

Дыхание дрожжей определялось в аппарате Варбурга путем инкубирования клеток в фосфатном буфере (эндогенное дыхание) или в том же буфере с добавлением глюкозы. Интенсивность дыхания определялась по формуле: $Q_{O_2} = \frac{V_{O_2}}{P \times t}$, где V_{O_2} — поглощенный O_2 в мкл, P — биомасса дрожжей (абс. сухие) в мг, t — время инкубации в часах.

Аминотрансферазная активность определялась в бесклеточных экстрактах, полученных путем гомогенизации клеток в фосфатном буфере M/10 (5). После отделения осадка при 6000 об./мин. в течение 20 минут, надосадочный экстракт подвергался диализу против 0,02 М КСI 12 часов при температуре +4° и использовался в качестве ферментного препарата; общий азот последнего определялся микрометодом Кьельдаля. В качестве донора NH_2 группы использовался DL-валин, акцептором служил α -кетоглутарат. Активность ферментного препарата оценивалась по количеству образовавшейся глутаминовой кислоты и рассчитывалась по следующей формуле:

$Q_{Gly} = \frac{P_{Gly}}{N \times t} \times 10^{-2}$, где Q_{Gly} — активность препарата, P_{Gly} — количество глутаминовой кислоты, синтезированной во время опыта в мкг, N — содержание азота в экстракте, поставленного на инкубацию в мг и t — продолжительность инкубации в часах.

Проникновение и накопление аминокислот в клетках оценивалось путем инкубирования дрожжевой суспензии в фосфатном буфере M/15, рН—5,8 в присутствии DL-валина, за определенный промежуток времени, дальнейшего отделения биомассы от жидкой фазы, тщательного ее промывания и экстракции проникнувшего субстрата 70%-ным этанолом гидромодулем (этанол/биомасса=30/1). Аминокислоты экстрактов определялись методом хроматографии на бумаге (6). Скорость проникновения оценивалась в интервале 0—5-минутной инкубации по формуле

$V = \frac{AK}{P \times t} \times 10^4$, уровень накопления по количеству аминокислот, проникнувших в 100 мг биомассы (сух. вещества) за 30 минут; аминокислоты (AK) определены в мкг, биомасса дрожжей (P) в мг, время инкубации (t) в минутах.

1. Проникновение и накопление DL-валина и DL-норвалина в клетках музейной и адаптированной культур *S. chevalieri*. Полученные данные (табл. 1) показывают, что у приспособленной к валину культуры усиливаются скорость проникновения и уровень накопления упомянутой аминокислоты. В результате этого, значительно повышается отношение концентрация валина в клетке / концентрация валина в среде.

Одновременно, в такой же степени усиливается скорость проникновения и уровень накопления норвалина. Последний факт указывает на возможное сходство между системами, осуществляющими перенос и накопление этих изомеров.

Данные, полученные при инкубации адаптированной культуры в присутствии смеси обеих аминокислот, подтверждают это предположение. В смеси валин + норвалин в равных концентрациях и даже при 4-х кратной концентрации валина по отношению к норваллину, значительно подавляется скорость проникновения и уровень накопления валина. При

Таблица 1

Проникновение и накопление DL-валина и норвалина в клетках музейной и адаптированной культур *S. chevalieri*.

Инкубационная смесь на 10 мл: субстрат—варианты I—45 мМ, варианты IV—445 мМ, дрожжей—146—200 мг (сух. вещ-ва), продолжительность инкубации—30 мин.

Субстрат	Скорость проникновения		Уровень накопления		Концентрация в клетке / Концентрация в среде	
	М	А	М	А	М	А
Валин I	2,8	3,8	2,9	5,0	0,6	1,2
Валин IV		3,2		4,7		0,3
Норвалин I	2,4	3,4	2,3	4,4	0,5	1,1
Валин I + норвалин I валин		1,6		1,8		0,5
Валин IV + норвалин I валин		1,6		2,2		0,1
Валин I + норвалин IV валин		0,2		0,4		0,1

4-х кратной концентрации норвалина по отношению к валину, проникновение последнего подавляется более чем на 90%. Это указывает на групповую специфичность транспортных систем, или же на наличие одного или нескольких общих звеньев в процессах, осуществляющих перенос валина и норвалина. Пример такого явления описан также у *E. coli* (?).

Таблица 2

Дыхание музейной и адаптированной к DL-валину культуры *S. chevalieri*. Инкубационная смесь в 2 мл в каждом сосудике: валин 100 мкМ или $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 50 мкМ—0,5 мл, дрожжей 18—21 мг биомассы (сухой вес)—0,5 мл, глюкоза 4%—0,5 мл, синтетическая среда—0,5 мл, pH—5,2; атмосфера—воздух, продолжительность инкубации—2 часа. Все величины в Q_{O_2} .

