

МИКРОБИОЛОГИЯ

С. С. ЕЛИЗАРОВА и М. Н. МЕЙСЕЛЬ

**АКТИВНОСТЬ КАТАЛАЗЫ И ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ  
ПРОТОПЛАСТА МИКРОБНОЙ КЛЕТКИ**

(Представлено академиком А. И. Опариным 30 III 1949)

В живых организмах, где идут энергичные процессы обмена веществ и где имеют место окислительно-восстановительные процессы, деятельное участие в этих процессах принимает фермент каталаза.

Каталаза играет важную роль в физиологии организма; она регулирует образующиеся в организме при дыхании перекиси и, возможно, активирует кислород для окисления некоторых веществ в живой клетке.

Количественное содержание каталазы отражает и характеризует в ряде случаев общее состояние жизнедеятельности организма. Так например, семена растений, потерявшие всхожесть вследствие старения, не обнаруживают и каталазы.

Представлялось интересным выяснить, в какой мере активность каталазы может отражать функциональное состояние клеток микроорганизмов. В первую очередь казалось существенным исследовать микроорганизмы, находящиеся в состоянии резко выраженного авитаминоза и гипервитаминоза.

Одним из авторов этой статьи совместно с сотрудниками было показано, что недостаток или избыток определенных витаминов в среде вызывают не только замедление или ускорение роста и размножения микробов, но меняют весь функционально-морфологический облик клеточного протопласта (1). Можно считать, что эти изменения являются непосредственным проявлением патологических состояний клеток, вызванных ненормальным витаминным снабжением.

Удобным объектом для изучения роли витамина В<sub>1</sub> в клеточной жизнедеятельности оказался дрожжеподобный организм *Endomyces Magnusii*.

Витамин В<sub>1</sub> и биотин являются основными и совершенно необходимыми витаминами для этого организма. *Endomyces Magnusii* не в состоянии синтезировать эти биокатализаторы и нуждается в получении их извне. Для более или менее нормального развития этого грибка и биотин и витамин В<sub>1</sub> должны одновременно присутствовать в питательной среде. Исключение одного из них ведет к резким изменениям микробных клеток. Под изолированным воздействием витамина В<sub>1</sub> происходит структурная и функциональная перестройка самой клетки, характерная для развития организма в анаэробных условиях. Наблюдается увеличение размеров ядер, гипертрофия ее хондриомного аппарата, накопление гликогена и волютинина; бродильная способность резко повышается. Клетка, следовательно, несмотря на развитие в аэробных условиях, переходит из аэробного в анаэробный тип как по характеру обмена веществ, так и по морфологической структуре. Такая функцио-

нально-морфологическая перестройка рассматривается нами как результат В<sub>1</sub>-гипервитаминоза.

Под односторонним воздействием одного биотина размножение *Endomyces Magnusii* также несколько активируется, но клетки утрачивают способность к брожению; меняется существенно также их морфологическая структура: уменьшаются ядра, измельчаются и расширяются хондриосомы, исчезает запасный гликоген и волютин. Уже в однодневной культуре имеются дегенерирующие клетки. Количество их с каждым днем увеличивается. Это сопровождается изменением и в окислительно-восстановительных системах клеток, редуцируется и цитохромная система.

Мы поставили задачей изучить активность фермента каталазы у *Endomyces Magnusii*, размножая его в аэробных условиях на искусственной сахаро-минеральной среде Ридера с прибавлением тех витаминов, которые он должен получить извне для своего развития, т. е. В<sub>1</sub> и биотина. Витамины добавлялись к среде или по отдельности или вместе. Контролем служила культура, выросшая на естественной для дрожжевых организмов сусло-агаровой среде. Состояние клеток контролировалось цитологическими методами.

Определение каталазы проводилось по методу Эйлера (2) с нашей модификацией при 0°. Навеска исследуемой культуры (30 мг) отвешивалась на торсионных весах, растиралась в агатовой ступке с 3 мл фосфатного буфера (рН = 6,8) и переносилась в эрленмейеровскую колбу с 10 мл 0,01% пергидроля. Суспензия оставлялась при 0° на 10 мин., после чего действие фермента прерывалось 3,5 мл 10% серной кислоты. Далее следовало титрование 0,01 N раствором марганцево-кислого калия.

В контрольном определении бралась прокипяченная суспензия дрожжей. Разница, полученная от титрования опытной и контрольной суспензии, показывала активность каталазы. Полученные данные пересчитывались по формуле мономолекулярной реакции первого порядка на 30 мг сырого веса, что соответствует 7,5 мг сухого вещества.

Активность каталазы при В<sub>1</sub>-гипервитаминозе. Витамин В<sub>1</sub>, будучи введен в искусственную сахаро-минеральную среду без биотина, способствует переходу *Endomyces Magnusii* в бродильный тип даже в аэробных условиях. Мы исследовали такие гипервитаминозные культуры — односуточные, двухсуточные и трехсуточные, выросшие в аэробных условиях. В качестве контрольных были исследованы культуры тех же возрастов, но выросшие на полноценной сусло-агаровой среде (табл. 1).

