

Zakład Chemii Ogólnej, Instytut Chemii Podstawowych, Akademia Medyczna w Lublinie  
Kierownik: prof. dr hab. Stanisław Billński  
Zakład Mikrobiologii Lekarskiej, Instytut Patologii Klinicznej, Akademia Medyczna w Lublinie  
Kierownik: prof. dr hab. Zygmunt Hencner

Teresa WACH, Zygmunt HENCNER

### Badania nad aktywnością niektórych enzymów u leptospir

Исследования активности некоторых энзимов у лептоспир

Investigations into the Activity of some Leptospiral Enzymes

Leptospiry długo uważano za organizmy biochemicznie mało aktywne. Dopiero w ostatnich latach badania wykazały, że i u tych organizmów występują niektóre enzymy charakterystyczne dla wielu drobnoustrojów. Wiadomości jednak dotyczące procesów metabolicznych leptospir są niekompletne, często kontrowersyjne. Niewątpliwą przyczyną jest trudny model, jaki dla badań tego typu stanowią spirochety. W naszych badaniach zwróciliśmy uwagę przede wszystkim na aminotransferazy. Po raz pierwszy reakcje transaminacji u tych organizmów opisali Markovetz i Larson (6), prowadząc badania nad *Leptospira biflexa*. W kilka lat później Green i wsp. (2) wykazali u niektórych serotypów chorobotwórczych transaminacje glutaminowo-szczawianową. Celem prowadzonych przez nas doświadczeń było poszerzenie dotychczasowych danych, dotyczących aminotransferaz u leptospir. Obserwowano aktywność enzymu wobec różnych aminokwasów. Prowadzono również badania z aminokwasami zasadowymi. Równocześnie zwrócono uwagę na obecność w komórkach leptospirowych innych enzymów, mogących odgrywać rolę w przemianie aminokwasów. Na podstawie badań (4, 8) stwierdzono, że amoniak pobierany z podłoża przez leptospiry może być zastąpiony przez asparaginę, co sugeruje w pewnym stopniu obecność asparaginazy w komórkach. Przeprowadzono obserwacje i w tym kierunku. Ponadto próbowano ustalić, czy pewne różnice, występujące w badanych procesach pomiędzy serotypami, można wykorzystać praktycznie dla celów taksonomicznych.

## MATERIAŁ I METODY

Badano dwa serotypy leptospir, saprofityczny — *Leptospira patoc* i chorobotwórczy — *Leptospira canicola*. Hodowie prowadzono na płynnym podłożu Korthofa z dodatkiem witaminy B<sub>12</sub>, w temp. 30°C przez 15—17 dni. Komórki oddzielano od podłoża przez dwukrotne wirowanie. Następnie przemywano je w buforze fosforanowym o pH 7,8. Suszono w eksykatorze próżniowym. Jałowość sprawdzano pod mikroskopem. W doświadczeniach wstępnych stosowano różne źródła enzymu, jak: zawiesinę żywych komórek w buforze fosforanowym, zawiesinę żywych komórek w buforze HCl-Tris, preparat acetonowy tzw. proszek (7) oraz zawiesinę w buforze fosforanowym i w buforze HCl-Tris komórek homogenizowanych przez kolejne zamrażanie i odmrażanie (−16°C, +40°C).

