

БИОХИМИЯ

А. М. МАЛКОВ

О НАПРАВЛЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ ПИРОФОСФАТАЗНЫХ
ФЕРМЕНТОВ ДРОЖЖЕЙ

(Представлено академиком А. И. Опарином 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.

I. 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 Fe^{III} , почти полностью выключает гидролитическое действие фосфатаз и в том числе пиро-

Таблица 1

Условия обработки дрожжей	Р в мг % на сухое вещество		
	до гидро-лизы	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 Fe^{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 пирофосфарных связей.

Иное положение создается в случае аэрирования таких же дрожжей в присутствии хингидрона или Fe^{III} . При этих условиях распад пирофосфарных связей и минерализации фосфарных соединений прекращаются. Более того, освободившаяся ранее фосфорная кислота при этих условиях исчезает, возможно, превращаясь за счет энергии одновременно сжижаемого гликогена в пирофосфарные 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 ($\text{P} 0,47 \text{ г, pH 7,0}$);
- 2) раствора цианистого натрия ($0,13 \text{ г, pH 7,0}$);
- 3) воды (pH 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 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 P в виде ортофосфата натрия; pH при брожении поддерживалось на уровне 7,0. Брожение протекало 4 часа при 30° . Жидкость все время аэрировалась.

Таблица 2

Обработка исходных дрожжей	Использовано глюкозы в г на 100 мл среды	Привес 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 разно- сти	до гидро- лиза	после гидролиза	по разно- сти		
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, пирофосфатазная 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 пирофосфарных связей, чем дрожжи с заторможенной с помощью циана или ортофосфата железо-системой.

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

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 недеяльными

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 усилию синтетической и ослаблению гидролитической направленности некоторых содержащихся в них пирофосфатазных ферментов.

Поступило
21 IX 1950

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

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