

Биология

УДК 663.12

Л.А. НАВАСАРДЯН

СИНТЕЗ БЕЛКОВ В ДРОЖЖАХ *CANDIDA RUGOSA* ВСБ-925
ПРИ ПОВЫШЕННОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ

Исследована интенсивность биосинтеза белков термошока в дрожжах *Candida rugosa* ВСБ-925. Показано, что при повышенной температуре (44°C) биосинтез сравнительно низкомолекулярных белков ($M \leq 78$ кДа) протекает в 2–3 раза интенсивнее по сравнению с высокомолекулярными.

Одним из важнейших вопросов биохимии является изучение биохимических сдвигов в метаболических процессах организмов, в частности – при обмене белков в экстремальных условиях. Определение биохимических функций стрессовых белков, их роль в интактной клетке пока остаются недостаточно ясными. По-видимому, немаловажное значение для изучения функциональных возможностей стрессовых белков имеет их локализация и миграция в клетке в экстремальных условиях, в частности при термошоке [1, 2].

Целью настоящей работы являлось выяснение направленности биосинтеза белка в дрожжевых клетках в условиях термошока. Нами была поставлена задача исследовать интенсивность биосинтеза белка в дрожжах *Candida rugosa* ВСБ-925 в условиях термошока, а также ответить на вопрос, какие белки преимущественно синтезируются в дрожжах в этих условиях – низкомолекулярные или белки, имеющие относительно высокий молекулярный вес?

Дрожжевые клетки *Candida rugosa* ВСБ-925 были инкубированы при 40°C. В течение интенсивной фазы роста (17-ый час инкубации) дрожжи были выделены из культуральной среды и помещены в среду, содержащую валлин- N^{15} в качестве единственного источника азота. Инкубацию проводили в течение 3-х часов при относительно высокой температуре – 44°C. Затем клетки были выделены из культуральной среды. Полученная дрожжевая биомасса охлаждена (-15°C) и пропущена через френч-пресс, после чего проведено выделение водосолеустойчивых белков и их дальнейшее фракционное разделение методом гель-фильтрации. Количество синтезированного белка определено методом Лоури [3].

Фракционное разделение водосолеустойчивых белков дрожжей представлено на рис. 1, из которого видно, что имеются 2 пика с содержанием белка при 8-ой и 26-ой фракциях. Выяснено, что относительно большое количество водосолеустойчивых белков исследованных дрожжей, вклю-

чая фракции 5–15, имеет молекулярный вес больше 78кДа, а в фракциях 21–33 содержатся относительно низкомолекулярные белки. После получения

фракции водосоле- растворимых белков дрож- жей исследовано количест- во тяжелого изотопа азота, включенного во фракции белков, с целью ответить на вопрос: каким молекуляр- ным весом обладают белки, синтезированные в условиях термошока (белки термошо- ка). Спектры азота, полу- ченные с помощью масс- спектрометра, позволили

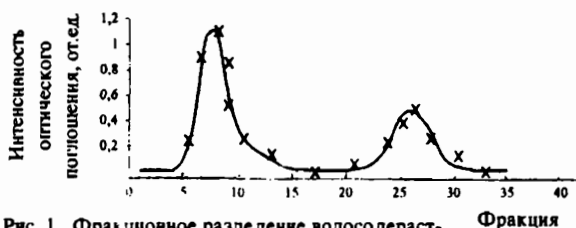


Рис. 1. Фракционное разделение водосоле- растворимых белков дрожжей *S. rugosa* методом гелифильтрации.

изучить в препаратах изотопный состав с молекулярными массами $N^{14}N^{14}$, $N^{14}N^{15}$ и $N^{15}N^{15}$ [4]. Результаты изотопных исследований в целостных клетках, белковых фракциях, а также в культуральной среде, представлены в таблице. Статистическая обработка проведена по Вознесенскому [5]. Процентное содержание тяжелого изотопа азота, включенного в низко- молекулярную фракцию белка, примерно в 2.1 раза больше, чем в высокомолекулярной фракции (с учетом того, что в естественных усло- виях 0.38% азота составляет N^{15}).

Содержание N^{15} в различных препаратах дрожжей и в культуральной среде

Препараты	Содержание N^{15} , %
целостные клетки	1.7 ± 0.05
высокомолекулярные белки	1.5 ± 0.08
низкомолекулярные белки	2.75 ± 0.06
до инкубации	17.0 ± 0.01
среда после инкубации	15.0 ± 0.15

С учетом степени включения тяжелого изотопа азота N^{15} в белковые фракции показано, что в условиях термошока количество синтезированных низкомолекулярных ($M \leq 78$ кДа) белков примерно в 2 раза больше высоко- молекулярных. Степень включения N^{15} в белковые фракции показала так- же, что процентное содержание низкомолекулярных белков, синтезиро- ванных в дрожжах *Candida rugosa* ВСБ–925 при термошоке, примерно в 3 раза больше высокомолекулярных.

Полученные данные свидетельствуют о том, что в условиях термошо- ка в дрожжевых клетках, возможно, происходят глубокие биохимические сдвиги, которые проявляются не только при анаболизме, но и при ката- болизме определенных белков, о чем говорит процентное содержание N^{15} в белковых фракциях, а также в культуральной среде до и после инкубации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sinibaldi R.M., Morris P.W. – J.Biol.Chem., 1981, v. 256, № 10, p. 735–738.
2. Clark B.D., Brown I.R. – Biochem. Biophys. Res. Commun., 1986, v. 139, (3), p. 974–981.
3. Lowry O.H., Rosebrough W.Y. – J. Biochem., 1951, v. 193, p. 265.
4. Навасардян Л.А., Багдасарян Е.Г., Давтян М.А. – Биол. ж. Армении, 1973, т. 24, № 12, с. 44–49.
5. Вознесенский В.Л. Первичная обработка экспериментальных данных. Л., 1969.

Լ.Վ. ՆԱՎԱՍԱՐԴՅԱՆ

ՍՊԻՏԱԿՈՒՑՆԵՐԻ ՍԻՆԹԵԶԸ *CANDIDA RUGOSA* *BCB-925* ԽՍՈՐԱՄԵՆՎԵՐՈՒՄ ԲԱՐՁՐ ՋԵՐՄԱՍՏԻՃԱՆԻ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ

Ամփոփում

Ուսումնասիրվել է ջերմաշոկային սպիտակուցների կենսասինթեզի ինտենսիվությունը *Candida rugosa* *BCB-925* խմորասնկերում: Ցույց է տրվել, որ բարձր ջերմաստիճանի պայմաններում (44°C) համեմատաբար ցածր մոլեկուլային կշիռ ($M \leq 78 \text{ kDa}$) ունեցող սպիտակուցների սինթեզն ընթանում է 2–3 անգամ ինտենսիվ բարձրամոլեկուլային սպիտակուցների համեմատությամբ:

L.A. NAVASARDIAN

PROTEIN BIOSYNTHESIS IN YEASTS *CANDIDA RUGOSA* *BCB-925* UNDER HIGH TEMPERATURE

Summary

The intensity of thermoshock proteins biosynthesis in yeasts *Candida rugosa* *BCB-925* was investigated. It has been shown that under high temperature (44°C) the synthesis of comparatively low-molecular proteins ($M \leq 78 \text{ kDa}$) is 2–3 times more intensive than of high-molecular proteins.