

Академик А. И. ОПАРИН, Н. С. ГЕЛЬМАН и И. Е. ЭЛЬПИНЕР

## ОБНАРУЖЕНИЕ ИНВЕРТАЗЫ У *SACCHAROMYCES GLOBOSUS* 349 ПРИ ПОМОЩИ УЛЬТРАЗВУКОВЫХ ВОЛН

В предыдущем сообщении <sup>(1)</sup> нами было показано, что в клетках *Endomycetes magnusii*, после воздействия ультразвуковыми волнами в определенных условиях обнаруживается повышенная активность инвертазы. Как установлено ранее В. В. Юркевичем <sup>(2)</sup>, обычным автолизом подобное явление не удастся воспроизвести.

Указанные результаты навели нас на мысль о том, что инвертаза может находиться в дрожжевой клетке в неактивном состоянии и обнаруживаться лишь при воздействии на клетку определенных физических агентов, к числу которых относится ультразвук. Для проверки этого предположения были поставлены опыты по определению активности инвертазы до и после воздействия ультразвуковых волн у дрожжей *Saccharomyces globosus* 349, которые, по данным Юркевича, не содержат инвертазы, но приобретают способность сбраживать сахарозу при выращивании на последней <sup>(3)</sup>.

Дрожжи выращивались на среде Ридер — дрожжевая вода с глюкозой в эрленмейеровских колбах, содержавших 100 мл среды, при 30°. Все опыты проведены с 24-часовыми культурами. Дрожжи отделялись от культуральной жидкости центрифугированием, промывались водой с последующим центрифугированием и употреблялись в опыт в виде 2% водных суспензий.

Особо следует остановиться на условиях, в которых производилось озвучивание суспензий. Поскольку повышение инвертазной активности у исследованных нами ранее клеток *Endomycetes magnusii* было связано с разрушением клетки и выходением клеточного содержимого в окружающий раствор, то мы стремились прежде всего добиться подобного эффекта у *Saccharomyces globosus*. Однако эти организмы оказались исключительно устойчивыми к воздействию ультразвуковых волн и совершенно не реагировали на данный агент при тех интенсивностях воздействия, которые приводили к гибели 90% клеток *Endomycetes magnusii* и к выходению 50—60% от веса клеток в раствор.

Следующие опыты проводились при несколько повышенной интенсивности ультразвука. Нами использовался фокусирующий источник ультразвука — вогнутая пьезокварцевая пластинка диаметром 5 см, с фокусным расстоянием 10 см. Подводимое переменное напряжение ~ 3000 в, частота 740 000 гц. После озвучивания 10 мл 2% суспензии дрожжей в указанных условиях в течение 30 мин. в окружающий раствор переходило только 6—8% от сухого веса исходной суспензии, дыхание практически не изменялось, а число клеток, окрашивающихся метиленовой синью, составляло 6—10%. Вместе с тем раствор приобретал легкую опалесценцию. Выбор условий озвучивания затруднялся еще и тем обстоятельством, что при таких высоких интенсивностях ультра-

звука инвертаза может разрушаться и поэтому нельзя добиться большей степени разрушения клеток за счет увеличения мощности.

В предварительных опытах было установлено, что наилучшее выделение фермента наблюдается при 30-минутном воздействии — свыше этого времени (40, 60 мин.) активность инвертазы не обнаруживалась, несмотря на увеличение опалесценции раствора. После озвучивания дрожжи отделялись от раствора центрифугированием, раствор сгущался в 10 раз при 28° и 5 мм остаточного давления и затем в сгущенном растворе определялась активность фермента хроматографическим методом (4).

Этот метод, благодаря своей высокой чувствительности, позволил провести качественную характеристику инвертазного действия. Вопрос о количественном содержании фермента в исследованных дрожжах должен составить предмет особого исследования. В настоящем исследовании представляло интерес выяснение самого факта появления инвертазы под влиянием ультразвука у названных дрожжей.