Таблица 1\*

Активность каталазы у культуры *Endomyces Magnusii* (количественный показатель каталазы)

Культура	У В <sub>1</sub> -гипервитаминозной культуры, выросшей на среде Ридера с витамином В <sub>1</sub>		У контрольной культуры, выросшей на сусло-агаровой среде
	I серия	II серия	
Односуточная . . . .	2,15	3,70	3,15
Двухсуточная . . . .	2,20	3,01	2,83
Трехсуточная . . . .	2,50	2,12	3,32

\* Цифры, помещенные в табл. 1—3, являются средними из нескольких определений.

Приведенные в табл. 1 данные указывают, что *Endomyces Magnusii* имеет сравнительно высокий показатель каталазы. Это вполне соответствует общему хорошему состоянию культуры, жизнеспособности клеток, хорошему развитию клеточных структур. Сравнивая гипервитаминозную культуру, выросшую в присутствии витамина В<sub>1</sub>, не сбалансированного биотином, с контрольной, мы видим, что амплитуда колебания активности фермента примерно одного и того же порядка.

Некоторая разница в количественном показателе фермента в разных сериях зависит от каких-то неучтенных нами условий среды.

Активность каталазы при В<sub>1</sub>-авитаминозе. Мы уже отмечали, что в присутствии биотина и при одновременном исключении из среды витамина В<sub>1</sub> в культуре *Endomyces Magnusii* наблюдаются проявления резкого В<sub>1</sub>-авитаминоза, начиная со вторых суток культивирования.

Совершенно очевидно, что должны были измениться и количественные показатели каталазы у такой культуры.

Таблица 2

Активность каталазы В<sub>1</sub>-авитаминозной культуры *Endomyces Magnusii*, выросшей на среде Ридера с биотином (количественный показатель каталазы)

Культура	I серия	II серия
Односуточная . . . . .	3,36	1,56
Двухсуточная . . . . .	0,55	0,53
Трехсуточная . . . . .	0	0

Односуточная культура обеих серий (табл. 2) дает высокий показатель каталазы. Объясняется это тем, что в первый период развития в материнских клетках посевного материала имеется еще некоторый внутренний запас витамина В<sub>1</sub>. Клетки развиваются первое время удовлетворительно и соответственно имеют высокий показатель фермента. На вторые сутки начинает проявляться авитаминоз. Клетки сильно вакуолизируются, исчезают запасы гликогена и волютина, хондриосомный аппарат становится мелкозернистым. Часть клеток дегенерирует. Показатель каталазы резко падает. На третьи сутки количественный показатель каталазы снижается до 0.

Несомненно, что один биотин не обеспечивает у *Endomyces Magnusii* возможности проявления основных функций организма. С этим хорошо согласуются обнаруживаемая при В<sub>1</sub>-авитаминозе неполноценность структурной организации клеток, их нестойкость и склонность к деградации.

Опыт получения полноценных культур на искусственной сахаро-минеральной среде. Если отдельно взятые витамин В<sub>1</sub> и биотин вызывают при культивировании на сахаро-минеральной среде проявление В<sub>1</sub>-гипервитаминоза и авитаминоза, то одновременное введение в питательную среду обоих витаминов способствует развитию нормальной культуры *Endomyces Magnusii*, мало отличающейся от культур, выросших на естественных средах. Соответственно в культуре *Endomyces Magnusii*, выросшей на среде, содержащей оба витамина, количественный показатель каталазы высокий, что указывает на полноценное физиологическое состояние клеток (табл. 3).

Клетки в этой культуре имеют вполне нормальный, отчетливо выраженный аэробный характер. Основные клеточные структуры находятся

в таком же состоянии, как и в клетках из контрольных культур, выросших на естественной сусло-агаровой среде. Интенсивность поглощения кислорода повышена, а способность к брожению снижена по сравне-

Таблица 3

Активность каталазы у *Endomycetes Magnusii* на среде Ридера с витамином В<sub>1</sub> и биотином (количественный показатель каталазы)

Культура	I серия	II серия
Односуточная . . . . .	3,1	3,2
Двухсуточная . . . . .	3,15	2,63
Трехсуточная . . . . .	3,18	2,7

нию с В<sub>1</sub>-гипервитаминозной культурой вследствие регулирующего влияния биотина; количественный показатель каталазы при этом достаточно высокий, аналогичный таковому у контрольных культур, полученных на естественной полноценной среде (ср. табл. 1).

### Выводы

1. Аэробный штамм *Endomycetes Magnusii*, нуждающийся для своего нормального развития в получении извне В<sub>1</sub> и биотина, имеет высокий показатель активности каталазы при наличии в среде этих двух витаминов.

2. На среде с одним В<sub>1</sub> количественный показатель каталазы остается высоким. Это коррелирует с биологической стойкостью такой культуры и способностью ее к длительному, хотя и замедленному размножению.

3. На среде с одним биотином количественный показатель каталазы резко снижается, что связано с отчетливо проявляющимся авитаминозным состоянием клеточного протопласта и постепенной дегенерацией и отмиранием культуры.

4. Количественный показатель каталазы может служить критерием нормального или патологического состояния организма.

Институт биохимии им А. Н. Баха  
и Институт микробиологии  
Академии наук СССР

Поступило  
19 III 1949

### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

<sup>1</sup>М. Мейсель, Н. Трофимова и Н. Лисовская, Микробиология, 14 191 (1945). <sup>2</sup>Н. Euler u. R. Blix, Z. f. physiol. Chem., 105, 81 (1919).