i>C. guilliermondii</i>	825	405	188	398	257	115	48	64	62
<i>C. guill. membran.</i> . . .	925	310	709	428	179	414	46	58	58
<i>C. pulcherrima</i>	946	487	215	212	169	91	22	35	42
<i>C. arborea</i>	918	452	505	333	178	202	36	39	39
<i>C. tropicalis</i> DH3	948	785	750	401	407	390	42	52	52
<i>C. tropicalis</i> K3-10 . . .	974	490	350	430	280	198	44	57	57

Все исследуемые культуры наиболее интенсивно расщепляют глюкозу в присутствии аммония. Из них: *C. guilliermondii*, *C. pulcherrima* и *C. tropicalis* K3—10 расщепляют глюкозу интенсивнее в присутствии ААла, чем БАла. *C. arborea* и *C. tropicalis* DH3 почти одинаковой скоростью при наличии того или другого из аланинов, а *C. guill. membranaefaciens* и *C. chevalieri*—быстрее в присутствии БАла, чем ААла.

Культуры значительно отличаются также по способности усвоения углеродного скелета ААла и БАла, о чем можно судить по повышению экономического коэффициента синтеза биомассы в присутствии аминокислот по сравнению с таковой при усвоении аммония. Свойство усвоения углеродного скелета почти не замечается у

C. arborea, больше выражено и в равной степени для ААла и БАла у *C. tropicalis* КЗ—10, *C. tropicalis* ДНЗ, *C. guilliermondii* и *C. guill. membranaefaciens*, в то время как у *C. chevalieri* лучше ассимилируется скелет ААла, а у *C. pulcherrima* скелет БАла.

2. *Усвоение аминной группы разного расположения в зависимости от длины углеродной цепи аминокислот.* Исследования проводились культурой *C. guilliermondii membranaefaciens* в основной среде, содержащей в качестве единственного источника азота следующий гомологический ряд N-аминокислот с α - или концевой аминной группой, а именно: ААла и БАла, ААМК и ГАМК, ААВК и ДАВК и Г.ЛИ.

Экспериментальные данные приведены в табл. 2.

Таблица 2

Объем культуральной среды — 50 мл; посевной материал — 1 мг (сух. вещ-во); продолжительность инкубации — 25 час.

Источник азота	Расщепленная глюкоза (мг)	Синтезированная биомасса (мг)	Биомасса Глюкоза $\times 100$
1. Сульфат аммония	485	210	43
Г.ЛИ	62	33	53
ААЛА	72	41	56
БАЛА	145	85	58
ААМК	10	3	30
ГАМК	444	320	73
ААВК	40	19	46
ДАВК	90	30	33
ААКК	32	13	39

Полученные данные показывают замечательный пример влияния длины цепи аминокислот и положения аминной группы на усваиваемость дрожжами источников углерода и азота. Аминокислоты с концевыми аминными группами способствуют более интенсивному усвоению глюкозы и азота, а также синтезу биомассы; среди них наилучшим источником является ГАМК, в присутствии которой найдена наивысшая степень расщепления глюкозы и наивысший экономический коэффициент, а наиболее угнетающей является ААМК.

Эффективность же других аминокислот этого ряда в процессе расщепления глюкозы резко падает как в сторону БАЛА, так и ДАВК. Судя по экономическому коэффициенту, лучшим источником углерода оказался скелет ГАМК, в то время как в присутствии ААМК синтез биомассы не достигает даже уровня, достигаемого при усвоении аммония. Углеродные скелеты ААЛА и БАЛА в некоторой степени усваиваются, но значительно меньше, чем ГАМК. Что касается углеродных скелетов ААВК и ДАВК и ААКК-ы, то они не усваиваются.

3. *Взаимодействие ААМК и ГАМК при аэробной жизнедеятельности дрожжевых организмов.* Известен ряд примеров антагонизма между аминокислотами гомологических рядов, а также отдельными аминокислотами и их окси, метил, сульфо и других производными (⁵⁻⁷), однако, об антагонизме между изомерами по положению аминной группы аминокислот, нам не удалось найти фактических данных.