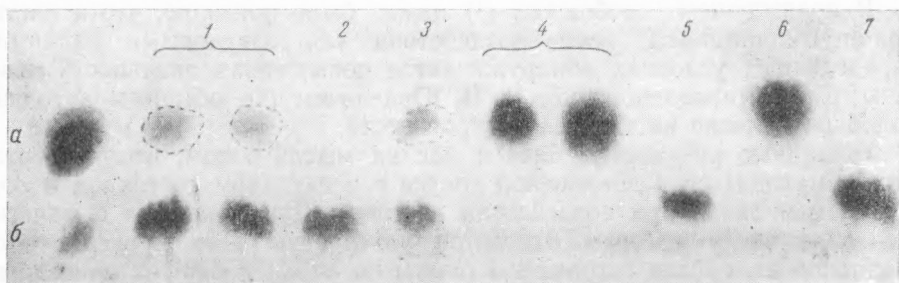


Рис. 1. Активность инвертазы в сгущенных растворах после озвучивания суспензий. а — фруктоза, б — сахароза. 1, 2, 3 — озвучивание 15 мин. 4, 5, 6 — озвучивание 30 мин., 7 — исходная суспензия дрожжей. Реакционная смесь: 1, 4 — 1 мл сгущенного раствора + 25 мг сахарозы + 0,2 мл ацетатного буфера pH 4,7 + 0,5 мл толуола 2, 5 — то же, но раствор подвергался предварительному кипячению в течение 5 мин. 3, 6 — то же, как в 1 и 4, но без толуола. 7 — 1 мл исходной 2% суспензии, остальное — как в 1 и 4. Продолжительность инкубации 16 час., температура 30°. Наносилось 3  $\mu$ л смеси

Нами был проведен ряд опытов, давших сходные результаты. Приводим здесь типичную хроматограмму.

Как видно из приведенной хроматограммы (рис. 1), в сгущенных растворах, полученных после воздействия ультразвуковых волн на суспензии *S. globosus* 349, обнаруживается активная инвертаза (1 мл испытуемого раствора расщепляет за 16 час. 25 мг сахарозы). Следует отметить, что количество фермента, выделяющегося из клеток при данных условиях опыта, очень невелико по сравнению даже с такими бедными инвертазой организмами, как *End. magnusii*, 1 мл сгущенного фильтрата которых разлагает такое количество сахарозы приблизительно за 60 мин.

Для того чтобы доказать, что разложение сахарозы обусловлено не микроорганизмами, а ферментом, выделяющимся под действием ультразвуковых волн из дрожжей, параллельно пробам, куда вносился толуол, ставились пробы без толуола. В таком случае, если в этом процессе участвуют бактерии, разложение сахарозы должно было бы усиливаться, что нами ни разу не наблюдалось. Отсутствие активности в кипяченном растворе также указывает на то, что в данном случае разложение сахарозы является процессом ферментативным. Ацетоновые препараты озвученных дрожжей, полученные по методу, описанному в сообщении (1), активностью не обладали.

Совокупность приведенных экспериментальных данных позволяет сделать вывод о том, что в клетках *S. globosus* содержится инвертаза,

активность которой проявляется после воздействия ультразвуковыми волнами, приводящего к частичному выделению клеточного содержимого в окружающий раствор.

Причины, обуславливающие отсутствие инвертазной активности в интактных клетках *S. globosus* 349, будут предметом дальнейшего исследования.

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

Поступило  
15 V 1954

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> А. И. Опарин, Н. С. Гельман, И. Е. Эльпинер, ДАН, **96**, № 3 (1954). <sup>2</sup> В. В. Юркевич, Диссертация, Инст. биохимии АН СССР, 1950.  
<sup>3</sup> К. В. Косиков, Генетика дрожжей и методы селекции дрожжевых культур, М., 1954. <sup>4</sup> А. И. Опарин, М. С. Бардинская, ДАН, **89**, № 3, 531 (1953).  
<sup>5</sup> В. В. Юркевич, ДАН, **97**, № 2 (1954).