

УДК 665.123.+547.455.623+663.13

ВМІСТ НЕЕТЕРИФІКОВАНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ У КЛІТИНАХ ДРІЖДЖІВ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* І *SCHWANNIOMYCES OCCIDENTALIS*

С.Гудзь, Я.Колісник

Львівський національний університет імені Івана Франка,
вул. Грушевського, 4, м. Львів 79005, Україна

З'ясовано, що під час росту Кребтрі-позитивних дріжджів *S.cerevisiae* в середовищі з 0,1 % глюкози рівень неетерифікованих жирних кислот значно вищий, ніж у клітинах *Schw.occidentalis*. З підвищенням концентрації глюкози вміст неетерифікованих жирних кислот у клітинах досліджуваних дріжджів змінюється по-різному: зменшується у *S.cerevisiae* і збільшується в *Schw.occidentalis*. За цих умов у *S.cerevisiae* збільшується вміст коротколанцюгових жирних кислот, зменшується співвідношення C_{18}/C_{16} та індекс ненасиченості неетерифікованих жирних кислот.

Ключові слова: жирні кислоти, глюкоза, ефект Кребтрі, дріжджі.

Одним із важливих регуляторних механізмів енергетичного обміну в дріжджів є ефект Кребтрі, який полягає в пригніченні дихальної активності клітин за аеробних умов у разі підвищених концентрацій глюкози [5, 6]. Регуляторні механізми, що є в основі цього феномена, не з'ясовані [8]. Доведено [3], що втрата регульовального впливу дихання на бродіння супроводжується зниженням ефективності окисного фосфорування. Природними роз'єднувачами окисного фосфорування є вільні жирні кислоти [2, 4], а, оскільки вони є проміжними продуктами обміну ліпідів, то постає питання про можливу фізіологічну роль цих сполук у регуляції енергетичного обміну.

Нашою метою було дослідити вплив різних концентрацій глюкози на вміст неетерифікованих жирних кислот у Кребтрі-позитивних *Saccharomyces cerevisiae* і Кребтрі-негативних *Schwanniomyces occidentalis* дріжджів.

Об'єкти досліджень – штами дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* ВКМ Y-1093 і *Schwanniomyces occidentalis* ВКМ Y-670. Дріжджі вирощували в колбах об'ємом 500 мл із 100 мл синтетичного середовища Беркгольдера з різною концентрацією глюкози на качалці (200 об./хв) при 30°C. Інокулятом служила 22-годинна культура дріжджів, вирощених на качалці в середовищі Беркгольдера з 2% глюкози.

У досліді використовували клітини з дихально-ферментативної фази росту. Для оцінки фази росту визначали залишкову концентрацію глюкози й етанолу, а також суху масу клітин [7]. Клітини відділяли від культуральної рідини центрифугуванням (15 хв, 3000 об./хв) і промивали 0,1 М фосфатним буфером рН 7,0. Осад,

одержаний після повторного центрифугування, ресуспендували в дистильованій воді до густини 0,1 г/мл. Клітини руйнували протягом 5 хв в ультразвуковому дезінтеграторі УЗДН-1 з охолодженням (22 кГц, 0,4 А). Газохроматографічне визначення жирних кислот виконували за методом Й.Ф.Рівіса і співавторів [1]. Біомасу визначали турбідиметрично або ваговим методом. Наведені результати є середнім арифметичним, отриманим із трьох окремих експериментів.

