

УДК 576.8.098+576.858

БИОХИМИЯ

Академик АН Армянской ССР М. А. Тер-Карапетян, Л. Г. Ананян

**Межвидовые особенности проникновения и накопления аминокислот
 в клетках молочнокислых бактерий рода *Lactobacterium***

(Представлено 28/V 1969)

В большом экспериментальном материале (¹⁻⁹), относительно мембранного транспорта ряда веществ у разных видов микроорганизмов, в том числе, и молочнокислых бактерий из родов *Streptococcus* и *Lactobacterium*, весьма мало изучены вопросы межвидовой и внутривидовой специфичности процессов проникновения и накопления отдельных аминокислот в клетках.

Отклонения в экспериментальных методиках, применяемых отдельными исследователями, в частности, нарушения стандартных режимов культивирования (состав среды, фазы роста культуры) еще больше затрудняют сравнительно-биохимический анализ имеющихся данных, который представляет интерес как для систематики, так и для изучения обмена аминокислот (^{1, 2, 4}), проникновение и накопление которых в клетках является первым этапом их метаболизма.

Настоящая работа посвящена изучению скорости проникновения и уровня накопления аминокислот у некоторых представителей рода *Lactobacterium*, выращенных в полусинтетической среде до конца экспоненциальной фазы роста в строго одинаковых условиях инкубации с исследуемыми субстратами.

Объектами служили *Lactobacterium casei*—915, *L. bulgaricum*—743 и *L. lactis*—1694.

В качестве субстрата брались аминокислоты (АК), значительно отличающиеся по своим амфотерным свойствам: DL-лизин ($pH_1=9,74$), DL-глутаминовая кислота ($pH_1=3,22$), DL-валин ($pH_1=5,96$).

Бактерии выращивались в полусинтетической среде по ранее описанной методике (¹⁰). Инкубация бактериальной суспензии в фосфатном буфере М/15 проводилась при $pH=6,5$ и температуре 45—48°C. В 10 мл бактериальной суспензии, содержащей в среднем от 80—120 мг (сухие вещества) соответственно для каждого вида, вносились аминокислоты в количестве 200 мкМ.

Пробы брались в интервалах 5, 15, 20, 30 мин, из коих 5 мин служили, в основном, для оценки скорости проникновения ($V=мкМ, АКв 1 мг биомассы в 1 мин \times 10^3$), а 30 мин—для оценки уровня накопления.

Оценивались также отношения концентраций аминокислот в биомассе (конц. кл.) и в среде (конц. ср.).

В некоторых случаях (в частности, для *L. casei*) более длинные сроки необходимы для достижения постоянного уровня аминокислоты внутри клетки. Проникновение аминокислот изучалось без снабжения клеток источниками энергии (глюкоза и т. п.), т. е. при состоянии покоя клеток, так как изучение взаимообусловленности обмена мембранного транспорта не входило в цель поставленных опытов.

Результаты исследований приведены в табл. 1, а данные по степени концентрирования отдельных аминокислот в клетках иллюстрированы на рис. 1. Полученные результаты показывают совершенно разные ско-

Таблица 1

Проникновение и накопление лизина, глутаминовой кислоты и валина представителями рода *Lactobacterium*. Данные выражены для V—мкМ /мг/ мин, для Н—мкМ/100 мг

| Продолжи- тельность ин- кубации, мин | Лизин | | Глутаминовая кислота | | Валин | |
|--|-----------------|------------|-------------------------|-------------------|----------------|------------|
| | V | H | V | H | V | H |
| <i>L. lactis</i> — 1694 | | | | | | |
| | 16/VIII 1957*** | | 9/VIII 1967 | 21/VIII 1967** | 23/VIII 1967 | |
| 0* | — | 0 | — | 0 | — | 0 |
| 5 | 16,50 | 8,20 | 0,13 | 0,06 | 0,23 | 0,12 |
| 15 | 0,17 | 8,40 | 0,02 | 0,08 | 0 | 0,10 |
| 20 | 1,92 | 9,40 | 0 | 0,07 | 0,01 | 0,11 |
| 30 | 0 | 8,50 | 0 | 0,07 | 0,04 | 0,15 |
| <i>L. casei</i> — 915 | | | | | | |
| | 1/XII 1965 | 26/I 1966 | 17/XII 1965 | 7/II 1966 | 22/XII 1965 | 15/II 1966 |
| 0* | — | 0 | — | 0,13 | — | 0,10 |
| 5 | 1,84 | 0,92 | 0,43 | 0,22 | 0,76 | 0,35 |
| 15 | 1,28 | 2,20 | 0 | 0,20 | 0 | 0,30 |
| 20 | 0 | 1,88 | 0 | 0,18 | 0 | 0,28 |
| 30 | 2,79 | 4,67 | 0,36 | 0,55 | 0,03 | 0,31 |
| <i>L. bulgaricum</i> — 743 | | | | | | |
| | 12/I 1966 | 21/II 1966 | 29/III 1966 | 9/I 1967 | 9/III 1967 | 13/V 1966 |
| 0* | — | 0,80 | — | 0 | — | 0 |
| 5 | 10,10 | 5,30 | 3,43 | 1,71 | 0,22 | 0,14 |
| 15 | 0 | 5,30 | 0,36 | 2,07 | 0,11 | 0,24 |
| 20 | 1,40 | 6,70 | 0 | 1,95 | 0,16 | 0,33 |
| 30 | 0 | 6,10 | 0 | 1,59 | 0 | 0,22 |