Исследования проводились на культуре *C. guilliermondii* мет. brapaefaciens в условиях выращивания в синтетической среде, содержащей в качестве единственного источника азота одно из следующих соединений—сульфат аммоний (контроль), ГАМК, ААМК, или смесь ГАМК (1 часть) + ААМК (5 частей).

Результаты опытов обобщены в табл. 3 и 4 и на фиг. 1.

Таблица 3

Объем культуральной среды: для выращивания 50 мл, дыхания — 2 мл

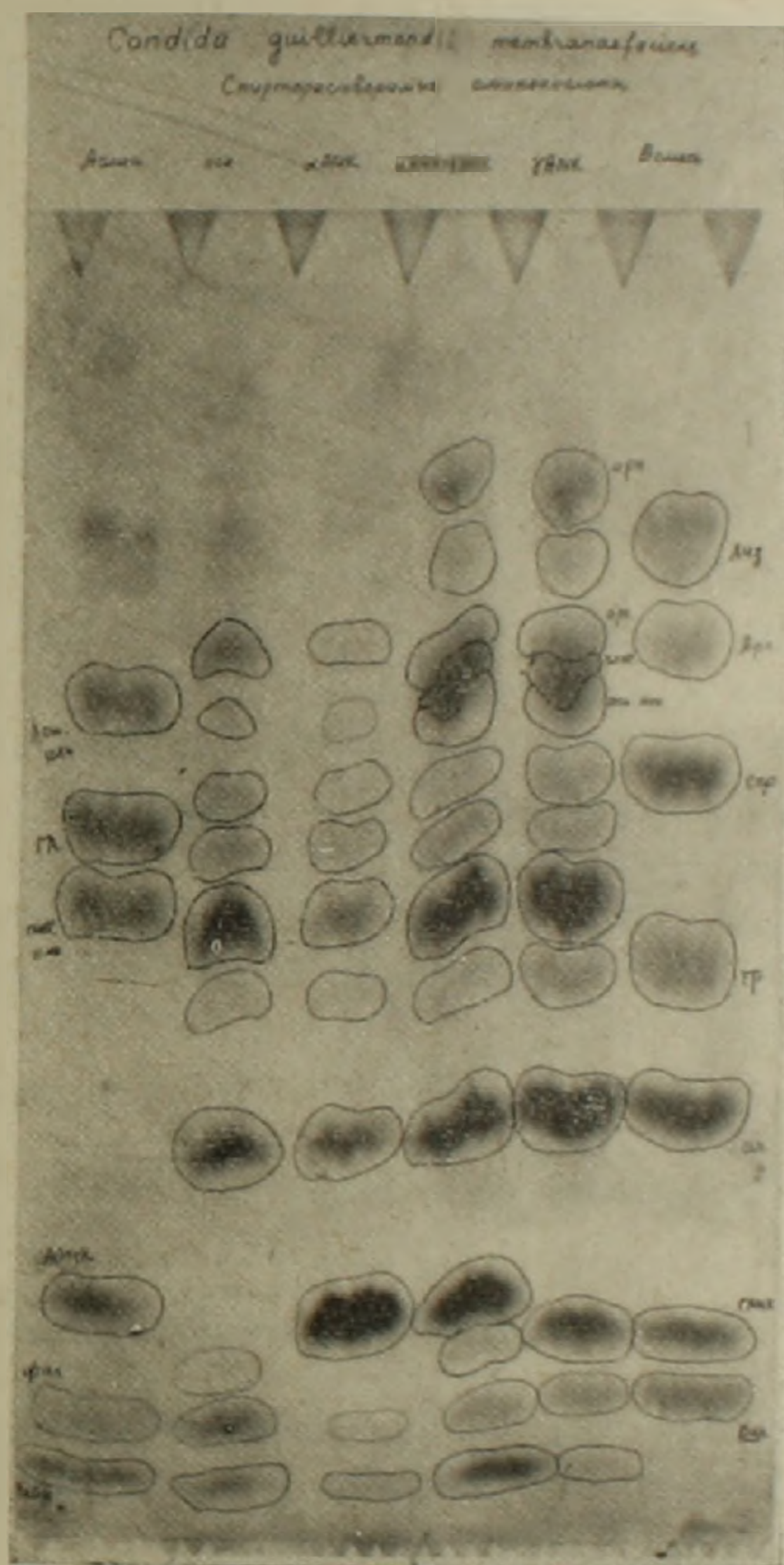
Показатели опыта	Посевная культу- ра — 104 мг (су- хое вещество)			Посевная культу- ра — 1 мг (сухое вещество)			
	ГАМК	ААМК	ГАМК+ ААМК	NH ₄ ⁺	ГАМК	ААМК	ГАМК+ ААМК
Глюкоза исходная	460	460	460	537	537	537	537
Глюкоза расщепленная	439	388	439	533	528	5	102
Продолжительность инкубирования	10	18	13	28	28	28	28
Синтезированная биомасса	282	106	236	222	347		51
Биомасса %	64,2	27,3	53,7	42	66	28	50
Глюкоза							
N растворимый исх — 0,39	0,81	0,42	0,86	0,53			
N общий исх — 3,39	5,92	3,43	6,64	5,74			
Накопление N в биомассе (с выче- том посевного материала мг)	19,5	3,8	18,5	19,2			
QO ₂ (посевная культура—15 мг сух. вещ. в 2 мл)				69,5	62,5	47,5	45,0