W ostatecznych badaniach nad aktywnością aminotransferaz mieszanina reagująca składała się: z 0,9 ml zawiesiny w buforze fosforanowym, zawierającej ok. 17 mg homogenizowanych komórek + 2 ml 0,025 M roztworu badanego aminokwasu w buforze fosforanowym o pH 7,8. Mieszaninę inkubowano na łaźni wodnej przez 10 min. w temp. 30°C. Wytrząsano w probówkach, a następnie dodawano 1 ml 0,04 M roztworu w buforze fosforanowym odpowiedniego ketokwasu. Wstawiano do termostatu. W równoległe prowadzonych doświadczeniach dodawano jeszcze do mieszaniny reagującej 10 mg/ml fosforanu prydoksalu. Analogicznie postępowano stosując bufor HCl-Tris. We wszystkich wariantach zachowywano ten sam czas inkubacji (12 i 18 godz.) oraz temperaturę (30 i 37°C). W skład każdego badania wchodziły próby kontrolne z zawiesiną leptospirową, ogrzaną uprzednio do 100°C, oraz próby nie zawierające w mieszaninie reagującej odpowiedniego aminokwasu. Inkubację przerywano przez dodanie do badanej mieszaniny ok. 5 ml 96% alkoholu etylowego. Wytrącone białko odwirowywano. Płyn z nad osadu przenoszono ilościowo do parowniczkii kwarcowej, odparowywano do suchości. Osad rozpuszczano w 0,5 ml 30% alkoholu etylowego. Roztwór наносzono ilościowo mikropipetką na bibułę Whatmann nr 3. Obok na tym samym arkuszu nakraplano w różnych stężeniach roztwory wzorcowe kwasu glutaminowego lub alaniny. Chromatogramy rozwijano w układzie rozpuszczalników: kwas octowy lodowaty—woda—butanol w stosunku 1:1:4. Plamy aminokwasów wywoływano 0,2% acetonowym roztworem ninhydryny. Identyfikowano, a następnie kompleksowano roztworem chlorku miedziowego w acetonie. Uzyskane na bibule plamy kwasu glutaminowego lub alaniny, wytworzonej w reakcjach transaminacji, wycinano. Eluowano 75% alkoholem metylowym. Eluat oznaczano ilościowo w spektrokolorymetrze przy długości fali 510 nm, korzystając z krzywych wzorcowych. Największą ilość kwasu glutaminowego, wytworzonego przez cały okres inkubacji, w reakcji „danego” aminokwasu z kwasem α-ketoglutarynowym w stosunku do ilości kwasu glutaminowego, powstałego w reakcjach z innymi aminokwasami w tych samych warunkach doświadczalnych, przyjęto za 100% aktywności enzymu. Aktywność względem pozostałych aminokwasów oznaczano procentowo, biorąc pod uwagę ilość wytworzonego kwasu glutaminowego w reakcji z poszczególnym aminokwasem w stosunku do ilości uznanej za 100%. Analogicznie wyliczano aktywność aminotransferaz wobec poszczególnych aminokwasów w reakcjach z kwasem pirogronowym. W tym przypadku za 100% aktywności przyjmowano największą ilość alaniny wytworzonej w reakcji danego aminokwasu z kwasem pirogronowym, w stosunku do ilości alaniny wytwarzanej w reakcjach z pozostałymi aminokwasami użytymi do doświadczeń.

Kwas glutaminowy lub alaninę pochodzenia endogennego próbowano usunąć prowadząc dializę przez 16 godz. w buforze fosforanowym o pH 7,8. Stosowano również

inkubację homogenatów z kwasem  $\alpha$ -ketoglutazarowym lub pirogronowym bez aminokwasu, a uzyskaną w tych warunkach ilość kwasu glutaminowego lub alaniny uwzględniano przy określaniu aktywności aminotransferaz wobec poszczególnych aminokwasów (3). W badaniach nad aktywnością asparaginazy skład mieszaniny reagującej był następujący: 1 ml 0,004 M roztworu L-asparaginy w buforze fosforanowym o  $pH$   $-7,8+1$  ml zawiesiny żywych komórek lub komórek homogenizowanych (ok. 17 mg). Równolegle prowadzono próby kontrolne a) bez asparaginy, którą zastępowano buforem, b) bez komórek leptospirowych. Prowadzono również doświadczenia z buforem HCl-Tris o  $pH$ : 7,8; 8,0; 8,6. Inkubowano 10 i 14 godz. w temp. 30 i 37°C.

