

Д. МИХЛИН и П. КОЛЕСНИКОВ

ВЛИЯНИЕ КОЛЛОИДОВ И ЭЛЕКТРОЛИТОВ НА СОСТОЯНИЕ РАВНОВЕСИЯ ПРИ ЭНЗИМАТИЧЕСКОМ СИНТЕЗЕ МАЛЬТОЗЫ

(Представлено академиком А. Н. Бахом 16 III 1937)

В излагаемой работе мы изучали влияние сопутствующих коллоидов на состояние равновесия при действии дрожжевой мальтазы на глюкозу. В отличие от всех прежних исследований этого рода мы изучали влияние сопутствующих коллоидов не на гидролиз, но на синтез солодового сахара. Исходя из данных и выводов Михлина и Фетисовой⁽¹⁾, мы полагали, что степень набухания коллоидов ферментного препарата должна сказаться на положении равновесия. Энзиматические реакции происходят на активных поверхностях коллоидов. Состояние равновесия определяется концентрациями участвующих в реакции веществ на этих поверхностях. Поэтому степень набухания коллоидов не может не отразиться на равновесии.

Необходимо здесь подчеркнуть, что концентрации веществ в растворах при экспериментальных синтезах совершенно не отражают тех концентраций, которые находятся в активных центрах действия фермента и которые одни определяют положение равновесия в обратимых реакциях. Поэтому нам кажется необоснованным могущий возникнуть вопрос о «физиологичности» применявшихся нами здесь, как и в работах Михлина и сотрудников с лактозой⁽²⁾, концентраций.

Влияние коллоидов при синтезе мальтозы мы изучали двумя путями. Во-первых, мы прибавляли к раствору дрожжевой мальтазы некоторое количество нативного яичного белка или желатины. Этим самым мы изменяли коллоидную среду действующего фермента. Во-вторых, мы изучали влияния, которые оказывают на синтез некоторые соли. Наконец мы очисткой по методу Вильштеттера освободили мальтазу от значительного количества сопутствующих ей коллоидов и изучали синтезирующее действие этого очищенного фермента в зависимости от прибавления белков и электролитов.

М е т о д

Мальтаза получалась по Croft Hill'у⁽³⁾ из пивных дрожжей. Дрожжи промывались декантацией в течение 2—3 суток водопроводной водой, отжимались сперва через марлю, затем на воронке Бюхнера и высушивались в термостате при 30°. Сухие дрожжи подвергались автолизу в 0.1%

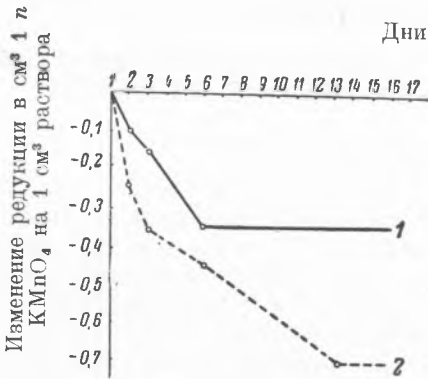
растворе NaOH под толуолом в течение 3 суток, после чего отфильтровывались через бумажный фильтр. Получалась прозрачная жидкость желтоватого цвета. Активность препарата проверялась гидролизом мальтозы.

Для синтетических опытов применялся 60—70% раствор глюкозы. Смесь составлялась из 20 мл этого раствора + 10 мл аутолизата дрожжей + +3 мл толуола. Концентрация глюкозы в смеси была около 40%. Опыт велся при 30°.

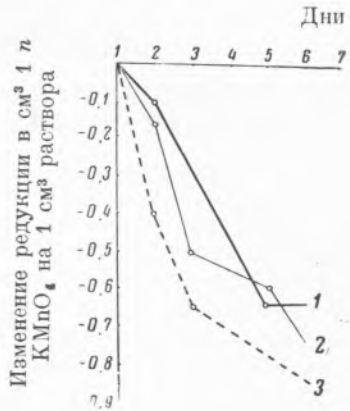
По уменьшению редуцирующей способности раствора судили о размере синтеза.

Обратимость реакции проверялась гидролизом 2% соляной кислотой после установления равновесия в растворе сахаров.

Всегда редукция после гидролиза возвращалась к исходной величине. Редукция определялась по Бертрону после осаждения коллоидальным



Фиг. 1.—Влияние коллоидов на действие мальтазы. 1—контроль, 2—+ яичный белок.



Фиг. 2.—Влияние коллоидов на действие очищенной мальтазы. 1—контроль, 2—+ яичный белок, 3—+ желатина.

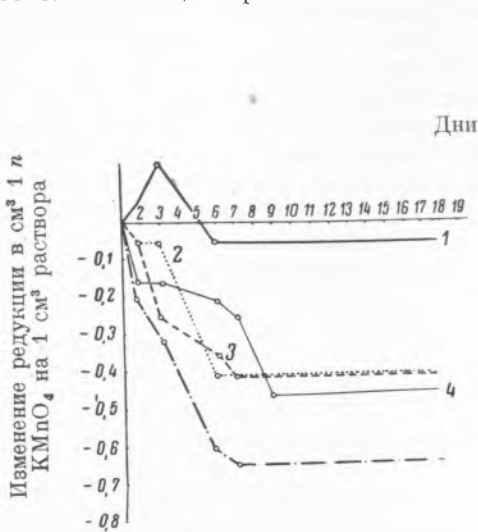
железом. В опытах с электролитами прибавлялось столько соли, чтобы концентрация ее была 1 N. В опытах с белками прибавлялось 1 мл яичного белка или 0.25 г желатины. Очистка фермента производилась по Вильштеттеру с препаратом Cγ.