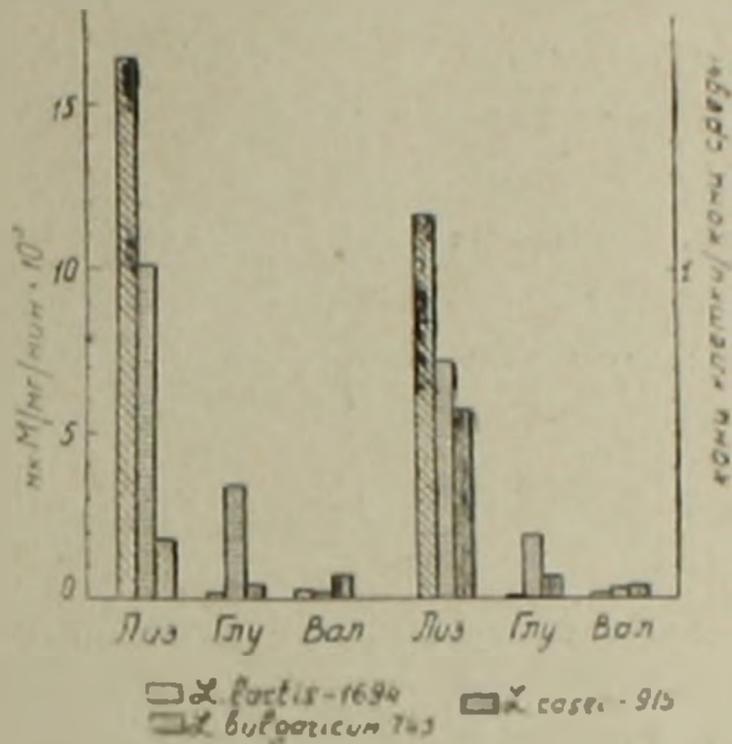
* Исходная культура; содержание указанной аминокислоты в ее запасном фонде вычтено из количества проникнувшей аминокислоты.

** средние данные из двух указанных опытов;

*** данные одного опыта.

рости проникновения и уровни накопления как для различных аминокислот у одной и той же культуры, так и для одной и той же аминокислоты у разных культур.

У всех исследуемых штаммов лизин имеет высокую скорость проникновения в отличие от двух других аминокислот; тем не менее скорость проникновения этой аминокислоты значительно расходится у отдельных штаммов. Второе место по скорости проникновения занимают валин у *L. casei*—915 и глутаминовая кислота у *L. bulgaricum*—743.



Уровень накопления и степень концентрирования в клетке исследуемых трех аминокислот показывают также значительные, но менее выраженные расхождения между отдельными культурами. По данному признаку у всех культур лизин отличается положительно от других аминокислот. Второе место занимают глутаминовая кислота у *L. bulgaricum*—743, *L. casei*—915 и валин у *L. casei*—915.

Вышеприведенные данные показывают, что нет прямой корреляции между скоростью проникновения и степенью накопления отдельных аминокислот. Это объясняется тем, что проникновение контролируется активностью транспортных систем или диффузий, а уровень накопления определяется способностью «запасного фонда» (растворимая фракция протоплазмы) или клеточных структур связывать ту или иную аминокислоту.

Высокая степень проникновения лизина у всех исследуемых нами штаммов подтверждает установленные ранее данные относительно высокой степени накопления диаминокислот, в том числе и лизина в биомассе дрожжей рода *Candida albicans* в конце цикла роста, у простейших рода *Oligotricha*, выделенных из рубца жвачных животных, а также у покоящейся культуры *S. guilliermondii membranaefaciens* при инкубировании с диаминокислотами.