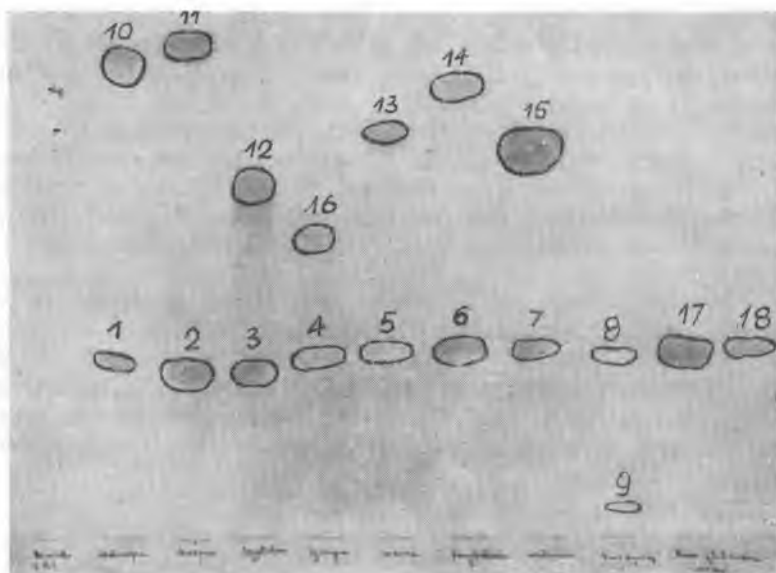
Próby kontrolne pobierano do analizy co kilka godzin. Oznaczano obydwa produkty reakcji, kwas asparaginowy i amoniak. Kwas asparaginowy — metodą chromatografii bibułowej, techniką wstępującą. Amoniak — odczynnikiem Nesslera. Aktywność asparaginazy określano w mikromolach powstałego amoniaku na 1 mg azotu całkowitego użytego do reakcji preparatu enzymatycznego oraz ilością wytworzonego kwasu asparaginowego. Azot całkowity oznaczano metodą mikro-Kjeldahla w aparacie Parnasa.

#### WYNIKI BADAŃ

U obu serotypów leptospir: *Leptospira canicola* i *Leptospira patoc* obserwowano reakcje transaminacji zachodzące pomiędzy różnymi aminokwasami a kwasem  $\alpha$ -ketoglutazarowym oraz aminokwasami a kwasem pirogronowym. Stwierdzono, że komórki leptospirowe, rozbite przez kolejne zamrażanie i rozmrażanie, wykazywały aktywność aminotransferaz. Rodzaj użytego w tych badaniach buforu nie odgrywał roli. Optimum  $pH$  dla zachodzących reakcji wynosiło 7,8. W komórkach *Leptospira patoc* obserwowano w reakcjach z kwasem  $\alpha$ -ketoglutazarowym aktywność aminotransferaz wobec DL-leucyny, DL-izoleucyny, DL-tryptofanu, DL-fenylalaniny, DL-metioniny, DL-tyrozyny, DL-waliny i kwasu asparaginowego (ryc. 1). Największa ilość kwasu glutaminowego została wytworzona w reakcji pomiędzy leucyną a kwasem  $\alpha$ -ketoglutazarowym (tab. 1).

W komórkach *Leptospira canicola* w reakcjach z kwasem  $\alpha$ -ketoglutazarowym stwierdzono aktywność aminotransferaz wobec kwasu asparaginowego, metioniny, leucyny, waliny, argininy, fenyloalaniny, tryptofanu, tyrozyny. Na specjalną uwagę zasługuje aktywność względem argininy, aminokwasu zasadowego. Najwyższą aktywność aminotransferazy zauważono wobec kwasu asparaginowego (tab. 2).

Obserwowano dodatni wpływ fosforanu pirydoksalu na przebieg reakcji. Po wprowadzeniu go do mieszaniny reagującej aktywność względem argininy znacznie wzrosła. W szeregu aktywności arginina zajęła trzecie miejsce, tuż za metioniną, a przed leucyną. Aktywność względem pozostałych aminokwasów wzrosła średnio o 10%. Dodatni wpływ fosforanu pirydoksalu przejawiał się szczególnie w przypadku użytych do reakcji komórek po dializie. W tych warunkach był niezbędnym w mieszaninie