Нами получены однородные результаты в длинном ряде опытов, но для краткости приводим лишь некоторые из них в виде кривых (1 и 2).

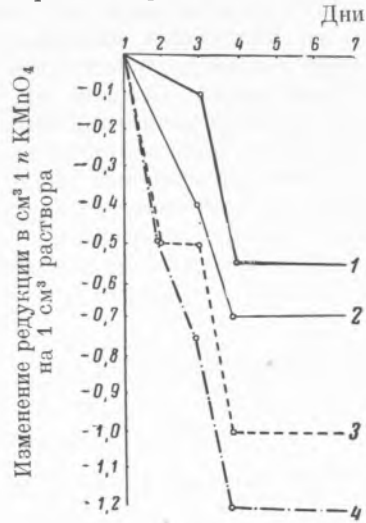
Как видно из кривых, синтез идет как с неочищенным, так и с очищенным ферментом. Яичный белок и желатина смещают равновесие в сторону синтеза как в опытах с аутолизатом, так и с очищенным ферментом. Если предположить, что весь синтезируемый сахар представляет собой мальтозу, то на основании убыли редукции можно вычислить ее количество при равновесии. Оно составляет для мальтозы 10—12% без прибавления белков и 13—16% в их присутствии. Эти данные, полученные на основании редукции смесей чистых растворов глюкозы и мальтозы в различных соотношениях, не вполне отражают истинное положение равновесия при экспериментальном синтезе. Как окончательно установлено Pringsheim'ом и Leibowitz (4), наряду с мальтозой синтезируется и другой, точно еще не изученный дисахарид. В отличие от отмеченной Михлиным и Левитовым неустойчивости равновесия при синтезе молочного сахара синтезируемая мальтоза не подвергается обратному гидролизу. Это различие может быть

объяснено глубокими различиями между нативными коллоидами молочной железы и раствором мальтазы. Синтезированный сахар полностью гидролизуеться 2% соляной кислотой.

Характерно действие солей. Фтористый натрий и хлористый натрий несколько смещают равновесие. Но особенно резко выраженное смещение



Фиг. 3.—Влияние электролитов на действие мальтазы. 1— NH_4CNS , 2— NaCl , 3—контроль, 4— NaF , 5— K_2SO_4 .



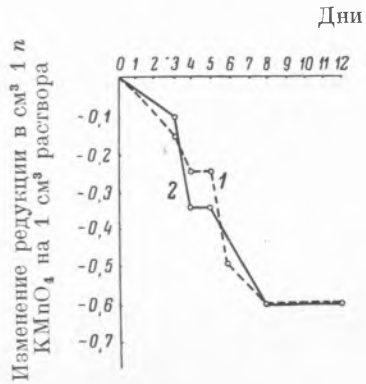
Фиг. 4.—Влияние коллоидов и солей на действие очищенной мальтазы. 1—желатина+ NH_4CNS , 2—контроль, 3—+ желатина, 4—желатина + Na_2SO_4 .

равновесия в сторону синтеза наблюдается при действии серноокислых солей. С другой стороны, значительная или полная задержка синтеза получается в присутствии роданистого аммония, который отличается пептизирующим действием на белки (кривые 3, 4 и 5). Противоположные действия на синтетический процесс оказывают следовательно соли, различным образом влияющие на гидратацию белков.

Влияние других солей на равновесие очень незначительно в экспериментальных условиях. С другой стороны, известно, что действие какой-нибудь соли на набухание зависит от действия аниона и катиона, которые могут действовать в противоположных направлениях и уравновешивать друг друга.

Это особенно заметно при действии средних членов рядов Гофмейстера (5).

Показательным является поэтому лишь действие на равновесие тех солей, влияние которых на набухание гидрофильных коллоидов твердо установлено. К таким солям относятся применявшиеся нами серноокислый натрий и роданистый аммоний, резко смещающие равновесие между моно- и дисахаридами соответственно их влиянию на набухание коллоидов.



Фиг. 5.—Влияние электролитов на действие очищенной мальтазы. 1— Na_2SO_4 , 2—контроль.

С очищенным ферментом оказывает влияние только роданистый аммоний, серноокислый натрий никакого влияния на равновесие не оказывает.

В ы в о д ы

Изучалось влияние сопутствующих коллоидов и их состояния набухания на положение равновесия при ферментативном синтезе мальтозы. С этой целью дрожжевая мальтаза была освобождена от главной массы сопутствующих ей веществ. К ферментному препарату прибавлялся также раствор яичного белка или желатины. Во всех случаях обнаружена зависимость положения равновесия от присутствия коллоидов. Установлено, что серноокислые соли, дегидратирующие лиофильные коллоиды, сдвигают равновесие в сторону синтеза. Роданистый аммоний, пептизирующий белки, задерживает синтез. Экспериментально доказана роль коллоидов в синтезе новых веществ и их регуляторная роль в обратимых биохимических реакциях.

Институт биохимии.
Академия Наук СССР.
Москва.

Поступило
16 III 1937.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Michlin u. Fetissova, Bioch. SZ., 282, 26 (1933). ² Там же.
³ Croft Hill, Journ. Chem. Soc., 73, 134; 83, 634 (1903). ⁴ Pringsheim u. Leibowitz, Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 57, 1376 (1924). ⁵ Hofmeister, Arch. exp. Pathol., 28, 210 (1890).