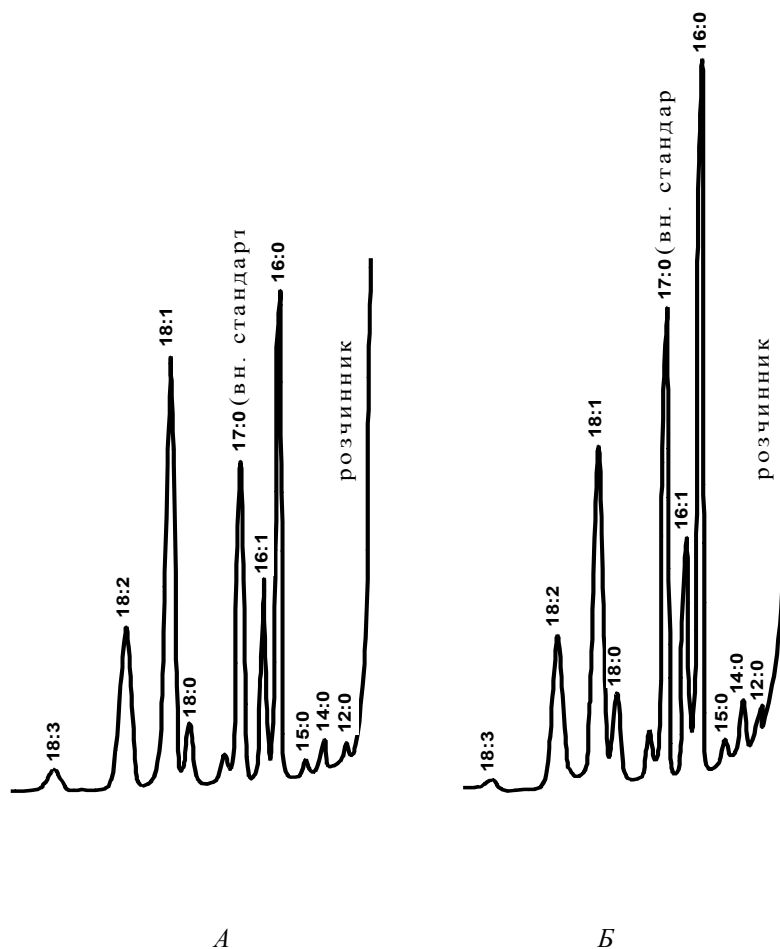


Рис. 1. Хроматограма метилових ефірів неестерифікованих жирних кислот дріжджів *S.cerevisiae* у середовищі з 0,1 (А) та 2,0% глюкози (Б).

Ми дослідили вміст неестерифікованих жирних кислот у Кребтрі-позитивних *S.cerevisiae* і Кребтрі-негативних *Schw.occidentalis* дріжджів (рис. 1 і 2). Під час вирощування дріжджів у середовищі з 0,1% глюкози в клітинах *S.cerevisiae* виявлено

значно вищий рівень неетерифікованих жирних кислот, ніж у *Schw.occidentalis*. Наприклад, кількість неетерифікованих насичених жирних кислот у *S.cerevisiae* у 4,0 рази ($p < 0,01$) перевищує їх рівень у *Schw.occidentalis*, а ненасичених – у 6,5 рази ($p < 0,001$). У середовищі з 2% глюкози рівень цих кислот у досліджуваних видів дріжджів суттєво не відрізняється ($53,3 \pm 3,3$ і $59,9 \pm 2,3$ мМ/кг сухої маси клітин; $p < 0,5$). Зі зростанням концентрації глюкози в середовищі до 4% вміст неетерифікованих жирних кислот у *S.cerevisiae* був значно нижчим, ніж у *Schw.occidentalis* ($46,4 \pm 2,1$ порівняно з $109,6 \pm 2,4$ мМ/кг сухої маси клітин, $p < 0,001$).

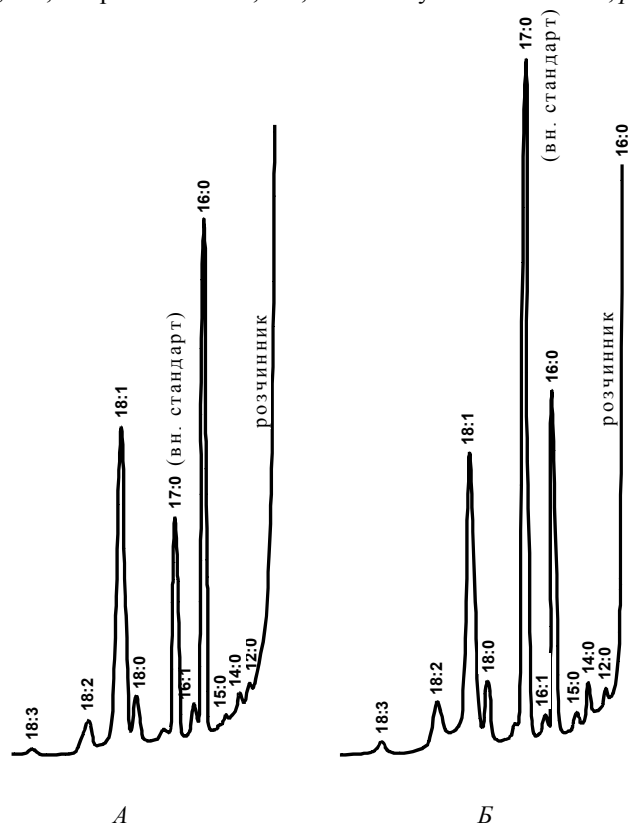


Рис. 2. Хроматограма метилових ефірів неетерифікованих жирних кислот дріжджів *Schw.occidentalis* у середовищі з 0,1 (А) та 2,0% глюкози (Б).