Ryc. 1. Transaminacja u *Leptospira patoc* pomiędzy kwasem  $\alpha$ -ketoglutazarowym a poszczególnymi aminokwasami. Plamy kwasu glutaminowego wytworzonego w reakcjach transaminacji: 1 — z izoleucyną, 2 — z leucyną, 3 — z tryptofanem, 4 — z tyrozyną, 5 — z walina, 6 — z fenyloalaniną, 7 — z metioniną, 8 — z kwasem asparaginowym. Plamy wzorcowego kwasu glutaminowego (17 i 18). Plamy aminokwasów biorących udział w reakcjach transaminacji: 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16. The reaction of transamination between the  $\alpha$ -keto-glutaric acid and various aminoacids with *Leptospira patoc*. Spots of glutamic acid created in the reaction of transamination with: 1 — isoleucine, 2 — leucine, 3 — tryptophan, 4 — tyrosine, 5 — valine, 6 — phenylalanine, 7 — methionine, 8 — aspartic acid. Standarts: glutamic acid (17 and 18). Spots of aminoacids taking place in the reaction of transamination: 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16

Tab. 1. Aktywność aminotrasferaz względem poszczególnych aminokwasów w komórkach *Leptospira patoc* (%)

Percentage of activity of aminotransferases in *Leptospira patoc* cells

Lp.	Aminokwas	Aktywność enzymu %
1.	Leucyna	100
2.	Fenyloalanina	92
3.	Tryptofan	69
4.	Metionina	52
5.	Izoleucyna	47
6.	Tyrozyna	10
7.	Walina	10
8.	Kwas asparaginowy	10

Za 100% aktywności przyjęto aktywność względem leucyny, wyrażoną ilością kwasu glutaminowego wytworzonego w reakcji transaminacji z kwasem  $\alpha$ -ketoglutazarowym.

100% activity was the activity as to leucine expressed as the amount of glutamic acid produced by the reaction of transamination with  $\alpha$ -keto-glutaric acid.

Tab. 2. Aktywność aminotransferaz względem poszczególnych aminokwasów w komórkach *Leptospira canicola* (%)Percentage of activity of aminotransferases in *Leptospira canicola* cells

Lp.	Aminokwas	Aktywność enzymu %
1.	Kwas asparaginowy	100
2.	Metionina	40
3.	Leucyna	35
4.	Walina	33
5.	Arginina	33
6.	Tryptofan	30
7.	Fenylalanina	30
8.	Tyrozyna	2
9.	Izoleucyna	0

Za 100% aktywności przyjęto aktywność względem kwasu asparaginowego, wyrażoną ilością kwasu glutaminowego wytworzonego w reakcji transaminacji z kwasem  $\alpha$ -ketoglutarynowym.

100% activity was the activity as to aspartic acid expressed as the amount of glutamic acid produced by the reaction of transamination with  $\alpha$ -keto-glutaric acid.

reagującej. Badając aktywność aminotransferaz wobec argininy, na chromatogramach uzyskanych z mieszaniny reagującej, stwierdzono obok plamy kwasu glutaminowego, wytworzony dodatkowo aminokwas, którego plama układała się wyżej argininy (ryc. 2). Opierając się na reakcji z para-dwu-metylo-amino-benzaldehydem (7) zidentyfikowano go jako cytrulinę.

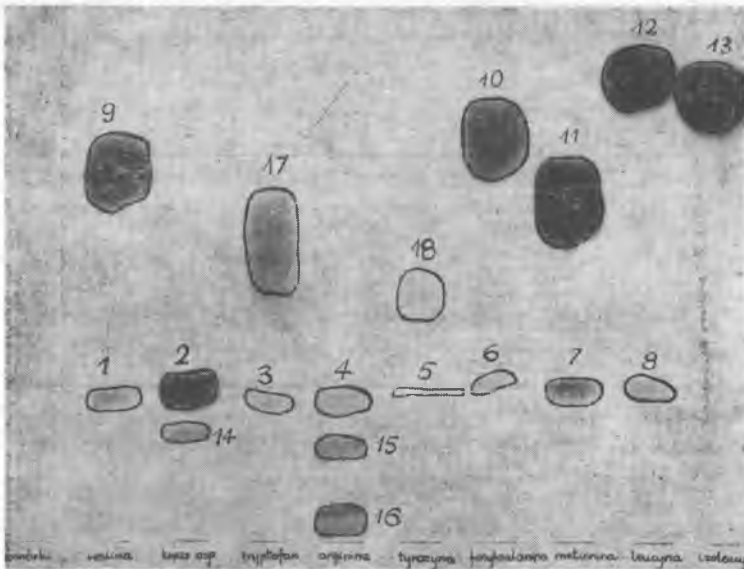
W reakcjach prowadzonych z kwasem pirogronowym użyto tych samych aminokwasów co w doświadczeniach z kwasem  $\alpha$ -ketoglutarynowym. W komórkach *Leptospira patoc* stwierdzono aktywność aminotransferaz względem izoleucyny, waliny, leucyny oraz kwasu asparaginowego. Największa ilość alaniny została wytworzona w reakcji kwasu pirogronowego z izoleucyną (tab. 3).

