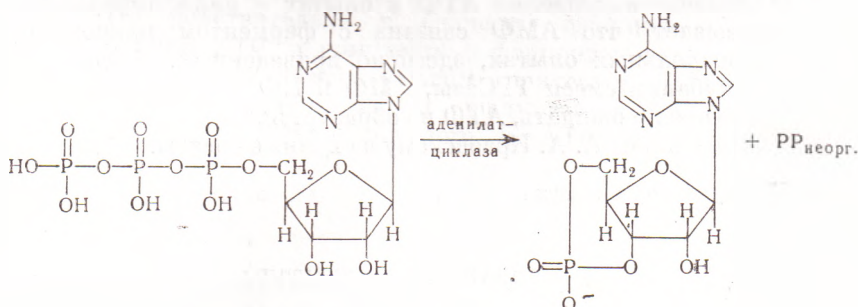


Е. П. ФЕДЕНКО, Н. Г. РУСИНОВА, Н. Г. ДОМАН

АДЕНИЛАТЦИКЛАЗА ФОТОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ RHODOPSEUDOMONAS PALUSTRIS

(Представлено академиком А. И. Опариным 29 VIII 1973)

Недавно открытй аденозинмонофосфат (ц-3',5'-АМР) — физиологически активное соединение, играющее исключительно важную регуляторную роль ⁽¹⁾. Обнаружено, что в организмах животных ⁽²⁾ и высших растений ⁽³⁾ ц-3',5'-АМР выполняет функцию посредника при действии различных гормонов на клетку-мишень. В бактериальной клетке это соединение развязывает синтез индуцибельных ферментов, снимая эффект катаболитной репрессии глюкозой ⁽⁴⁾. При этом действие ц-3',5'-АМР на синтез отдельных ферментов может осуществляться на уровне транскрипции ^(5, 6) или на уровне трансляции ДНК ^(6, 7). Столь разнообразный характер регуляторного действия ц-3',5'-АМР, несомненно, отражает закономерности, связанные с процессом эволюции. В образовании ц-3',5'-АМР и регуляции его уровня в клетке участвует еще мало исследованный фермент — аденилатциклаза (АТР: АМР фосфотрансфераза ЕС 2.7.4.3), катализирующий реакцию по следующему уравнению



В настоящее время этот фермент обнаружен лишь у немногих представителей животных ^(8, 9) и растительных организмов ⁽¹⁷⁾, а также у некоторых гетеротрофных бактерий ⁽¹¹⁻¹³⁾. Что касается фототрофных бактерий, то они на присутствие аденилатциклазной системы не исследовались. Между тем, такие исследования представляли бы большой интерес со многих точек зрения, особенно, если учитывать возможность участия системы ц-3',5'-АМР в регуляции процесса фотосинтеза, управление которым имеет важнейшее теоретическое и практическое значение.

Исходя из этого, в данной работе мы исследовали наличие и некоторые свойства аденилатциклазы у несерных пурпурных бактерий *Rhodospseudomonas palustris*. Культивировали *Rh. palustris* (штамм Накамура), как описано ранее ⁽¹⁴⁾. Клетки разрушали ультразвуком. Для работы использовали надосадочную жидкость после центрифугирования гомогената клеток при 15 000 *g*. Активность фермента определяли радиометрическим методом ⁽⁹⁾. Белок определяли по Лоури ⁽¹⁵⁾. Ц-3',5'-АМР хроматографировали в системе этанол : 1*M* ацетат аммония ⁽¹⁶⁾.

Проведенные исследования показали, что в экстрактах несерных пурпурных бактерий *Rh. palustris* присутствует активная аденилатциклаза.

В пределах 25 мин. количество образующегося продукта прямо пропорционально времени инкубации. Для фермента из клеток головного мозга крыс также показана линейность образования ц-3',5'-АМР во времени в пределах 20 мин. ⁽⁹⁾. Активность фермента из клеток *Rh. palustris* определенным образом зависит от концентрации белка в реакционной смеси. При инкубации в течение 20 мин. наибольшая активность фермента наблюдается при концентрации белка 2,3 мг/мл (рис. 1). По данным Кришны с сотрудниками ⁽²⁾, зависимость активности аденилатциклазы от концентрации белка в гомогенатах мозга крыс сохраняла прямую пропорциональность до 1,8 мг/мл. С большими концентрациями белка эти авторы не работали. При концентрации белка 2,3 мг/мл и концентрации АТР $1 \cdot 10^{-4}$ М удельная активность фермента из клеток *Rh. palustris* составляет 0,5 нмоля на 1 мг белка в 1 мин. Это заметно выше, чем удельная активность надосадочной жидкости (15 000 г) клеточного лизата гриба *Neurospora crassa*, составляющая 0,13 нмоля на 1 мг белка в 1 мин. при концентрации АТР $2,5 \cdot 10^{-3}$ М ⁽¹⁷⁾.

