

Академик А. И. ОПАРИН и В. В. ЮРКЕВИЧ

ОБ АДСОРБЦИИ ФЕРМЕНТОВ ДРОЖЖЕВЫМИ КЛЕТКАМИ

В 1937 г. одним из нас^(1, 2) было высказано положение о значении адсорбции и десорбции ферментов в протоплазме живых клеток как явления, определяющего направленность ферментативных процессов. Первостепенная физиологическая важность явлений адсорбции ферментов в клетках была показана многочисленными работами А. Курсанова, Н. Сисакяна, Б. Рубина и др.

В 1944 г. А. Опарин и С. Каден⁽³⁾ показали, что живым клеткам свойственен не только обратимый переход в адсорбированное состояние их собственных ферментов, но и способность адсорбировать (поглощать) ферменты из окружающей среды. Зародыш пшеницы, погруженный в раствор β -амилазы, адсорбировал этот фермент из окружающего раствора. В том же году А. Курсанов и Е. Исаева⁽⁴⁾ показали на примере шампанских дрожжей Steinberg 1892 г., что явление это свойственно дрожжевым клеткам, которые адсорбировали в их опытах различные ферменты. Теми же авторами была констатирована тесная связь указанного явления с физиологическим состоянием клеток, что также следует из дальнейших работ А. Курсанова^(5, 6) и Н. Сисакяна^(7, 8). В работах А. Курсанова и его сотрудников^(5, 9) было показано, что это явление свойственно широкому кругу растительных организмов.

Изучая адсорбцию инвертазы различными расами дрожжей при выдерживании их в течение 3—4 час. при комнатной температуре в 0,02% водном растворе фермента, мы констатировали, что это явление, как правило, выражено сравнительно слабо. При этом дрожжи, имеющие большую активность собственной инвертазы, не адсорбируют этот фермент из раствора, тогда как дрожжи, имеющие слабую активность инвертазы или совсем ее не обнаруживающие, обладают некоторой способностью к адсорбции этого фермента.

Таблица I

Способность различных рас дрожжей к адсорбции инвертазы

| Раса дрожжей | Активность адсорбированной инвертазы в мг инверта на 100 мг сырого веса от центрифуг. дрожжей | Активность собств. инвертазы дрожжей в мг инверта на 100 м сырого веса дрожжей |
|----------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> XII раса | нет | 244,0 |
| <i>S. ellipsoideus</i> | 1,9 | 23,2 |
| Steinberg, 1892 | 8,0 | 1,0 |
| <i>Endomyces magnusii</i> | 6,1 | 0,7 |
| <i>S. globosus</i> | 6,8 | нет |

Эти данные хорошо согласуются с данными А. Курсанова, Е. Исаевой и В. Попатенко⁽⁶⁾, показавшими обратную зависимость между

активностью инвертазы и адсорбционной способностью для тканей высших растений. Явление это связано, по видимому, с большим или меньшим насыщением ферментами протоплазмных структур. В частности, для пластид высших растений Н. Сисакином и его сотрудниками было показано, что главная масса клеточных ферментов локализуется на этих форменных образованиях клетки^(10, 11) и что способность пластид к адсорбции зависит от их насыщенности ферментом⁽¹⁰⁾.

В других опытах шампанские дрожжи Steinberg 1892 г. (0,5 г), выращенные на виноградном сусле, выдерживались нами в течение 3 час. в прозрачном 0,02% растворе эмульгина при pH = 6. После шестикратного промывания большими порциями воды при центрифугировании, дрожжи, будучи помещенными в 0,5% раствор амигдалина, через 4 часа обнаружили резкий запах синильной кислоты, тогда как контрольные дрожжи, не выдерживавшиеся в растворе эмульгина, не разлагали амигдалина при стоянии в течение нескольких дней. Эти данные свидетельствуют о том, что адсорбированный из внешней среды фермент может использоваться живыми клетками для разложения соответствующих субстратов.

При изучении явления адсорбции ферментов из внешней среды методом выдерживания клеток в водных растворах ферментов, мы всегда получали относительно очень малые величины адсорбции. Поэтому перед нами встал вопрос о нахождении таких условий, при которых можно было бы повысить величину адсорбции. В связи с тем, что адсорбция из внешней среды органических веществ, в том числе и ферментов, у высших растений тесно связана с дыханием⁽⁵⁾, у нас возникла мысль, не будет ли брожение как энергетический процесс, типичный для дрожжей, способствовать адсорбции ими ферментов из окружающего раствора.

Осуществленные нами опыты показали, что наличие в среде способного сбраживать сахара в исключительно сильной степени повышает адсорбцию фермента из раствора (ср. табл. 1 и табл. 2), причем большая адсорбционная способность к инвертазе в присутствии сахара наблюдается как у рас, имеющих большую активность собственной инвертазы, так и у рас, имеющих малую активность или вовсе не имеющих этого фермента.