Эндогенное дыхание				Дыхание в присутствии глюкозы			
NH_4		Валин		NH_4		Валин	
М	А	М	А	М	А	М	А
4,0	12,0	5,0	8,7	25,0	20,0	15,6	21,6
7,0	12,0	8,6	11,4	43,0	38,4	28,1	38,6
4,8	16,3	5,7	11,7	34,0	30,0	25,0	34,8
1,2	12,0	6,0	10,0	25,7	20,5	17,5	25,4

2. Дыхание музейной и адаптированной к DL-валину культуры *S. chevalieri*. Изучалось потребление кислорода суспензией обеих куль-

тур в присутствии аммония или DL-валина, с целью выявления роли каждого из источников азота в стимулировании дыхания соответствующих культур. Результаты повторных опытов приведены в табл. 2 и на рис. 1.

В условиях эндогенного дыхания в присутствии обоих источников азота, у адаптированной культуры величина Q_{O_2} значительно повышена по сравнению с музейной: у последней, в среде с валином, дыхание происходит несколько сильнее (в среднем на 25%) по сравнению со средой, содержащей аммоний, а у адаптированной культуры, при наличии аммония, дыхание интенсивнее (в среднем на 30%), чем в среде с валином.

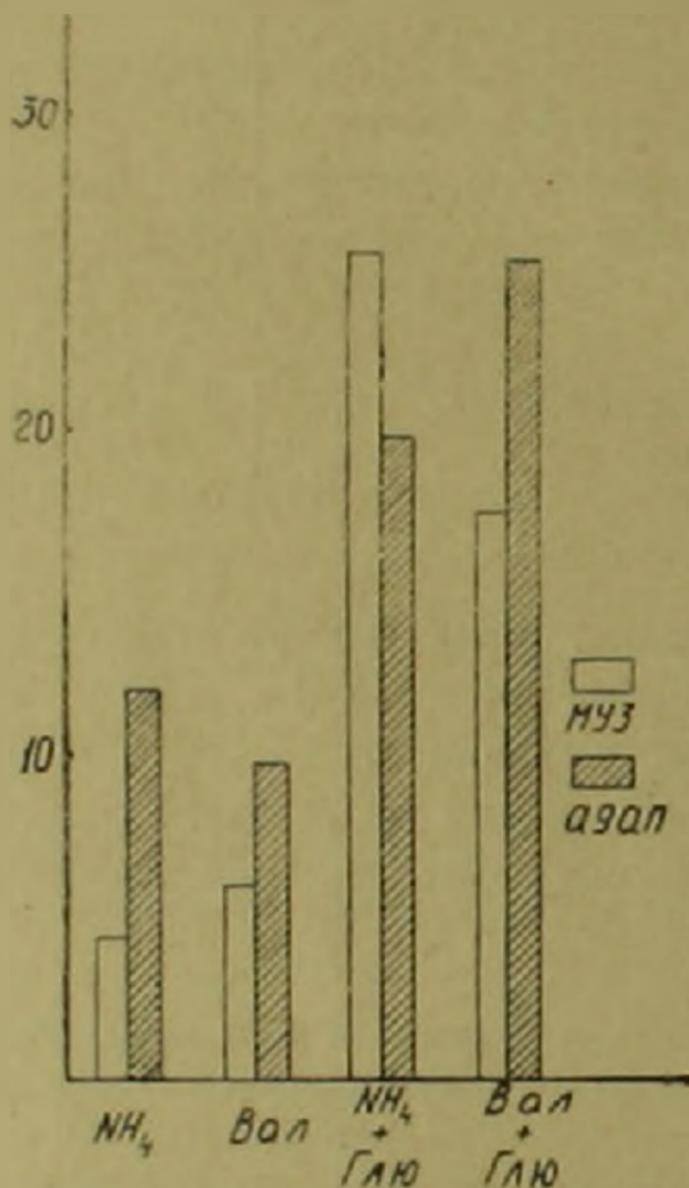


Рис. 1. Дыхание музейной и адаптированной к DL-валлину культуры *S. chevalieri*

Изложенные данные указывают на глубокую перестройку дрожжевой клетки в процессе адаптации, в частности, по накоплению в протоплазме компонентов (углеводов и др.), служащих субстратом для эндогенного дыхания.

При инкубировании в присутствии глюкозы резко повышается потребление кислорода как у музейной, так и у адаптированной культуры: NH_4 действует сильнее у музейной культуры, а валин—у адаптированной. В этом случае примечательно, что величины Q_{O_2} в присутствии субстрата, служащего источником азота в процессе выращивания (NH_4 для музейной, валин для адаптированной), почти равны, в то время как Q_{O_2} значительно снижается в присутствии субстрата, который не служил источником азота при выращивании данной культуры.

Это показывает, что источник азота, в присутствии которого культура выросла является лучшим стимулятором диссимляции экзогенных углеродистых субстратов (в нашем опыте глюкоза).

Таким образом снижение Q_{O_2} при наличии азотистого субстрата, к которому культура не приспособлена, приобретает характер торможения.

3. Активность аминотрансферазных систем, переносящих NH_2 группу валина на α -кетоглутарат у музейной и адаптированной к валину культур.