Одержані результати свідчать, що зі збільшенням концентрації глюкози в середовищі у *Schw.occidentalis* рівень неетерифікованих насичених і ненасичених

жирних кислот зростає: у разі 2% вмісті глюкози в 4,9 ($p < 0,001$) і 3,9 ($p < 0,001$) раз, а в разі 4% вмісті глюкози – у 6,3 ($p < 0,001$) і 8,1 ($p < 0,001$) раз, відповідно. У дріжджів *S.cerevisiae* за цих умов кількість неетерифікованих насичених жирних кислот майже не змінюється, а ненасичених – зменшується в середовищі з 2% глюкози у 1,8 раз ($p < 0,02$), а з 4% – у 2,3 раз ($p < 0,01$).

Рівень неетерифікованих жирних кислот у дріжджів *S.cerevisiae* і *Schw.occidentalis*

Концентрація глюкози, %	Жирні кислоти, мМ/кг сухої маси клітин										C18/C16	I _H
	C 12:0	C 14:0	C 15:0	C 16:0	C 16:1	C 18:0	C 18:1	C 18:2	C 18:3	Σ 12-15		
<i>S.cerevisiae</i>												
0,1	0,13± ±0,02	0,44± ±0,04	0,29± ±0,03	12,99±8,39± ±0,30 ±0,29	3,29± ±0,08	35,70±18,76±3,75± ±0,60 ±0,48	0,86± ±0,41	2,88± ±0,04	3,89			
2,0	0,05± ±0,02*	0,53± ±0,03	0,25± ±0,02	12,56±6,29± ±0,41 ±0,44*	3,02± ±0,26	18,25±11,47±0,92± ±0,81* ±0,84* ±0,18*	0,83± ±0,03	1,79± ±0,03*	2,25			
4,0	0,13± ±0,02	0,77± ±0,06*	0,23± ±0,05	13,07±7,06± ±0,24 ±0,66	3,20± ±0,16	15,19±4,83± ±0,45* ±0,17* ±0,19*	1,89± ±0,03*	1,13± ±0,04*	1,68			
<i>Schw.occidentalis</i>												
0,1	0,03± ±0,01	0,09± ±0,05	0,08± ±0,02	3,02± ±0,27	0,22± ±0,02	1,02± ±0,21	7,75± ±0,36	1,48± ±0,26	0,75± ±0,06	0,20± ±0,04	3,40± ±0,24	2,41
2,0	0,05± ±0,01	0,31± ±0,02*	0,10± ±0,01	17,20±1,10± ±0,41* ±0,16*	2,94± ±0,20*	33,29±4,10± ±1,14* ±0,20* ±0,12	0,81± ±0,03*	0,46± ±0,02*	2,25± ±0,02*	1,91		
4,0	0,08± ±0,02*	0,37± ±0,05*	0,12± ±0,03	22,37±2,28± ±1,41* ±0,12*	3,76± ±0,11*	59,84±16,30±4,44± ±1,99* ±0,88* ±0,14* ±0,04* ±0,15	0,57± ±0,04*	3,44± ±0,15	3,10			

* Різниця порівняно з варіанта з 0,1% глюкози вірогідна ($p < 0,05-0,001$).

Аналіз складу неетерифікованих жирних кислот дріжджів відображає (див. таблицю), що зі збільшенням концентрації глюкози в середовищі для культивування в клітинах *Schw.occidentalis* підвищується рівень усіх виявлених кислот (від 1,5 рази для пентадецилової до 11,0 разів у лінолевої кислот). Водночас у *S.cerevisiae* вміст неетерифікованих C_{12:0}, C_{15:0}, C_{16:0}, C_{16:1}, C_{18:0} помітно не змінюється, а концентрація C_{18:1}, C_{18:2}, C_{18:3} кислот зменшується.

