Доклады Академии наук СССР
1955. Том 104, № 2

БИОХИМИЯ

Ю. М. СТАРКОВ

ВЛИЯНИЕ 2-МЕТИЛ-1,4-НАФТОХИНОНА НА ДЫХАНИЕ ДРОЖЖЕЙ

(Представлено академиком А. И. Опариным 24 V 1955)

Влиянию хинонов на некоторые ферментные системы посвящено значительное число исследований, в результате которых выяснилось, что вещества с хиноидной структурой могут довольно интенсивно блокировать карбоксилазу, уреазу, каталазу и другие ферменты ([1–3]). В работе ([4]) опубликованы данные по влиянию 2-метил-1,4-нафтохинона на дыхание дрожжей Saccharomyces cerevisiae. Выводы авторов находятся в противоречии с наблюдавшимися нами при изучении тех же процессов фактами. Ниже приводятся краткое описание применявшейся нами методики и результаты наблюдений.

Измерение интенсивности дыхания проводилось в респирометрах Варбурга на фосфатном буфере pH 5,3, концентрация глюкозы 1%, концентрация дрожжевых клеток 1%. 2-метил-1,4-нафтохинон вместе с глюкозой прибавлялся из боковой ампулки до конечной концентрации во всем объеме 0,5 и 1,0 мМ/л. Общий объем смеси в сосудиках 2 мл. Выделяющаяся углекислота поглощалась 10% раствором едкого кали. Для опыта применялись двухсуточные культуры дрожжей, выращенных на твердом сусло-агаре (пивное сусло 7° Бал.). В качестве подопытных культур были взяты дрожжи родов Saccharomyces ellipsoideus, S. carlsbergensis, S. apiculatus, Willia anomala Pichia. Продолжительность опыта — 2 часа, число качаний — около 140 в минуту. Средние результаты измерения объема поглощенного кислорода и квадратичные отклонения, вычисленные из 16 экспериментально полученных величин, представлены в табл. 1. Поскольку поведение различных дрожжей было качественно однотипным, для сокращения приведены данные только по двум типам: низовым винным Saccharomyces ellipsoideus расы Кахури-2 и пленчатым Willia anomala.

Таблица 1

Концентр. 2-метил-1,4-нафтохинона в мМ	Поглощение кислорода в µл за время (в мин.)								Сумма	В % к контролю
	15	30	45	60	75	90	105	120		
Saccharomyces ellipsoideus										
0,0	129	107	98	93	88	88	88	88	779±62	100
0,5	176	163	163	157	123	109	88	76	1055±79	135
1,0	167	145	108	85	66	53	43	31	698±71	90
Willia anomala										
0,0	192	181	169	140	133	128	124	115	1182±84	100
0,5	218	186	167	147	132	131	121	113	1215±87	103
1,0	172	154	139	131	99	96	62	57	910±81	77

Из данных табл. 1 видно, что аэробная фаза движения дрожжей в начале опыта в присутствии 2-метил-1,4-нафтохинона значительно активируется по сравнению с контролем. Это особенно заметно у дрожжей расы Кахури-2, располагающей мощной системой анаэробного дыхания. К концу опыта наблюдается ослабление поглощения кислорода обеими расами дрожжей, что может быть объяснено подавлением анаэробной фазы дыхания.

Определение влияния 2-метил-1,4-нафтохинона на анаэробную фазу дыхания проводилось также в респирометрах Варбурга, однако в этом случае концентрации дрожжей и глюкозы применялись в 4 раза бóльшие (4% дрожжей и 4% глюкозы). Концентрация 2-метил-1,4-нафтохинона составляла во всех опытах 1 мМ/л. Перед прибавлением 2-метил-1,4-нафтохинона из одной группы сосудиков («анаэробных») воздух удалялся путем 20-минутного пропускания свободной от кислорода углекислоты. Вторая группа («аэробная») этой операции не подвергалась и, следовательно, содержала кислород. Результаты определений интенсивности брожения дрожжей расы Кахури-2 сведены в табл. 2.

Таблица 2

	Объем выделившейся углекислоты в µл за время (мин.)												Сумма
	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120	
Контроль													
аэробный . . .	452	462	471	458	471	464	456	473	479	469	490	490	5635
анаэробн. . . .	471	471	475	497	501	507	501	513	509	505	521	526	5997
Опыт													
аэробный . . .	313	248	219	177	166	175	173	183	200	204	212	215	2505
анаэробн.	465	422	441	467	469	485	473	504	493	498	504	508	5729

Данные табл. 2 показывают, что 2-метил-1,4-нафтохинон подавляет анаэробную фазу дыхания только в присутствии кислорода. При полном отсутствии кислорода лишь в первые минуты наблюдается небольшое снижение интенсивности брожения, однако процесс быстро достигает интенсивности контроля и далее остается на высоком уровне до конца опыта. По мере образования углекислоты и, соответственно, вытеснения кислорода из газового пространства «аэробных» сосудиков количество выделяющейся углекислоты в единицу времени начинает возрастать, однако далеко не достигает контроля. Этот опыт с полной очевидностью показывает, что парциальное давление кислорода играет решающую роль в эффективности подавления анаэробной фазы дыхания дрожжевой клетки 2-метил-1,4-нафтохиноном.