Таблица 3

Активность некоторых аминотрансфераз, действующих с кетоглутаратом у *S. chevalieri*

Инкубационная смесь: донор NH_2 -валин 20 мкМ—0,2 мл, кетоглутарат—40 мкМ—0,2 мл, пиридоксаль фосфат—20 мкг—0,1, фосфатный буфер М/10—0,2 мл, ферментный препарат—0,3 мл. Общий объем—1 мл, рН—7,6—7,8. Данные в Q_{glut}

Дата опыта	Музейная культура	Культура, адаптированная к валину
17/ I 1968	12,1	46,0
31/ I 1968	28,6	70,0
14/ II 1968	29,0	92,6

Полученные данные показывают (табл. 3), что в процессе адаптации к валину активность валин: кетоглутарат аминотрансферазной системы значительно усиливается. Такое стимулирование можно приписать действию валина, играющего роль специфического субстрата-индуктора, как показано по некоторым ферментам, участвующим в метаболизме аминокислот (4).

Совокупность полученных данных позволяет заключить, что в процессе адаптации к новому источнику азота—валину, одновременно участвуют несколько функций, которые усиливаются и способствуют к более интенсивному включению данного метаболита в энергетические и биосинтетические процессы клеток.

Ереванский государственный университет
Институт микробиологии Академии наук Армянской ССР

Հայկական ԽՍՀ ԳԱ ակադեմիկոս Խ. Ա. ՏԻՐ-ԿԱՊՈՒՊԵՏՅԱՆ,
Վ. Կ. ԶԱՆԹԻՆՈՎԱ, Խ. Պ. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ

Խմորասնկային բջի մի բանի բիոֆիզիական ցուցանիշների փոփոխումը
DL-վալինի նկատմամբ ադապտացման պրոցեսում

Ներկա աշխատության նպատակն է պարզաբանել ինչպիսի ֆունկցիոնալ փոփոխումներ են տեղի ունենում խմորասնկային բջիում ադապտի մի նոր ազդրյուրի՝ վալինի նկատմամբ ադապտացման ընթացքում:

Պաստիլանա սիրման օրյակտ հանդիսացող *C. chevalieri* կուլտուրայի ապոտի հիմնական աղբյուրն է ամոնիում սուլֆատը, իսկ ինչպիս ցույց տվեցին մեր չափորատորիայի հետազոտությունները, վալինը ինտենսիվորեն յուրացվում է կուլտուրայի ադապտացման շնորհիվ:

Որպես քչջային մետարոլիզմի ցուցանիշներ ընտրվել են՝ DL-վալինի ներթափանցումն ու կուտակումը, շնչառությունը, վալին—կետոգլյուտարատ ամինատրանսֆերազային սիստեմի ակտիվությունը:

Հետազոտությունները բերել են հետևյալ եզրակացությունների.

1. Վալինի նկատմամբ ադապտացման պրոցեսում խթանվում է տվյալ ամինաթթվի բջիջները ներթափանցելու արագությունը, բարձրանում է նրա կուտակման մակարդակը: Միաժամանակ խթանվում է նորվալինի ներթափանցման արագությունը և կուտակման մակարդակը: Ծղրակացվում է, որ երկու իզոմերների ներթափանցումը կարող է ապահովվել միևնույն թաղանթային փոխադրիչ սիստեմի օգնությամբ (աղ. 1):

2. Էնդոգեն շնչառության պայմաններում ազոտի երկու աղբյուրների մեկի առկայությամբ, ադապտված կուլտուրայի QO_2 ցուցիչը զգալիորեն բարձրանում է համեմատած թանգարանային կուլտուրայի հետ:

Գլյուկոզի առկայությամբ $(NH_4)_2SO_4$ խթանում է շնչառությունը թանգարանային կուլտուրայի, իսկ վալինը ադապտված կուլտուրայի մոտ: Ծղրակացվում է, որ ադապտացման պրոցեսը նպաստում է ազոտի նոր աղբյուրի ներգրավման դեպի ածխածնի էկզոգեն սուրստրատի (տվյալ դեպքում գլյուկոզի) մետարոլիզմի ուղիները (աղ. 2):

3. Վալինի նկատմամբ ադապտացման պրոցեսում խթանվում է վալին 2-կետոգլյուտարատ ամինատրանսֆերազային ֆերմենտային սիստեմի ակտիվությունը (աղ. 3):

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

- 1 М. А. Тер-Карпетян, Е. Н. Макарова, С. М. Инджикян, Тезисы докл. XVII научной сессии Ереванского гос. ун-та, стр. 66, 1962. 2 М. А. Тер-Карпетян, С. М. Инджикян, ДАН Арм ССР, т. 48, 108, (1969). 3 С. М. Инджикян, Автореферат диссерт., Ереван, 1969. 4 М. А. Тер-Карпетян, Е. Н. Макарова, С. Цатурян, Биол. журн. Армении, т. 21, 9, 3—13, (1968). 5 М. А. Тер-Карпетян, В. Г. Джанибекова, ДАН Арм. ССР, т. 48, 3, 164—169 (1969). 6 М. А. Тер-Карпетян, С. П. Оганесян, Биол. журн. Армении, т. 21, в. 11, 9 (1968). 7 G. Cohen, N. Riekenberg, Ann. Inst. Pasteur, 91, 693 (1956). 8 H. Holzer, Aspects of yeast Metabolism Oxford, 1968.