Зазначимо, що в клітинах *S.cerevisiae* зменшується не тільки кількість C₁₈-ненасичених неетерифікованих жирних кислот, а й їхній процентний вміст у загальній сумі неетерифікованих жирних кислот (69,5% у середовищі з 0,1% глюкози, 57,4 – з 2% глюкози і 47,3% – з 4% глюкози) (рис. 3). За цих умов зменшується і співвідношення неетерифікованих жирних кислот C_{16:1}/C_{16:0} (з 0,64 до 0,54), C_{18:1}/C_{18:0} (з 10,85 до 4,75), C_{18:2}/C_{18:1} (з 0,53 до 0,32). Індекс ненасиченості з під-

вищенням концентрації глюкози також знижується в 1,7 раза при 2% вмісті глюкози і в 2,3 раза при 4% вмісті глюкози (див. таблицю). У *Schw.occidentalis* виявлені інші закономірності: під впливом підвищення концентрації глюкози зростає вміст C_{18} -ненасичених неетерифікованих жирних кислот із 10,0 до 80,6 мМ/кг сухої маси клітин (див. рис. 3) і співвідношення $C_{16:1}/C_{16:0}$ (з 0,07 до 0,10), $C_{18:1}/C_{18:0}$ (з 7,60 до 15,91), $C_{18:2}/C_{18:1}$ (з 0,19 до 0,27).

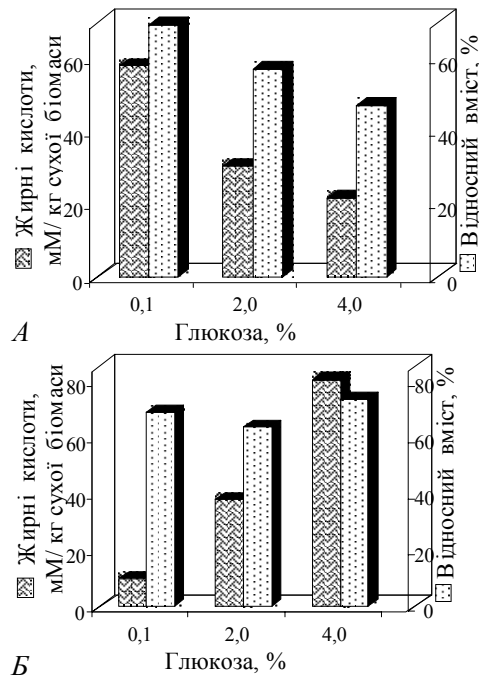


Рис. 3. Вміст C_{18} -ненасичених неетерифікованих жирних кислот у клітинах дріжджів *S.cerevisiae* (А) і *Schw.occidentalis* (Б).

З підвищенням вмісту глюкози в середовищі з 2 до 4% індекс ненасиченості досліджуваних дріжджів збільшується в 1,6 раза (див. таблицю). У разі зростання концентрації глюкози в середовищі у *S.cerevisiae* зменшується сума C_{18} неетерифікованих кислот, а також співвідношення C_{18}/C_{16} кислот у 2,3 раза ($p < 0,001$) і C_{16}/C_{14} у 1,9 раза ($p < 0,02$). У *Schw.occidentalis* співвідношення C_{16}/C_{14} за цих умов зростає від 36,0 до 66,6, а C_{18}/C_{16} знижується в середовищі з 2% глюкози і

підвищується з 4%. У клітинах *S.cerevisiae* виявлено більшу кількість неетерифікованих коротколанцюгових жирних кислот, ніж у *Schw.occidentalis* (рис. 4). З підвищенням концентрації глюкози в середовищі рівень цих кислот зростає у *S.cerevisiae* в 1,3 раза й досягає $1,13 \pm 0,03$ мМ/кг сухої маси клітин. За цих умов збільшується також і відносний вміст коротколанцюгових неетерифікованих жирних кислот у загальній сумі (з 1,0% в середовищі з 0,1% глюкози до 2,4% в середовищі з 4,0% глюкози), що може свідчити про вплив глюкози на процес елонгації жирних кислот у клітинах *S.cerevisiae*. Інша картина простежується під час дослідження клітин *Schw.occidentalis*. З підвищенням концентрації глюкози в середовищі вміст коротколанцюгових неетерифікованих жирних кислот зростає в 2,8 раза, однак досягає лише $0,57 \pm 0,04$ мМ/кг сухої маси клітин, а їхня питома частка в загальній кількості неетерифікованих жирних кислот знижується від 1,39% в середовищі з 0,1 % глюкози до 0,52 % з 4,0 % глюкози.

