

Л. Д. ГАПОЧКА, Т. И. ДАНИЛОВА

## ОБ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТА ФРУКТОЗО-1, 6-ДИФОСФАТ АЛЬДОЛАЗЫ У НЕКОТОРЫХ СИНЕЗЕЛЕННЫХ ВОДОРОСЛЕЙ

(Представлено академиком А. Н. Белозерским 19 V 1972)

Основные метаболические процессы у водорослей сходны с таковыми у высших растений. Все известные отклонения от общего плана функциональной организации могут быть связаны с эволюционным положением того или иного организма в системе растительного мира. Так, показано отсутствие у различных представителей водорослей тех или иных ферментов, катализирующих процессы метаболизма. У бурых и красных водорослей, например, не найдены некоторые ферменты углеводного обмена<sup>(7)</sup>. Отсутствие  $\alpha$ -оксиглутаровой дегидрогеназы и сукцинил-CoA синтетазы — ферментов цикла Кребса — показано для некоторых Cyanophyta<sup>(3)</sup>.

Противоречивые мнения высказываются в литературе по поводу фруктозо-1,6-дифосфат альдолазы у синезеленых водорослей. Рихтер<sup>(4)</sup> не нашел этот фермент у *Anacystis nidulans*. Это позволило ему заключить, что у исследованной водоросли возможен единственный путь расщепления гексоз — пентозофосфатный цикл, чем может быть объяснен очень низкий уровень дыхания этой культуры в темноте.

Однако Ван Баален<sup>(6)</sup> и Виллард с сотрудниками<sup>(8)</sup> обнаружили у *Anacystis nidulans* фруктозо-1,6-дифосфат альдолазу в столь значительном количестве, что нельзя предположить ее участие лишь в темновых реакциях фотосинтеза. Поэтому Ван Баален осторожно заметил, что для этой водоросли еще не может быть сделано заключение относительно преимуществ какого-либо одного пути распада сахаров перед другими.

Отсутствие некоторых ферментов у водорослей, несомненно, может быть объяснено многими причинами. Одной из них может оказаться их действительное отсутствие у исследованного объекта либо вообще, либо в момент изучения (например, появляется только на определенной стадии роста культуры). Однако даже присутствующий фермент может быть просто не обнаружен по ряду чисто технических причин (например, при гомогенизации и экстракции белковых веществ у некоторых сильно ослеженных клеток водорослей).

Настоящая работа посвящена сравнительному изучению изменения активности фруктозо-1,6-дифосфатальдолазы у синезеленых водорослей *Synechocystis aquatilis* и *Anacystis nidulans*. Кроме того, в качестве тест-объекта, заведомо содержащего этот фермент в значительном количестве<sup>(4)</sup>, была использована зеленая водоросль *Chlorella vulgaris*, что позволило соотнести активности альдолазы изученных водорослей.

Объекты и методы. Культуры синезеленых водорослей *A. nidulans* и *S. aquatilis* выращивали на модифицированной среде Кратца — Майерса<sup>(2)</sup> при круглосуточном освещении лампами ЛДЦ-30 и температуре 36—38°. Водоросли *Chlorella vulgaris* культивировали на среде Тамия<sup>(1)</sup> при температуре 30°. Техника получения бесклеточных препаратов состояла в следующем: культуру водорослей отмывали дважды фосфатным буфером pH 7,4. Затем брали навеску в 1 г, соединяли с 5 мл фосфатного буфера pH 7,4, смешивали с 1 г окиси алюминия и гомогенизировали. Для определения фруктозо-1,6-дифосфат альдолазы использова-

ли модифицированный метод, описанный Сиблей и другими<sup>(5)</sup>. Активность альдозазы выражали в условных единицах, представляющих собой показание ФЭК  $\times 100$ . Содержание белка в клеточных экстрактах определяли по методу Лоури.

Исследование активности фермента и содержания белка *S. aquatilis* проводили в логарифмической (3 и 7 сутки) и стационарной (14 и 21 сутки) фазах роста культуры.

