

А. М. МАЛКОВ

# О НАПРАВЛЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ ПИРОФОСФАТАЗНЫХ ФЕРМЕНТОВ ДРОЖЖЕЙ

(Представлено академиком А. И. Опариным 2 I 1951)

Изучая в 1939 г. действие дрожжевой пирофосфатазы, нам удалось доказать, что этот фермент, в соответствии с теорией А. И. Опарина, в элюированном состоянии действует только в гидролитическом направлении и имеет два рН-оптимума (рН 3,5 и 7,5). Синтетическое действие пирофосфатазы было обнаружено при рН 7,0 в случае проведения опыта с неразрушенными клетками, т. е. в случае, когда фермент находился в состоянии адсорбции на клеточных структурах.

В настоящем исследовании изучалась взаимосвязь между состоянием внутриклеточного окислительно-восстановительного потенциала частично автолизированных и живых пекарских дрожжей и направленностью действия ферментов, гидролизующих или синтезирующих пирофосфарные связи.

1. Наблюдения над частично автолизированными дрожжами. Навески прессованных пекарских дрожжей по 100 г суспензировались в ацетатной буферной смеси при рН 4,2 и помещались в термостат при 40° на 4 часа. После этого дрожжевые суспензии в отдельности переносились:

1) в ацетатную смесь (500 мл) при рН 7,0 и аэрировались 3 часа при 25°;

2) в 450 мл ацетатной смеси + 50 мл раствора  $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$  (500 мг); остальное то же, что 1);

3) в 500 мл ацетатной смеси + 5 г хингидрона; остальное то же, что 1).

Данные приведенного опыта показывают, что в присутствии хингидрона гидролитическое действие фосфатаз частично автолизированных дрожжей несколько снижается, причем в меньшей степени это касается пирофосфатазных ферментов. Такой окислитель, как  $\text{Fe}^{\text{III}}$ , почти полностью исключает гидролитическое действие фосфатаз и в том числе пиро-

Таблица 1

Условия обработки дрожжей	Р в мг % на сухое вещество		
	до гидролиза	после гидролиза	по разности
До опыта . . . . .	284	389	105
Автолиз при 40° 4 часа . . . . .	449	657	208
То же, послед. аэрация 3 часа . . . . .	588	785	197
То же, в присутствии хингидрона . . . . .	329	366	37
То же, в присутствии $\text{Fe}^{\text{III}}$ . . . . .	18	33	15

фосфатаз. Приведенный опыт показывает, что сама по себе аэрация частично автолизированных дрожжей в ацетатной смеси не приостанавливает (автолитического) гидролитического распада внутриклеточных пиррофосфарных связей.

Иное положение создается в случае аэрирования таких же дрожжей в присутствии хингидрона или  $\text{Fe}^{\text{III}}$ . При этих условиях распад пиррофосфарных связей и минерализации фосфарных соединений прекращаются. Более того, освободившаяся ранее фосфорная кислота при этих условиях исчезает, возможно, превращаясь за счет энергии одновременного сжигаемого гликогена в пиррофосфарные соединения.

II. Наблюдения над физиологически активными дрожжами. Навески дрожжей по 20 г до помещения на питательные среды выдерживались 60 мин. в 20 мл:

- 1) раствора ортофосфата натрия (Р 0,47 г, рН 7,0);
- 2) раствора цианистого натрия (0,13 г, рН 7,0);
- 3) воды (рН 7,0).

После этого суспензии дрожжей в отдельности переносились в питательные среды по 500 мл. Состав сред:

- 1) на 500 мл 15 г глюкозы;
- 2) 1,0 г  $\text{MgSO}_4$  и
- 3) 1,25 г  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ .

К средам, предназначенным для 2-й и 3-й суспензий дрожжей, добавлялось еще по 0,47 г Р в виде ортофосфата натрия; рН при брожении поддерживалось на уровне 7,0. Брожение протекало 4 часа при 30°. Жидкость все время аэрировалась.

Таблица 2

Обработка исходных дрожжей	Исчезло глюкозы в г на 100 мл среды	Прирост дрожжей в мг на сух. вещ. в 100 мл среды	Р в дрожжах в мг % на сух. вещество						Разность между опытом и исходн.
			в исходн. дрожжах			в дрожжах после опыта			
			до гидро- лиза	после гидролиза	по разности	до гидро- лиза	после гидролиза	по разности	
Ортофосфат . . . . .	2,92	360	560	714	154	392	811	419	265
Циан . . . . .	2,92	360	560	714	154	464	930	466	312
Без обраб. . . . .	2,95	320	560	714	154	475	749	274	120

Данные опыта показали, что фосфатазная и, в частности, пиррофосфатазная ферментативная система физиологически активных дрожжей ведет себя по-иному, чем эта же система частично автолизированных, т. е. физиологически не активных дрожжей. Так, дрожжи, размножавшиеся в условиях доступа воздуха, дыхательная железосодержащая ферментативная система которых оставалась активной, образовывали значительно меньше пиррофосфарных связей, чем дрожжи с заторможенной с помощью циана или ортофосфата железосистемой.

Иными словами, вегетация дрожжей при высоком внутриклеточном окислительно-восстановительном потенциале, создаваемом активной геминовой железосистемой, способствует ослаблению синтетической направленности пиррофосфатаз. Наоборот, низкий внутриклеточный окислительно-восстановительный потенциал, создаваемый цианом, ортофосфатом и другими комплексообразователями, способствует усилению синтетической активности некоторых пиррофосфатаз.

Из приведенного следует, что направленность действия отдельных ферментов в частично автолизированных и физиологически деятельных работающих клетках протекает по-разному. Это обстоятельство заставляет с большой осторожностью относиться к физиологическим обобщениям, делаемым из фактов, полученных с физиологически недейтельными

и, в особенности, с убитыми клетками или изолированными из них системами.

Пирофосфатазные ферменты физиологически деятельных интенсивно дышащих пекарских дрожжей обладают большей гидролитической, чем синтетической активностью, и наоборот, ослабление дыхательной способности дрожжей в процессе их вегетации способствует усилению синтетической и ослаблению гидролитической направленности некоторых содержащихся в них пирофосфатазных ферментов.

Поступило  
21 IX 1950

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> А. М. Малков и В. В. Каль, Украинск. биохим. журн., 3, 633 (1939).  
<sup>2</sup> А. И. Опарин, *Ergebn. d. Enzymf.*, 3, 57 (1934). <sup>3</sup> А. М. Малков, Консультация по бродильной промышленности, 13, 18—19, 69 (1940).