Таблица 4

Данные в мкг в 100 мг абсолютно сухих дрожжей

Аминокислоты в за- пасном фонде	Исходная голодающая культура	Источники азота при выращивании			
		NH ₄ ⁺	ГАМК	ААМК	ГАМК+ ААМК
Цист(е)ин	следы	следы	следы	следы	следы
Орнитин	24	следы	228	следы	154
Лизин	77	84	88	15	86
Гистидин	13	43	48	следы	67
Аргинин	70	233	303	следы	291
Глютамин	86	—	270	23	333
Аспарагиновая кислота	53	164	199	23	217
Серин	49	182	77	19	48
Глицин	71	95	83	42	79
Глютаминовая к-та	388	455	841	152	684
Треонин	54	207	170	27	86
Аланин	175	678	783	151	439
ААМК	0	0	0	1884	936
ГАМК	10	330	389	7	76
Валин-метионин	321	525	111	37	102
Лейцин/изолейцин	156	672	37	61	353
Итого	1547	3628	3627	2441	3951

Полученные данные показывают, что в смеси ГАМК + ААМК подавляются скорости расщепления глюкозы и накопления биомассы, а также интенсивность дыхания (QO_2) по сравнению со средой, содержащей только ГАМК. Накопление общего азота в клетках в этом случае больше, чем в присутствии только ГАМК, или сульфата аммония. В среде, содержащей только ААМК, одновременно с торможением расщепления глюкозы и синтеза биомассы сильно подавлено также дыхание и накопление азота в клетках.



фиг. 1.

Изучение образования запасного фонда аминокислот показало, что в присутствии ААМК не синтезируются аминокислоты, так как их уровень после вычета проникнувшего ААМК (1884 мкг) падает даже ниже (557 мкг) суммы аминокислот голодающих клеток (1547 мкг).

В присутствии двух аминокислот АМК несколько тормозит образование запасного фонда аминокислот, в частности, ГАМК, а также орнитина, глутаминовой кислоты, треонина, аланина,

но способствует накоплению значительного количества лейцина (с изо-лейцином).

Полученные данные указывают на то, что антагонизм между ААМК и ГАМК отражается сильнее на процессы распада глюкозы и включения углеродных осколков ГАМК в синтез биомассы, чем на реакции образования запасного фонда аминокислот, за исключением ГАМК, накопление и синтез которого специфично подавляется.

Вышеприведенные исследования приводят нас к следующим выводам.

1. Установлено, что отдельные представители рода *Candida* определенно отличаются между собой по способности усвоения азота аминокислот ациклического ряда в зависимости от расположения аминной группы на α - или концевой позиции.

У различных культур позиция аминной группы оказывает также определенное влияние на процессы расщепления и усвоения основного источника углерода — глюкозы.