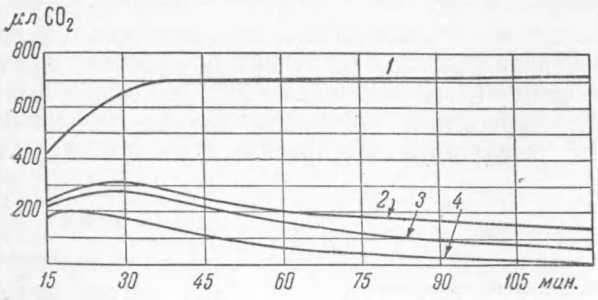


Рис. 1. Интенсивность брожения дрожжей после длительного воздействия 2-метил-1,4-нафтохинона. *1*—контроль, *2* — 2-часовое воздействие, *3* — 4-часовое, *4* —20-часовое

Картина резко меняется, если дрожжи предварительно обработать растворами 2-метил-1,4-нафтохинона. Мы проводили воздействие 2-метил-1,4-нафтохиноном на покоящиеся дрожжевые клетки в буферном растворе на протяжении от 4 до 20 час. Через определенные промежутки времени

отбирались пробы дрожжей и определялась интенсивность их брожения по методике, описанной выше. Результаты наблюдений изображены графически на рис. 1. По мере удлинения времени воздействия 2-метил-1,4-нафтохинона на дрожжевые клетки их бродильная активность снижается все сильнее. Так, после 20-часового воздействия к концу опыта интенсивность процесса брожения обработанных 2-метил-1,4-нафтохиноном клеток падает до 1% от контроля.

Опыты, проведенные с бесклеточным дрожжевым соком, показывают, что не только живые дрожжи, и ферменты брожения подавляются 2-метил-1,4-нафтохиноном в присутствии кислорода значительно сильнее, чем в условиях анаэробиоза. На рис. 2 изображены кривые, характеризующие процесс брожения дрожжевого сока в аэробных и анаэробных условиях. Поскольку гексозофосфорные эфиры в среду для брожения не добавлялись, имеет место некоторый индукционный период. Легко заметить, что величина индукционного периода находится в определенной зависимости от наличия окислителя в среде. В условиях полного анаэробиоза максимум энергии брожения наблюдается значительно позже, чем в присутствии 2-метил-1,4-нафтохинона или кислорода воздуха. Совместное присутствие кислорода и 2-метил-1,4-нафтохинона еще более сокращает продолжительность индукционного периода. На основании полученных данных можно полагать, что величина индукционного периода связана не только со скоростью фосфорилирования сахаров, как это считают многие авторы ([5]), но и с наличием акцепторов водорода с восстановленной кодегидразой 1. Действительно, если в среде не будет достаточного количества ацетальдегида, то в качестве конечных акцепторов водорода должны выступать другие вещества (пировиноградная кислота, фосфоглицериновый альдегид), вследствие чего процесс брожения затрудняется. Наличие окислителей типа хинонов, или даже кислорода воздуха, обеспечивает окисление восстановленного дифосфопиридиннуклеотида (возможно, при участии флавинового фермента) и интенсивность процесса брожения быстро достигает максимума. Такое построение в некоторой мере объясняет, почему разбавление раствора приводит к увеличению индукционного периода: при этом уменьшается концентрация акцепторов водорода в среде и достижение необходимого окислительного потенциала требует большего времени.

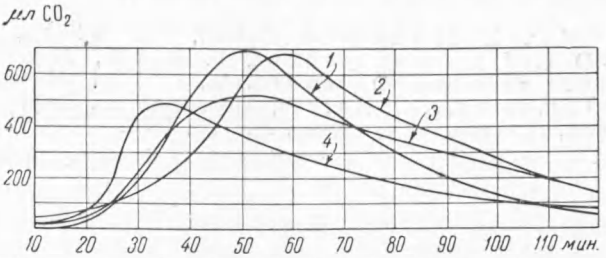


Рис. 2. Брожение дрожжевого сока в присутствии 2-метил-1,4-нафтохинона. *1* — аэробный контроль, *2* — анаэробный контроль, *3* — в присутствии 2-метил-1,4-нафтохинона и кислорода, *4* — то же в условиях анаэробиоза

На основании приведенных выше данных можно заключить, что реакция между сульфгидрильными группами ферментов и хинонами если и имеет место, то не является причиной их антибактериального действия. Как известно, ферменты аэробного дыхания маликодегидраза и сукцинидегидраза содержат активные сульфгидрильные группы, тем не менее аэробная фаза дыхания дрожжей не подавляется, а напротив, активируется. Наблюдаемое снижение скорости поглощения кислорода в конце 2-часового опыта можно объяснить исчерпанием субстрата, подготовляемого анаэробной фазой дыхания, которая в условиях аэрации интенсивно подавляется присутствующим хиноном.

Необходимо отметить, что явления активации аэробного дыхания клеток многими окислителями неоднократно наблюдались и ранее. 2-Метил-1,4-нафтохинон в этом отношении не является исключением, так

как обладает высоким окислительным потенциалом. Что касается анаэробной фазы дыхания (брожения), то последняя сильно подавляется только в присутствии кислорода. В условиях полного анаэробиоза 2-метил-1,4-нафтохинон практически не оказывает влияния на энергию брожения. Это в равной мере относится как к живым дрожжам, так и к бесклеточному дрожжевому соку.

Поступило
11 XII 1954

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

[1] O. Hoffmann-Ostenhof, E. Biach, Experientia, **2**, 405 (1946).
[2] O. Hoffmann-Ostenhof, E. Biach, Monatsh. f. Chem., **76**, 319 (1947).
[3] O. Hoffmann-Ostenhof, W. H. Lee, Monatsh. f. Chem., **77**, 180 (1947).
[4] C. F. Hinz, J. O. Harris, Arch. Biochem. Biophys., 48, 261 (1954). [5] А. Гарден, Алкогольное брожение, М.— Л., 1933.