Результаты и обсуждение. На рис. 1 представлены данные об изменении активности фруктозо-1,6-дифосфат альдозазы и количества

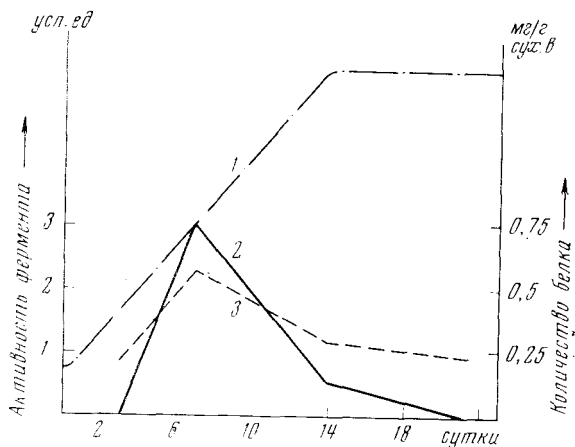


Рис. 1. Изменение активности фруктозо-1,6-дифосфат альдозазы и содержания белка в бесклеточных препаратах *S. aquatilis* в динамике развития. 1 — кривая роста, 2 — изменение активности фермента, 3 — содержание белка

белков в бесклеточных препаратах синезеленой водоросли в динамике ее развития. Из рисунка видно, что активность исследуемого фермента зависит от возраста водорослей. Максимум активности альдозазы падает на середину логарифмической фазы, на время наиболее интенсивного размножения водорослей. Именно в это время наблюдается и максимум содержания белка в бесклеточных препаратах.

На этом же рисунке легко прослеживается корреляция кривых изменения активности фермента и содержания белка: с увеличением содержания белка активность альдозазы возрастает.

Результаты сравнительного анализа активности фруктозо-1,6-дифосфат альдозазы и содержания белка в логарифмической фазе роста у синезеленых водорослей *S. aquatilis* и *A. nidulans*, и зеленой водоросли — *Ch. vulgaris* показывают следующее. Наибольшей активностью альдозазы (24 единицы) обладает *Ch. vulgaris*, у синезеленой водоросли *S. aquatilis* она равнялась лишь 3 ед., а у *A. nidulans* — нулю. Изменение содержания белка в клетках исследуемых водорослей происходит в таком же порядке, как и активность альдозазы (у *Ch. vulgaris* 1,29, у *S. aquatilis* 0,57, у *A. nidulans* 0,34 мг на 1 г сухого веса). Следует отметить резкое различие в содержании белка и активности альдозазы хлореллы и синезеленых водорослей.

У всех трех изученных водорослей прослеживается корреляция количества белка с активностью альдозазы.

Сравнивая наши и немногочисленные литературные данные по этому вопросу можно отметить, что активность фруктозо-1,6-дифосфат альдозазы обладает видовой специфичностью. Сходные результаты были получены для красных и бурых водорослей<sup>(7)</sup>.

Полученные данные об отсутствии альдозазной активности у изученной нами культуры на первый взгляд не согласуются с результатами Ван Баалена и Вилларда с сотрудниками, которые обнаружили значительную активность альдозазы в гомогенатах водоросли *A. nidulans*. Однако для получения высокой активности в гомогенаты водоросли добавляли ионы

$\text{Fe}^{3+}$  и цистеин. В противном случае активность альдолазы была крайне низкой.

Мы также имели возможность наблюдать в наших опытах почти полное отсутствие активности альдолазы, но применение условной оценки альдолазной активности не позволило нам оценить ее выше нулевой.

При активации альдолазы в гомогенатах *S. aquatilis* ионами железа (20 мол. на 2 мл реакционной смеси) мы получили эффект, сходный с тем, что наблюдал Ван Баален.

Активность альдолазы у *A. nidulans* увеличивалась в 10 раз, а у *S. aquatilis* в 6 раз по отношению к контролю (без добавления ионов железа).

Эти данные говорят о том, что фруктозо-1,6-дифосфат альдолаза содержится в клетках синезеленых водорослей *A. nidulans* и *S. aquatilis* в достаточно большом количестве. Однако активация этого фермента в гомогенатах водорослей возможна при добавлении активирующих соединений.

Московский государственный университет  
им. М. В. Ломоносова

Поступило  
28 IV 1972

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> М. Г. Владимирова, В. Е. Семененко, Интенсивная культура одноклеточных водорослей, Изд. АН СССР, 1962. <sup>2</sup> W. A. Kratz, J. H. Myers, *Am. J. Bot.*, **42**, 3 (1955). <sup>3</sup> J. Pears, N. J. Carr, *J. Gen. Microbiol.*, **54**, № 3, 451 (1966). <sup>4</sup> G. Richter, *Naturwiss.*, **46**, № 21, 604 (1959). <sup>5</sup> J. Sibley, A. Lehninger, *J. Biol. Chem.*, **177**, № 2, 859 (1949). <sup>6</sup> C. Van Baalen, *Nature*, **206**, № 4980, 193 (1965). <sup>7</sup> H. Ziegler, J. Ziegler, *Planta*, **72**, № 2, 162 (1967). <sup>8</sup> J. Willard, M. Schulman, M. Gibbs, *Nature*, **206**, № 4980, 195 (1965).