2. Обнаружено, что у культуры *C. guill. membranaefaciens* интенсивность усвоения азота аминокислот с альфа и концевой аминными группами определенно отличается между собою. В исследуемом ряде максимальная усвояемость принадлежит аминной группе ГАМК, а минимальная таковой ААМК.

Выдвинута гипотеза о возможном антагонизме между ААМК и ГАМК, как единственными источниками азота при аэробном выращивании упомянутой культуры.

Приведенные данные дают основание для дальнейшего изучения ферментативного механизма отщепления или переноса концевой аминной группы аминокислот и роли соответствующих ферментов в азотном обмене дрожжей.

Армянский научно-исследовательский
институт животноводства и ветеринарии
Институт микробиологии Академии наук Армянской ССР

Մ. Ա. ՏԵՐ-ԿԱՐԱՊԵՏՅԱՆ, Հայկական ՍՍՀ ԳԱ ակադեմիկոս, և Ս. Մ. ԻՆՃԻԿՅԱՆ

Խմորասնկային օրգանիզմների կողմից մոնոամինոմոնոկարբոնաթթուների յուրացման առանձնահատկություններ՝ կախված ամինային խմբի դիրքից

Խմորասնկային օրգանիզմների կողմից ամինաթթուների ամինային խմբի և ածխածնային կմախքի յուրացման պրոցեսները, կախված այդ միացությունների կառուցվածքային առանձնահատկություններից, բավականաչափ ուսումնասիրված չեն:

Ներկա աշխատանքի նպատակն է հետազոտել C_3-C_6 նորմալ շարքի ալիֆատիկ մոնո-ամինոմոնոկարբոնաթթուների α — կամ ծայրային ամինային խմբի ազդեցությունը ազոտի և ածխածնի յուրացման վրա՝ խմորասնկերի տերոբ կենսազործության պայմաններում:

1. Պարզվել է, որ *Candida* ցեղի առանձին ներկայացուցիչներ որոշակիորեն տարբերվում են իրարից, աջիկիկ շարքի ամինաթթուների ազոտը յուրացնելու իրենց բնորոշակությամբ՝ կախված ամինային խմբի α — կամ ծայրային դիրքից:

Տարբեր կուլտուրաների մոտ ամինային խմբի դիրքը որոշակիորեն ազդում է ածխածնի խմանական ազդյունիքի — գլյուկոզի ճեղքման և յուրացման պրոցեսների վրա:

2. Հայտնաբերվել է, որ *C. guilliermondii membranaefaciens* կուլտուրայի մոտ 2 — 6 ժայռային ամինային խմբեր ունեցող $C_3—C_6$ շարքի ամինաթթուների յուրացման ինտենսիվությունը խիստ տարրերվում է միմյանցից: Հետազոտվող շարքում առավելագույն աստիճանի յուրացումը վերաբերում է γ — ամինակարագաթթվին, իսկ նվազագույնը՝ 2 — ամինակարագաթթվին:

Առաջ է քաշվում հիպոթեզ այն մասին, որ նշված կուլտուրայի անոթ աճի պայմաններում հավանաբար գոյություն ունի անտադոնիզմ γ — ամինակարագաթթվի և 2 — ամինակարագաթթվի միջև՝ որպես ազոտի միակ աղբյուրների:

3. Ներկայացված տվյալները հիմք են տալիս ուսումնասիրելու ամինաթթուների ծայրային ամինային խմբի ճեղքման կամ տեղափոխման ֆերմենտատիվ մեխանիզմները խմորասնկային օրդանիզմների մոտ:

ЛИТЕРАТУРА — ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

¹ В. Хармелуц, Biochem. Ztschr. 299, 5/6, 317, 333, 1938. ² Н. Нильсен, С. R. Labor. Carlsberg (Ser. Chim.) 22, 384, 1938. ³ Н. Нильсен, В. Хармелуц, Biochem. Ztschr. 296, 5/6, 358, 1938. ⁴ Р. Пемпушко, А. Фауден, Annals of Botany 25, 491, 1961. ⁵ Н. Нильсен, Naturwiss. 31, 146, 1943. ⁶ Д. Буллеу, A study of the Antimetabolites. New-York, 1952. ⁷ А. Meister, Biochemistry of the Aminoacids, New-York, 1957.