Tab. 3. Aktywność aminotransferaz w komórkach *Leptospira patoc* (%)Percentage of activity of aminotransferases in *Leptospira patoc* cells

Lp.	Aminokwas	Aktywność enzymu %
1.	Izoleucyna	100
2.	Walina	50
3.	Leucyna	35
4.	Kwas asparaginowy	35

Za 100% aktywności przyjęto aktywność wobec izoleucyny, wyrażoną ilością alaniny wytworzonej w reakcji transaminacji z kwasem pirogronowym.

100% activity was the activity as to iso-leucine expressed as the amount of alanine produced by the reaction of transamination with pyruvic acid.



Ryc. 2. Transaminacja u *Leptospira canicola* pomiędzy kwasem  $\alpha$ -ketoglutarynowym a poszczególnymi aminokwasami. Plamy kwasu glutaminowego wytworzonego w reakcjach transaminacji: 1 — z walina, 2 — z kwasem asparaginowym, 3 — z tryptofanem, 4 — z arginina, 5 — z tyrozyna, 6 — z fenyloalanina, 7 — z metionina, 8 — z leucyna. Plamy aminokwasów biorących udział w reakcjach transaminacji: 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18. Plama cytryliny (15) wytworzonej obok kwasu glutaminowego (4) z argininy (16)

The reaction of transamination between the  $\alpha$ -keto-glutaric acid and various amino-acids with *Leptospira canicola*. Spots of glutamic acid created in the reaction of transamination with: 1 — valine, 2 — aspartic acid, 3 — tryptophan, 4 — arginine, 5 — tyrosine, 6 — phenylalanine, 7 — methionine, 8 — leucine. Spots of amino-acids taking place in the reaction of transamination: 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 17, 18. Spots of cytrulin (15) created out of glutamic acid (4) of arginine (16)

Tab. 4. Aktywność aminotransferaz w komórkach *Leptospira canicola* w reakcjach z kwasem pirogronowym (%)

Percentage of activity of aminotransferases in *Leptospira canicola* cells

Lp.	Aminokwas	Aktywność enzymu %
1.	Leucyna	100
2.	Izoleucyna	70
3.	Walina	10
4.	Kwas asparaginowy	8

Za 100% aktywności przyjęto aktywność wobec leucyny, wyrażoną ilością alaniny wytworzonej w reakcji transaminacji z kwasem pirogronowym.

100% activity is the activity as to leucine expressed as the amount of alanine produced by the reaction of transamination with pyruvic acid.

W komórkach *Leptospira canicola* obserwowano w reakcjach z kwasem pirogronowym aktywność aminotransferaz wobec leucyny, izoleucyny, waliny i kwasu asparaginowego. Największa ilość alaniny została wytworzona w reakcji z leucyną (tab. 4). Fosforan pirydoksalu przyspieszał reakcje. W doświadczeniach nad aktywnością asparaginazy najlepsze wyniki otrzymywano prowadząc reakcje przy pH mieszaniny 7,8—8,0. Przez kilka pierwszych godzin inkubacji nie stwierdzono żadnych zmian w stężeniu asparaginy. Nie wykryto również wolnego amoniaku. Minimalne ślady pojawiły się dopiero po upływie 10 godz. (tab. 5).