При оптимальной концентрации белка в наших опытах скорость образования ц-3',5'-АМР была прямо пропорциональна концентрации АТР в пределах от $0,006 \cdot 10^{-3}$ М до $0,06 \cdot 10^{-3}$ М. Кажущаяся константа Михаэлиса по АТР для этих условий равна $0,09 \cdot 10^{-3}$ М. Для фермента из саркоплазматических мембран сердца $K=0,13 \cdot 10^{-3}$ М ⁽¹⁰⁾.

Полученные результаты свидетельствуют о наличии у несерных пурпурных бактерий *Rh. palustris* активной аденилатциклазы и, следовательно, всей системы ц-3',5'-АМР. Однако характер регулярного действия этой системы у фототрофных бактерий пока еще не исследовался. Непосредственная связь системы ц-3',5'-АМР с энергетическим зарядом клетки через АТР делает изучение этой системы у фототрофных организмов особенно интересным, поскольку энергетический обмен у них по сравнению с органо-трофами отличается как большей степенью обособленности, так и более резкими изменениями. Это дает основание предполагать возможность участия системы ц-3',5'-АМР в регуляции фотосинтетического процесса не только на уровне углеродного обмена вещества, но и на уровне энергетического обмена. Последующее выяснение этих вопросов представляло бы большой интерес.

За помощь в организации работы приносим глубокую благодарность проф. Кондратьевой, В. И. Самойлову и М. А. Панову.

Институт биохимии им. А. Н. Баха
Академии наук СССР
Москва

Поступило
23 VIII 1973

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ T. W. Rall, E. W. Sutherland, *J. Biol. Chem.*, **232**, 1065 (1958). ² R. W. Butcher jr., E. W. Sutherland, *Pharmacologist*, **1**, 63 (1959). ³ H. N. Wood, A. C. Braun, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, **70**, 447 (1973). ⁴ R. Perlman, I. Pastan, *J. Biol. Chem.*, **243**, 5420 (1968). ⁵ H. E. Varmus, R. L. Perlman, I. Pastan, *J. Biol. Chem.*, **245**, 2259 (1970). ⁶ I. Pastan, R. Perlman, *Science*, **169**, 339 (1970). ⁷ I. Pastan, L. Perlman, *J. Biol. Chem.*, **244**, 2226 (1969). ⁸ E. W. Sutherland, T. W. Rall, T. Menon, *J. Biol. Chem.*, **237**, 1220 (1962). ⁹ G. Krishna, B. Weiss, B. B. Brodie, *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, **163**, 379 (1968). ¹⁰ P. V. S. Lakhe, N. S. Dhalla, *Biochim. et biophys. acta*, **E**, 293, 379, 197 (1973). ¹¹ M. Tao, E. Lipmann, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, **63**, 86 (1969). ¹² M. Ido, A. Joshimoto, T. Okabayashi, *J. Bacteriol.*, **94**, 317 (1967). ¹³ M. Hirata, O. Hayaishi, *Biochim. et biophys. acta*, **149**, 1 (1967). ¹⁴ Е. П. Феденко, Е. Н. Кондратьева, А. А. Красновский, *Научн. докл. высшей школы, Биологические науки*, **8**, 102 (1969). ¹⁵ O. H. Lowry, N. F. Rosenbrough et al., *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1951). ¹⁶ D. S. Barkley, *Science*, **165**, 3898, 1133 (1969). ¹⁷ M. M. Flawia, H. N. Torres, *Biochim. et biophys. acta*, **E**, 289, 428 (1972).

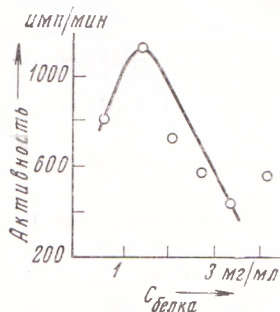


Рис. 1. Зависимость активности аденилатциклазы от концентрации белка