

И. С. КУЛАЕВ, В. М. ВАГАБОВ, А. Б. ЦИОМЕНКО

О КОРРЕЛЯЦИИ НАКОПЛЕНИЯ ПОЛИСАХАРИДОВ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ И НЕКОТОРЫХ ФРАКЦИЙ ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ПОЛИФОСФАТОВ У ДРОЖЖЕЙ

(Представлено академиком А. Н. Белозерским 16 VII 1971)

В последнее время стало очевидным, что наиболее объективной оценки функциональной роли полифосфатов можно достичь лишь при изучении поведения каждой отдельной фракции этих соединений ⁽¹⁾. Таким образом было показано, что накопление солерастворимых полифосфатов находится в прямой зависимости от синтеза РНК ⁽²⁾, в то время как для кислоторастворимых полифосфатов наблюдалась обратная зависимость ⁽³⁾.

Вероятно, различные полифосфатные фракции играют вполне самостоятельную роль в обмене веществ и связаны со строго определенными звеньями клеточного метаболизма.

В этой связи кажутся весьма интересными исследования, в которых с помощью цитохимических методов было найдено согласованное накопление клеточных включений, содержащих полисахариды и полифосфаты ^(4, 5). Однако примененные в этих работах методы не позволяют получить достаточно полную информацию, отражающую взаимоотношения всех фракций полифосфатов и полисахаридов. Поэтому нам казалось весьма важным провести биохимическое исследование, основной задачей которого явилось бы

Таблица 1

Коэффициенты корреляции (r) между различными фракциями полифосфатов и полисахаридов

Полисахариды	Полифосфаты	r
Σ полисахаридов	Σ полифосфатов	0,806 ± 0,068
Гликоген	ПФ ₁	0,077 ± 0,02
Гликоген	ПФ ₂	0,141 ± 0,008
Гликоген	Σ ПФ ₂ , ПФ ₃ , ПФ ₄ , ПФ ₅	0,173 ± 0,018
Глюкан + маннан	То же	0,750 ± 0,087
Глюкан	ПФ ₂	0,291 ± 0,180
Глюкан	ПФ ₃	0,615 ± 0,122
Маннан	ПФ ₂	0,136 ± 0,192
Маннан	ПФ ₃	0,035 ± 0,196
Маннан	ПФ ₄	0,813 ± 0,098

выявление коррелятивных отношений между обменом полифосфатов и полисахаридов. С этой целью изучено поведение различных фракций полифосфатов и полисахаридов в процессе онтогенетического развития дрожжей при различных условиях культивирования.

В качестве объекта исследования была использована культура дрожжей *Saccharomyces carlsbergensis*. Выращивание шло при 28° в 0,8 л колбах, содержащих по 200 мл среды Ридер. В зависимости от цели эксперимента использовали полную среду или ту же среду, но дефицитную по азоту.

Материал, собранный на различных стадиях роста, промывали дважды средой без фосфора и глюкозы при 0° и фиксировали жидким азотом. Выделение полисахаридных фракций и их количественное определение проводили по методу Тревелияна и Гаррисона ⁽⁶⁾. Неорганические полифосфаты экстрагировали по методу Лангена и Лисса ⁽⁷⁾ в модификации Кулаева и сотрудников ⁽⁸⁾. Все операции проходили при 0—2°. При этом было получено пять фракций полифосфатов: ПФ₁ — кислоторастворимая, экстрагируемая 0,5 N HClO₄; ПФ₂ — солерастворимая, экстрагируемая насыщен-

ным раствором NaClO_4 ; ПФ_3 — экстрагируемая раствором NaOH при pH 9—10; ПФ_4 — экстрагируемая раствором NaOH при pH 12; ПФ_5 — определяемая по количеству ортофосфата, высвобождаемого в результате гидролиза остатка материала в $1N \text{ HClO}_4$ в течение 10 мин. при 100° , после извлечения всех предыдущих фракций. Количество лабильного фосфора во всех фракциях определяли после 10 мин. кислотного гидролиза по количеству ортофосфата ⁽⁹⁾. Содержание соединений выражали в миллиграммах вещества (глюкозы или фосфора) на 1000 мл среды. Скорости накопления веществ и коэффициенты корреляции (r) рассчитывали по Бейли ⁽¹⁰⁾ с использованием малой ЭВМ «Проминь-2». Для более достоверной оценки характера отношений между обменом фракций полисахаридов и полифосфатов материал для анализа отбирался в точках, отличающихся по скорости накопления интересующих нас соединений. Коэффициенты r , полученные на основании расчета результатов 36 экспериментов, представлены в табл. 1.