Стимулирующее влияние глюкозы (2%) на адсорбцию инвертазы 2% суспензией *Saccharomyces globosus* настолько велико, что при 0,02% растворе фермента, после выдерживания в нем дрожжей в течение 30 мин. при 21°, когда по Бертрану еще нельзя было констатировать заметного уменьшения сахара в растворе, мы наблюдали полное исчезновение фермента из раствора. Этот фермент можно было затем в значительной его части обнаружить в качестве гидролитически действующего в самих дрожжах по инвертирующей активности дрожжевой суспензии после односуточного автолиза с толуолом, водой и ацетатным буфером с pH = 5,9.

В табл. 2 показана адсорбция инвертазы при 2-часовом выдерживании дрожжей на 2% глюкозе.

Получив в руки прием, позволяющий вызывать весьма значительную адсорбцию фермента живыми клетками из окружающей среды, мы попытались и в этом случае выяснить, может ли живая клетка, приобретя этот фермент из внешней среды, пользоваться им как компонентом своего ферментативного аппарата. Для этого 400 мг односуточной культуры *Saccharomyces globosus*, не способной сбраживать сахарозу, были выдержаны в течение 2 час. при 25° в 20 мл среды, содержащей в начале опыта 2% глюкозы и 0,02% препарата инвертазы, полученного из пивных дрожжей. После этого дрожжи центрифугировались при 1500 об/мин. в течение 5 мин., затем среда

Адсорбция инвертазы дрожжами при их 2-часовом выдерживании на растворе глюкозы

| Раса дрожжей | Исчезло фермента из среды | | Найдено в дрожжах | |
|-----------------------------------------|----------------------------------|---------------------------|----------------------------------|---------------------------|
| | в мг инвертазы на 100 мг дрожжей | в % к исходной активности | в мг инвертазы на 100 мг дрожжей | в % к исходной активности |
| <i>Saccharomyces ellipsoideus</i> . . . | 48,3 | 100 | 38,7 | 80,1 |
| <i>S. globosus</i> | 48,3 | 100 | 42,9 | 88,8 |

была полностью слита и проведено 4-кратное промывание дрожжей дистиллированной водой, при центрифугировании. Затем опытные и контрольные дрожжи (выдержанные параллельно в растворе глюкозы без фермента) помещены в трубки Эйнгорна с 10 мл 5% раствора сахарозы и поставлены в термостат на 30°.

Через 1 час в опытном сосуде появились первые пузырьки газа, а через 3 часа накопилось 0,5 мл газа, тогда как в контрольном сосуде никаких признаков брожения не наблюдалось. Чтобы показать, что инверсия сахарозы в опытном сосуде осуществлялась ферментом, находящимся в самих клетках, мы провели испытание на инвертазную активность воды четвертого промывания и бродильной жидкости из опытной трубки Эйнгорна. При этом никакого инвертазного действия обнаружено не было.

Таким образом, клетки *Saccharomyces globosus*, которым не свойственно брожение на сахарозе, адсорбируя из внешней среды инвертазу, приобрели эту способность. Это еще раз подтверждает одну из основных биологических закономерностей, открытых акад. Т. Д. Лысенко (12), что внешнее может становиться внутренним через процесс ассимиляции.

На основании изложенных в настоящем сообщении фактов мы можем сделать следующие заключения:

1. Наши данные показали, что адсорбция (поглощение) ферментов живыми клетками из окружающей среды есть явление биологическое, тесно связанное с жизнедеятельностью клетки.

2. Живым клеткам, повидимому, свойственно строить свой ферментативный аппарат не только за счет синтеза самой клеткой, но и за счет пополнения его ферментами, адсорбируемыми из окружающей среды, причем клетка может приобретать таким путем как дополнительные количества имеющихся у нее ферментов, так и отсутствовавшие в ней ранее ферменты.

3. Намечаются новые возможности активного вмешательства в обмен веществ живой клетки путем изменения ее ферментативного аппарата в результате адсорбции клеткой несвойственных ей ферментов.

Поступило
22 III 1949

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. Опарин, Биохимия, 2, 135 (1837). ² А. Опарин, Enzymologia, 4, 13 (1937). ³ А. Опарин и С. Каден, Биохимия, 10, 25 (1945); С. Каден, Диссертация, МГУ, 1944. ⁴ А. Курсанов и Е. Исаева, Биохимия, 9, 15 (1944). ⁵ А. Курсанов, Н. Крюкова и Д. Седенко, Биохимия, 13, 5 (1948). ⁶ А. Курсанов, Е. Исаева и В. Попатенко, Биохимия, 11, 5 (1946). ⁷ Н. Сисакян и А. Кобякова, Биохимия, 12, 5 (1947). ⁸ Н. Сисакян и А. Кобякова, ДАН, 57, № 8 (1947). ⁹ А. Курсанов, Биохимия, 11, 4 (1946). ¹⁰ Н. Сисакян и А. Кобякова, Биохимия, 13, 1 (1948). ¹¹ Н. Сисакян и А. Кобякова, Биохимия, 14, 1 (1949). ¹² Т. Д. Лысенко, О положении в биологической науке, 1948.