Tab. 5. Aktywność asparaginazy w komórkach *Leptospira patoc* i *Leptospira canicola*, wyrażona obecnością kwasu asparaginowego i wolnego amoniaku w mieszaninie reagującej

Asparaginase activity in *Leptospira patoc* and *Leptospira canicola* cells expressed in the presence of aspartic acid and free ammonia

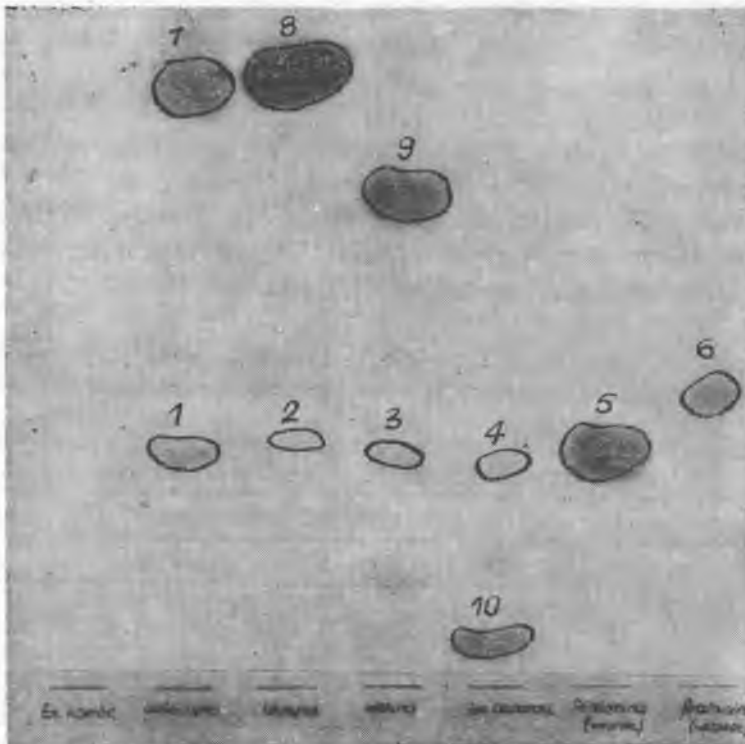
Serotyp	Czas inkubacji w godzinach									
	0		2		5		10		14	
	kwas asparagin.	amoniak	kwas asparagin.	amoniak	kwas asparagin.	amoniak	kwas asparagin.	amoniak	kwas asparagin.	amoniak
<i>L. patoc</i>	—	—	—	—	—	—	+	+	++	0,16
<i>L. canicola</i>	—	—	—	—	—	—	+	+	++	0,18

Ilość amoniaku wyrażono w mikromolach na 1 mg azotu całkowitego użytego do reakcji preparatu enzymatycznego. — = brak produktu reakcji. + = produkt reakcji w ilościach śladowych.

Assessed in micromoles/1 mg total nitrogen contained in the enzymatic reagent used in the reaction. — = lack of reaction product. + = reaction product in traces.

#### DYSKUSJA I WNIOSKI

Obserwacje nasze wykazały bardzo słabą aktywność asparaginazy w komórkach leptospirowych. Johnson i Rogers (5), prowadząc doświadczenia w nieco odmiennych warunkach, stwierdzili również minimalne jej działanie. Autorzy ci jednak uważali, że rozkład asparaginy dodawanej do podłoża jest wynikiem asparaginazy surowicy króliczej. Obserwacje prowadzili nad komórkami *Leptospira pomona*. Obserwacje nasze w odniesieniu do aminotransferaz u *Leptospira patoc* (ryc. 3) pokrywały się częściowo z wynikami Markovetza i Larsona (6) uzyskanymi w doświadczeniach nad *Leptospira biflexa*. W reakcjach z kwasem  $\alpha$ -ketoglutazarowym badania nasze wykazały aktywność aminotransferaz wobec tych samych aminokwasów z tym, że najaktywniejsza była