Как видно из этих данных, значение r , рассчитанное для суммы полисахаридов и суммы полифосфатов, довольно высоко ($r = 0,806$), что могло бы указывать на возможность существования тесной взаимосвязи между их обменом. Однако расчет величин r для индивидуальных фракций показал, прежде всего, отсутствие сколько-нибудь существенной взаимосвязи между накоплением гликогена и полифосфатов. В то же время такой расчет позволил заключить, что высокое значение r между суммой полисахаридов и полифосфатов объясняется главным образом высокой корреляцией между скоростями накопления полисахаридов клеточной стенки и кислотонерастворимых полифосфатов и в особенности между маннаном и фракцией полифосфатов ПФ_4 ($r = 0,813$). Столь высокая корреляция в последнем случае обусловлена достаточно четким параллелизмом в поведении этих двух фракций (рис. 1). Очевидно, этот факт может являться серьезным свидетельством наличия специфической взаимосвязи между процессами их биосинтеза. В пользу этого соображения можно привести

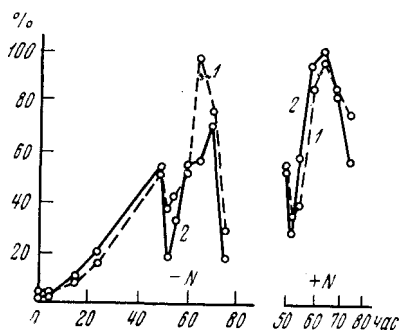


Рис. 1. Изменение содержания маннана (1) и фракции полифосфатов ПФ_4 (2) при различных условиях культивирования

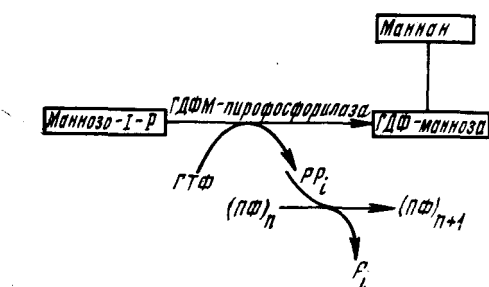


Рис. 2. Возможный механизм сопряжения биосинтеза маннана и фракции полифосфатов ПФ_4

ранее полученные результаты ⁽¹¹⁾, которые свидетельствуют о том, что у микроорганизмов, в частности у дрожжей, полифосфаты фракции ПФ_4 локализованы на периферии клетки, в непосредственной близости, а возможно — и на самой цитоплазматической мембране, т. е. там, где, по всей вероятности, осуществляется синтез полисахаридов клеточной стенки.

Таким образом, совокупность полученных результатов и имеющих в литературе сведений позволяет, на наш взгляд, предположить существование сопряженного синтеза маннана и высокомолекулярной фракции полифосфатов ПФ_4 . Схематически этот процесс можно представить так, как показано на рис. 2.

В отличие от существующего представления о расщеплении пирофосфата, образующегося при синтезе нуклеозиддифосфатсахаров, на две молеку-

лы ортофосфата неорганической пирофосфатазой ⁽¹²⁾, предложенная схема предполагает перенос одного из остатков фосфорной кислоты молекулы пирофосфата на полифосфат. Это предотвращает возможную потерю энергии фосфоангидридной связи пирофосфата и в то же время, в результате его выведения из сферы реакции путем включения в полифосфат, обеспечивается необходимый сдвиг процесса в сторону образования ГДФ-маннозы.

Кроме того, постулируемый механизм сопряжения двух биосинтетических процессов исключает возможность накопления больших количеств свободных низкополимерных (например, ортофосфат и пирофосфат) форм фосфатов путем их перевода в форму высокополимерных полифосфатов.

В заключение считаем приятным долгом выразить благодарность Л. И. Уткиной за оказанную помощь в математической обработке экспериментальных данных.

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов
Академии наук СССР
Пушино-на-Оке

Поступило
16 VII 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ И. С. Кулаев, Т. П. Афанасьева, ДАН, 192, № 3, 668 (1970). ² М. С. Крицкий, Е. К. Чернышева, И. С. Кулаев, ДАН, 192, № 5, 1166 (1970).
³ В. И. Мельгунов, И. С. Кулаев, Биологические науки, 87, 3, 87 (1971).
⁴ W. I. Nikerson, Experientia (Basel), 5, 202 (1949). ⁵ H. Voelz, U. Voelz, R. Ortigoza, Arch. Microbiol., 53, 4, 371 (1966). ⁶ W. E. Trevelyan, I. S. Harrison, Biochem. J., 50, 298 (1952). ⁷ P. Langen, E. Liss, Biochem. Zs., 330, 455 (1958). ⁸ И. С. Кулаев, А. Н. Белозерский, Д. И. Островский, Биохимия, 26, в. 1, 188 (1961). ⁹ H. Weil-Malherbe, R. H. Green, Biochem. J., 49, 1, 286 (1954). ¹⁰ Н. Бейли, Статистические методы в биологии, М., 1964. ¹¹ И. С. Кулаев, Т. П. Афанасьева, М. П. Беликова, Биохимия, 32, в. 3, 539 (1967).
¹² O. Hoffman-Ostenhof, L. Slechta, Proc. Intern. Symp. Enzyme Chem., Tokyo, 1957.