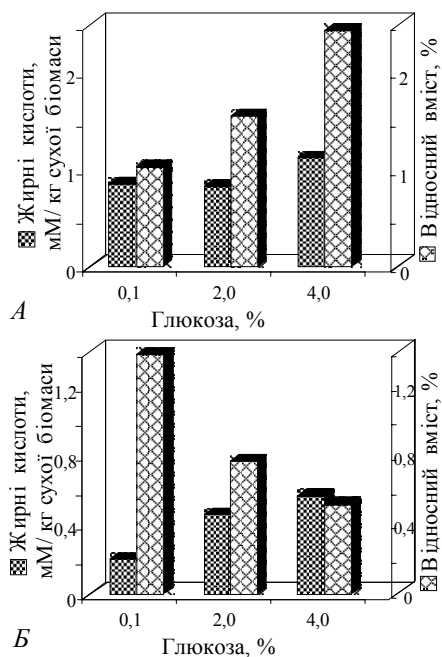


Рис. 4. Вміст неетерифікованих коротколанцюгових жирних кислот у клітинах дріжджів *S.cerevisiae* (А) і *Schw.occidentalis* (Б).

Отже, в Кребтрі-позитивних дріжджів *S.cerevisiae* у середовищі з 0,1 % глюкози виявлено значно вищий рівень неетерифікованих жирних кислот, ніж у клітинах *Schw.occidentalis*. З підвищенням концентрації глюкози вміст неетерифікованих жирних кислот у клітинах досліджуваних дріжджів змінюється по-різному: знижується в *S.cerevisiae* і зростає в *Schw.occidentalis*. За цих умов у *S.cerevisiae* зростає вміст коротколанцюгових жирних кислот, знижується співвідношення C_{18}/C_{16} та індекс ненасиченості неетерифікованих жирних кислот.

1. Рівіс Й.Ф., Скорохід І.В., Данилик Б.Б., Процик Я.М. Одночасне газохроматографічне визначення окремих етерифікованих і неетерифікованих високомолекулярних кислот у біологічному матеріалі // Укр. біох. журн. 1997. Т. 69. № 2. С. 110–115.
2. Мохова Е.Н., Старков А.А., Бобылева В.А. Разобщение окислительного фосфорилирования жирными кислотами в митохондриях печени и мышц // Биохимия. 1993. Т. 58. № 10. С. 1513–1522.
3. Сейц И.Ф. Взаимодействие дыхания и гликолиза в клетке. Л.: Медгиз, 1961. 263 с.
4. Brustovetsky N.N., Dedukhova V.I., Egorova M.V. et al. Inhibitors of the ATP/ADP antiporter suppress stimulation of mitochondrial respiration and H^+ permeability by palmitate and anionic detergents // FEBS Letters. 1990. Vol. 272. P. 187-189.
5. Crabtree H.G. Observations on the carbohydrate metabolism of tumors // Biochem.J. 1929. Vol. 23. P. 536–545.
6. De Deken R.U. The Crabtree effect: a regulatory system in yeast // J.Gen.Microbiol. 1966. Vol. 44. P. 149–156.
7. Lewis J.G., Northcott C.I., Learmonth R.P. et al. The need for consistent nomenclature and assessment of growth phases in diauxic cultures of *Saccharomyces cerevisiae* // J.Gen.Microbiol. 1993. Vol. 139. P. 835–839.
8. Käppeli O. Regulation of Carbon Metabolism in *Saccharomyces cerevisiae* and Related Yeasts // Adv.Microbiol.Physiol. 1986. Vol. 28. P. 181-209.

**THE CONTENT OF NONETHERIFIED FATTY ACIDS IN THE
CELLS OF YEASTS SACCHAROMYCES CEREVISIAE AND
SCHWANNIOMYCES OCCIDENTALIS.**

S.Gudz, Ya.Kolisnyk

*Ivan Franko National University of L'viv
Hrushevskoho st. 4, L'viv 79005, Ukraine,*

It was established that during the growth of *S.cerevisiae* in the medium with 0,1% glucose the level of nonetherified fatty acids is higher than in the yeast *Schw. Occidentalis*. The content of nonetherified fatty acids in Crabtree-positive and Crabtree-negative yeasts changes in opposite directions to the increase of glucose concentration in the medium: it is reduced in *S.cerevisiae* and increased in *Schw.occidentalis*. In this case the level of C₁₈-unsaturated fatty acids and C₁₈/C₁₆ decreased, and the amount of short-chain fatty acids increased in *S.cerevisiae*.

Keywords: fatty acids, glucose, Crabtree effect, yeasts.

Стаття надійшла до редколегії 16.07.2001

Прийнята до друку 21.07.2001