

УДК 582.282.23

МИКРОБИОЛОГИЯ

Ю. Н. КАРСЕВИЧ

ПАРАОКСИБЕНЗОЙНАЯ КИСЛОТА КАК ИСТОЧНИК УГЛЕРОДА И ЭНЕРГИИ ДЛЯ ДРОЖЖЕЙ *CANDIDA TROPICALIS*

(Представлено академиком А. А. Имшенецким 19 II 1975)

В работах (², ³, ⁵) указывается, что дрожжи *Candida tropicalis* утилизируют некоторые фенолы в качестве единственного источника углерода и энергии, но не способны к утилизации *p*-оксисбензойной кислоты (ПОВК).

Методом экспериментальной адаптации нами получены культуры *C. tropicalis*, способные размножаться в среде Ридер, содержащей 0,2% ПОВК. В данном сообщении предлагается возможный путь подготовительного метаболизма ПОВК на основании исследования активности некоторых ферментов, обнаруженных у *C. tropicalis*.

Исследование проводили со штаммом СД 5, полученным от А. П. Крюковой в 1954 г. Параллельно определяли активность ферментов подготовительного метаболизма ПОВК у штамма дрожжей *Rhodotorula rubra*, полученного из отдела физиологической цитологии Института микробиологии АН СССР. Подготовительный метаболизм ПОВК у некоторых дрожжей р. *Rhodotorula* подробно исследован (²). Для получения экстрактов, дрожжи выращивали в среде Ридер, содержащей 0,2% ПОВК. Методы культивирования и получения экстракта описаны ранее (⁴).

Таблица 1

Удельная активность * ферментов подготовительного метаболизма ПОВК у *C. tropicalis* СД 5 и *Rh. rubra*

Фермент	Субстрат	Кофакторы	<i>C. tropicalis</i>	<i>Rh. rubra</i>
Гидроксилаза ПОВК (I)	ПОВК	НАДФ-Н НАД-Н	362 198	80 Не изме- ряли
3,4-Оксигеназа протокатеховой кислоты	Протокатеховая кислота	—	<1	309,7—399,5
1,2-Оксигеназа пирокатехина (III)	Пирокатехин	—	13,2—19,2	<1
Гидроксилаза фенолов	Фенол	НАДФ-Н	150	<1
	Пирокатехин	НАДФ-Н	92,7	<1
	Резорцин	НАДФ-Н	168	<1
	Гидрохинон	НАДФ-Н	193	<1
Фермент, окисляющий НАД(Ф)-Н в присутствии протокатеховой кислоты (II)	Протокатеховая кислота	НАДФ-Н	195—215	<1
		НАД-Н	157	<1

* В наномолях субстрата, превращенного в 1 мин. на 1 мг белка экстракта. Величины молярной экстинкции субстратов или продуктов реакции взяты из работы (²).

Экстракт центрифугировали при 100 000 *g* 60 мин. К надосадочной жидкости добавляли 0,2 объема 4% раствора протаминсульфата и после выпадения осадка повторно центрифугировали. Экстракт диализовали в течение 18–20 час. против 0,05 *M* калий-фосфатного буфера, pH 7,0, содержащего 1–2 капли β-меркаптоэтанола на 1 л.

Активность гидроксилазы ПОВК, 3,4-оксигеназы протокатеховой кислоты и 1,2-оксигеназы пирокатехина определяли по Кэйн и др. ⁽²⁾, гидроксилазы фенолов по Нейяр и др. ^(4, 5). Удельная активность исследованных ферментов выражена в наномолях превращенного субстрата в 1 мин. на 1 мг белка экстракта.

В экстракте *C. tropicalis*, росших в присутствии ПОВК, содержится гидроксилаза ПОВК, 1,2-оксигеназа пирокатехина, гидроксилаза фенолов (табл. 1). В настоящее время неизвестно, катализирует ли у *C. tropicalis* окисление фенолов одна гидроксилаза, или имеется несколько сходных ферментов. Для данного сообщения это обстоятельство не имеет значения. 3,4-Оксигеназа протокатеховой кислоты у *C. tropicalis* не обнаружена. Если *C. tropicalis* выращивать в среде, содержащей D-ксилозу в качестве единственного источника углерода и энергии, активности перечисленных выше ферментов в экстрактах не наблюдается.