Что касается процесса проникновения, то он осуществляется у данных бактерий специфичным для каждой аминокислоты механизмом, объясняемым разностью в скорости переноса между ними. Однако высокая скорость проникновения лизина, найденная у данных молочнокислых бактерий, не распространяется на другие аминокислоты у иных орга-

низмов. Так у двух видов рода *Candida* было найдено, наоборот, что α - и γ -аминомасляные кислоты обладают более высокой скоростью проникновения по сравнению с α , γ -аминомасляной кислотой (11).

Не менее важным является также то, что исследуемые штаммы значительно отличаются друг от друга по соотношению концентрация в клетке / концентрация в среде для каждой аминокислоты в отдельности.

Однако то обстоятельство, что ни в одном случае значение данного отношения не превышает единицы, не исключает возможности участия активного механизма в транспорте аминокислот через мембрану бактерий.

Во всех приведенных примерах в пользу активного транспорта можно истолковать и тот факт, что при удлинении сроков инкубации не наблюдается тенденции к приравниванию внешней и внутренней концентраций аминокислот.

Ереванский государственный университет

Հայկական ՍՍՀ ԳԱ ակադեմիկոս Մ. Ա. Տեր-ԿԱՐԱՊԵՏՅԱՆ, Լ. Գ. ԱՆԱՆՅԱՆ

Lactobacterium ցեղի ներկայացուցիչների բջիջներում ամինաթթուների ներթափանցման և կուտակման միջտեսակային առանձնահատկություններ

Ներկա աշխատության նպատակն է եղել ուսումնասիրել *Lactobacterium* ցեղի մի քանի ներկայացուցիչների (*L. casei*—915, *L. lactis*—1694, *L. bulgaricum*—743) բջիջներում ամինաթթուների (գլյուտամինաթթվի, վալինի, լիզինի) ներթափանցման արագությունը և կուտակման մակարդակը:

Հիշատակված ամինաթթուները ներթափանցում և կուտակվում են հետևյալ նվազող հերթականությամբ՝ լիզ > գլյուտ > վալ:

Հետազոտված շտամների մոտ ամինաթթուների ներթափանցման արագության և կուտակման մակարդակի միջև բացակայում է ուղղակի հարաբերությունը: Այդ կապակցությամբ առաջարկվել այն հիպոթեզը, որ ներթափանցումը կարգավորվում է հատուկ փոխադրիչ սիստեմաների սղնությամբ կամ դիֆուզիայով և կամ երկու մեխանիզմների գույակցմամբ: Կուտակման մակարդակը բնորոշվում է բջիջների յուծելի ֆրակցիայի (պահեստային ֆոնդի) կամ բջջային կառուցվածքների վրա ամինաթթուներ կուտակելու ունակությամբ:

Լիզինի և այլ դիամինաթթուների բարձր մակարդակով կուտակելու տեսակետից կաթնաթթվային բակտերիաները նմանվում են խմորասեղանին և նախակենդանիներին:

Կաթնաթթվային բակտերիաները միմյանցից էապես տարբերվում են առանձին ամինաթթուների խտացման ունակությամբ:

Ինկուբացիայի երկարատև ժամանակամիջոցում ներթափանցող ամինաթթուների արտաքին և ներքին կոնցենտրացիաների հարաբերությունը չի հավասարվում մեկ միավորի:

Վերջին երկու փաստերը վկայում են բակտերիայի թաղանթով ամինաթթուների ներթափանցման ակտիվ փոխադրման մեխանիզմի մասին:

Л И Т Е Р А Т У Р А — Գ Ր Ա Կ Ա Ն Ո Ւ Թ Ց Ո Ւ Ն

- 1 E. F. Gale, Adv. Prot. Chem., 8, 287 (1953). 2 E. F. Gale, Symposia Soc. Exptl. Biol., VIII, 248 (1954). 3 C. Gunsalus, Stanier R. J. The Bacteria, New-York. 1, 39 (1960). 4 J. Holden, Holman J. J. Biol. Chem., 234, 865 (1959). 5 H. Kithara, Snell E. E. J. Biol. Chem., 197, 791 (1955). 6 F. R. Leach, Snell E. E. Bloch. Biophys. Acta, 34, 292 (1959) 71, 454 (1963). 7 H. C. Lichstein, Ferguson B. R. J. Biol. Chem., 233, 243 (1958). 8 A. Traub, Lichstein H. C. Arch. Biochem Biophys., 62, 222 (1956). 9 J. R. Waller, Lichstein H. C. J. Bact., 93, 151 (1967). 10 М. А. Тер-Карапетян, Л. Г. Анянян, Биол. ж. Армении, 22.(5), 5 (1969). 11 М. А. Тер-Карапетян, С. П. Оганесян, Биол. ж. Армении, 21. (11), 3 (1968).