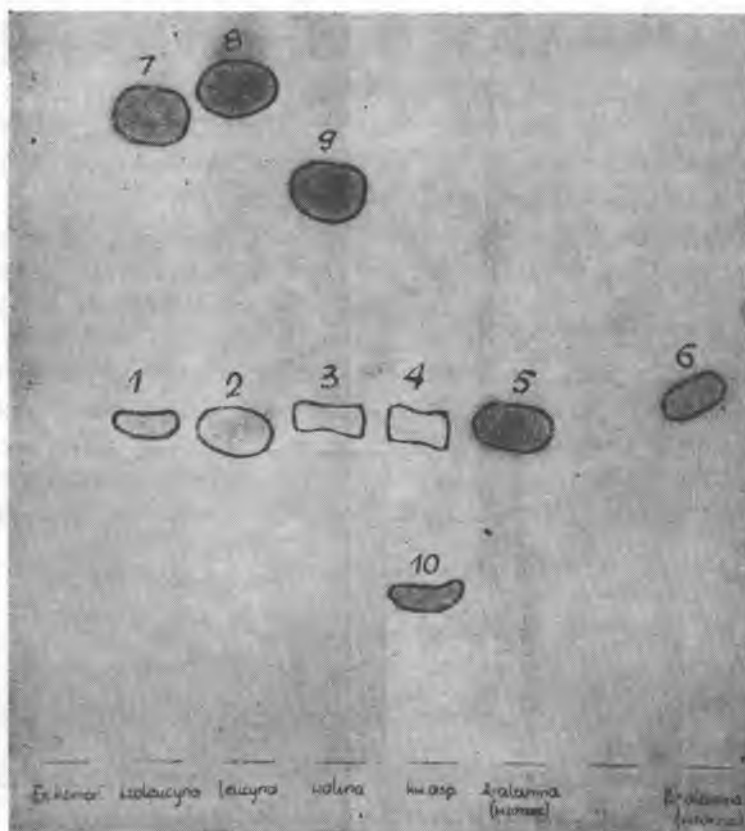


Ryc. 3. Transaminacja u *Leptospira patoc* pomiędzy kwasem pirogronowym a poszczególnymi aminokwasami. Plamy alaniny wytworzonej w reakcjach transaminacji: 1 — z izoleucyną, 2 — z leucyną, 3 — z walina, 4 — z kwasem asparaginowym. Plamy alaniny wzorcowej 5 i 6 (5 —  $\alpha$ , 6 —  $\beta$ ). Plamy aminokwasów biorących udział w reakcjach transaminacji: 7, 8, 9, 10

The reaction of transamination between pirogronic acid and various aminoacids with *Leptospira patoc*. Spots of alanine created in the reaction of transamination with: 1 — isoleucine, 2 — leucine, 3 — valine, 4 — aspartic acid. Standards:  $\alpha$ -alanine (5),  $\beta$ -alanine (6). Spots of aminoacids taking place in the reaction of transamination: 7, 8, 9, 10

leucyna, najmniej walina i kwas asparaginowy. W reakcjach transaminacji z kwasem pirogronowym stwierdziliśmy udział izoleucyny, waliny, leucyny i kwasu asparaginowego. Markovetz i Larson (6), prowadząc swoje doświadczenia w nieco odmiennych warunkach, nie podają udziału w tych reakcjach waliny i kwasu asparaginowego. Barban (1) w obserwacjach nad inną spirochetą *Trepanoma Reiter* wykazuje, że te same aminokwasy, które reagowały z kwasem  $\alpha$ -ketoglutarrowym czynne były w reakcjach z kwasem pirogronowym. W naszych doświadczeniach w transaminacji u obydwu serotypów leptospir brały udział te same aminokwasy. Ponadto u *Leptospira canicola* (ryc. 4) w reakcjach z kwasem





Ryc. 4. Transaminacja u *Leptospira canicola* pomiędzy kwasem pirogronowym a poszczególnymi aminokwasami. Plamy alaniny wytworzonej w reakcjach transaminacji: 1 — z izoleucyną, 2 — z leucyną, 3 — z walina, 4 — z kwasem asparaginyowym. Plama wzorcowej  $\alpha$ -alaniny (5). Plama wzorcowej  $\beta$ -alaniny (6). Plamy aminokwasów biorących udział w reakcjach transaminacji: 7, 8, 9, 10

The reaction of transamination between piroglutamic acid and various aminoacids with *Leptospira canicola*. Spots of alanine created in the reaction of transamination with: 1 — isoleucine, 2 — leucine, 3 — valine, 4 — aspartic acid. Standards:  $\alpha$ -alanine (5),  $\beta$ -alanine (6). Spots of aminoacids taking place in the reaction of transamination: 7, 8, 9, 10