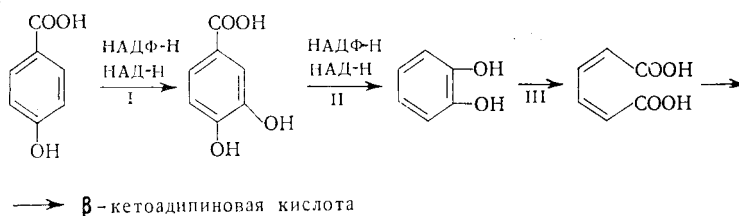
В экстрактах *Rh. rubra*, выращенных в присутствии ПОВК, обнаружена активная гидроксилаза ПОВК и 3,4-оксигеназа протокатеховой кислоты (табл. 1). Следовательно, у *C. tropicalis* последний фермент либо отсутствует, либо активность его ничтожна.

При исследовании других возможных реакций дальнейшего метаболизма протокатеховой кислоты обнаружили, что только в присутствии НАДФ-Н или НАД-Н это соединение быстро исчезает при добавлении экстракта *C. tropicalis* (табл. 1). У *Rh. rubra* такая реакция отсутствует.

Возникает вопрос, какое соединение образуется в этой реакции.

Кэйн с соавторами указывают, что у дрожжей *p. Debaryomyces* промежуточным соединением метаболизма ПОВК является пирокатехин, однако им не удалось обнаружить фермент, декарбоксилирующий протокатеховую кислоту с образованием пирокатехина ⁽²⁾.

В связи с этим обращает на себя внимание высокая активность гидроксилазы фенолов и 1,2-оксигеназы пирокатехина в экстрактах клеток *C. tropicalis* после роста в среде с ПОВК. Субстратами последнего фермента являются и пирокатехин и оксигидрохинон ⁽⁶⁾. Оба эти соединения могут быть продуктами декарбоксилирования протокатеховой кислоты. Учитывая, однако, данные Кэйна с соавторами следует думать, что при описанной в данном сообщении реакции превращения протокатеховой кислоты в присутствии НАДФ-Н или НАД-Н имеет место декарбоксилирование с образованием пирокатехина. Все вышеизложенное позволяет предложить следующий путь метаболизма ПОВК у *C. tropicalis*:



Хотя эта схема в определенной степени гипотетична, можно считать установленным, что у *C. tropicalis* после адаптации к ПОВК метаболизм этого соединения протекает не по классической схеме орто-пути через β-карбоксип-цис, цис-муконовую кислоту, а идет через другие промежуточные

соединения, скорее всего через пирокатехин, как это было показано для *Debaryomyces* ⁽²⁾. Менее вероятно, но не исключено, что промежуточным соединением метаболизма ПОБК является не пирокатехин, а оксигидрохинон.

Институт микробиологии
Академии медицинских наук СССР
Москва

Поступило
19 II 1975

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ Ю. Н. Карасевич, В. С. Ивойлов, Микробиология, т. 41, № 4, 584 (1972). ² R. B. Cain, R. F. Bilton, J. A. Darrah, Biochem. J., v. 108, № 5, 797 (1968). ³ G. Harris, R. W. Rickets, Nature, v. 195, № 4840, 473 (1962). ⁴ H. Y. Neujahr, J. M. Varga, Europ. J. Biochem., v. 13, № 1, 37 (1970). ⁵ H. Y. Neujahr, S. Lindsjö, J. M. Varga, Ant. van Leeuw., v. 40, № 2, 209 (1974). ⁶ J. M. Varga, H. Y. Neujahr, Europ. J. Biochem., v. 12, № 3, 427 (1970).