$\alpha$ -ketoglutarynowym stwierdzono udział arginy — aminokwasu zasadowego. Aktywność aminotransferaz wobec arginy nie była opisywana u żadnego serotypu leptospir. Należy podkreślić, że u każdego z badanych przez nas serotypów aktywność aminotransferaz wobec poszczególnych aminokwasów kształtowała się odmiennie. W komórkach *Leptospira canicola* najwyższą aktywność enzymu w reakcjach z kwasem  $\alpha$ -ketoglutarynowym obserwowano wobec kwasu asparaginyowego. Warto zaznaczyć (uwzględniając sprzeczne stanowisko leptospir w świecie mikroorganizmów —

bakterie czy pierwotniaki), że dużą aktywność aminotransferaz wobec tego aminokwasu wykryto u wielu bakterii. Równocześnie, biorąc pod uwagę, że w komórkach *Leptospira patoc* najwyższą aktywność aminotransferazy obserwowano wobec leucyny, nasuwa się przypuszczenie, że czynność enzymu wobec danego aminokwasu związana jest w pewnym stopniu również z właściwościami serotypowymi leptospir.

W czasie badań nad aktywnością aminotransferaz wobec argininy w komórkach *Leptospira canicola* stwierdzono w mieszaninie reagującej działanie jeszcze jednego enzymu przetwarzającego argininę w cytrulinę. Prawdopodobnie zachodziła tu reakcja dezaminacji nie opisywana do tej pory u leptospir. Zjawisko to sugeruje możliwość różnych dróg metabolizowania argininy przez leptospiry. Obserwacje nasze potwierdziły obecność u leptospir enzymów już wykrytych oraz ujawniły nowe możliwości enzymatyczne. Można przypuszczać, że organizmy te wykazują bogatsze procesy biochemiczne niż sądzono w pierwszym okresie przeprowadzanych badań.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Barban S.: J. Bacteriol. **68**, 493—497, 1954.
2. Green S., Herbert S., Goldberg, D.C. Blenden: Applied Microbiology **15**, 1104—1113, 1967.
3. Jaroszewicz L., Małyszko E.: Medycyna Doświadczalna i Mikrobiol. **17**, 47—51, 1965.
4. Johnson R. C., Gary N. P.: J. Bacteriol. **83**, 668—672, 1962.
5. Johnson R. C., Rogers P.: Arch. of Biochem. Biophys. **107**, 459—470, 1964.
6. Markovetz R. J., Larson D.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **101**, 638—640, 1959.
7. Sakławska-Szymona O.: Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin sectio D **15**, 91—103, 1960.
8. Shenberg E.: J. Bacteriol. **93**, 1598—1606, 1967.

Otrzymano 25 XI 1976.

#### РЕЗЮМЕ

Исследовали клетки *Leptospira patoc* и *Leptospira canicola*. Показали активность аминотрансфераз по отношению к аминокислотам, которые были описаны Марковецом и Ларсоном, исследующие *Leptospira biflexa*. Наблюдали также активность аминотрансфераз по отношению к аминокислотам, которые не были описаны вышеупомянутыми авторами. У отдельных серотипов leptospir активность аминотрансфераз по отношению к аминокислотам была разная. У *Leptospira canicola* дополнительно определено активность аминотрансфераз по отношению к аргинину. Одновременно наблюдали действие энзима на аргинин, который вызвал дезаминирование с образованием цитрулина. Исследуя аспарагинез, авторы обнаружили самую низкую его активность.

## SUMMARY

Experiments were performed in the cells of *Leptospira patoc* and *Leptospira canicola*. The activity of aminotransferases in the presence of amino acids was shown in reference to *Leptospira biflexa* according to Markovetz and Larson. The activity was also observed in the presence of some other aminoacids that were not mentioned by Markovetz and Larson. In both Leptospiral serotypes the aminotransferase activity in the presence of the respective aminoacids was differentiated. In *Leptospira canicola* the activity in the presence of arginine was additionally confirmed. In addition the enzyme action that converts arginine to cytruline by desamination was observed. Investigations into asparagonase showed its minimal activity.

