

М. А. ДАВТЯН, Дж. А. ВАРДАНЯН

## ПРОТЕОЛИТИЧЕСКАЯ И АМИДИНАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ В ЗЕРНАХ КУКУРУЗЫ

В зернах исследуемых сортов кукурузы обнаружены два оптимума протеолитической активности в пределах рН 3,0—4,0 и 8,5—9,5. В экстрактах зерен обнаружена высокая аргиназная активность. Она заметно повышается в первые два дня прорастания зерен (почти в 2 раза), после чего резко падает (к четвертому дню), а в последующие дни (до 10-го) уменьшается постепенно. Наиболее высокая протеолитическая и аргиназная активность обнаружена у сорта Массино.

Данные предыдущих исследований [1, 2] показали, что во фракционном составе белков трех исследованных сортов кукурузы имеются существенные различия. Причем эти различия более выражены в соле-растворимых белковых фракциях, так как последние содержат основные ферментные белки клетки. Интересно было сравнить активность некоторых ферментов (протеаз и амидиназ) в зернах кукурузы.

Известно, что в зернах кукурузы имеется определенный набор протеолитических ферментов, активность которых повышается в процессе прорастания зерен [3, 4]. Аргиназа входит в группу амидиназных ферментов и является последним из пяти ферментов орнитинового цикла биосинтеза мочевины [5, 6]. Активность этого фермента, следовательно, сильно выражена в урсотелических организмах. Однако в последние годы обширные исследования Козна и Брауна [7], Мора и сотр. [8, 9], Давтяна и сотр. [10, 11—16] и др. в сравнительно-эволюционном аспекте показали, что аргиназа имеет широкое биологическое распространение. Она встречается не только в урсотелических, но и в неурсотелических организмах.

Логично также присутствие этого фермента в зернах, так как основным путем дальнейшего катаболизма аргинина, образующегося при прорастании из белков под влиянием протеаз, является гидролитическое расщепление его аргиназой.

*Материал и методика.* Объектом исследований служили зерна двух сортов кукурузы—Массино, Днепровская 200, выращенных в условиях Араратской равнины.

Покоящиеся семена и проросшие растения растирались в течение 20 мин при 0—4°C с кварцевым песком в 0,2 М NaCl. Гомогенат центрифугировался, и надосадочная жидкость использовалась в качестве ферментного препарата.

Протеолитическая активность ферментов определялась по методу Кунитца [17] и Авсона [18], при этом в качестве белкового субстрата использовались казеин и денатурированный гемоглобин. Применялся натрий боратный и ацетатный буферные растворы. Ферментный препарат инкубировался в течение 4 час. при 37°C.

Активность фермента оценивалась по оптической плотности центрифугатов, полученных после осаждения нерасщепленного белка трихлоруксусной кислотой при 280 нм на спектрофотометре СФ-4А.

Аргиназную активность определяли методом Ратнера [19] с небольшими изменениями: гомогенат инкубировали при 37°C в течение 60 мин. при рН 9,5 (0,04 М глициновый буфер), в присутствии L-аргинина (50 мкмоль), с последующим определением мочевины.

Мочевину определяли уреазным методом. Для этого в каждую пробу добавляли по 1,5 мг высокоактивного препарата уреазы (Sigma), инкубировали 30 мин при 37°C, после чего реакцию приостанавливали добавлением 15% ТХУ, затем через 40 мин центрифугировали и в надосадочной жидкости определяли количество аммиака.

Аммиак определяли микродиффузионным методом Зелингсона [20] в модификации Силаковой и сотр. [21].

Активность фермента выражали в мкмольх образовавшейся мочевины на 1 г свежей ткани, 1 г сухого веса и на одно зерно.

**Результаты и обсуждение.** Приведенные данные (рис. 1) свидетельствуют о том, что при использовании казеина в качестве субстрата экстракты зерен выявляют два оптимума протеолитической активности: один из них выражен сильнее и находится в кислой зоне, а второй—

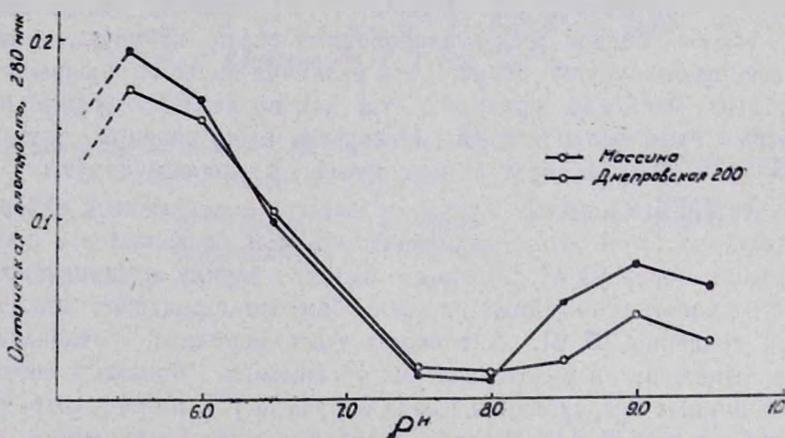


Рис. 1. Протеолитическая активность зерен кукурузы (субстрат—казеин).

менее выражен и находится в щелочной зоне. При использовании денатурированного гемоглобина возможно изучение протеолитической активности только в кислой зоне. Из рис. 2 видно, что интенсивное расщепление гемоглобина происходит при рН 3,0—4,0.

Суммируя данные двух рисунков, можно заключить, что в зернах кукурузы проявляются два оптимума протеолитической активности: в пределах рН 3,0 и 4,0 и 8,5—9,5, что в основном совпадает с данными Войла [3]. Из данных рис. 1, 2 явствуют также, что оба сорта имеют одинаковый спектр протеолитической активности, замечается лишь не сильно выраженная разница в уровнях ее (в условиях рН 9,0 в зернах сорта Массино она значительно выше, чем в зернах сорта Днепровакская 200).

Опыты показали (рис. 3), что экстракты зерен кукурузы обладают также высокой аргиназной активностью, что дополнительно свидетельствует о широком биологическом распространении аргиназы.

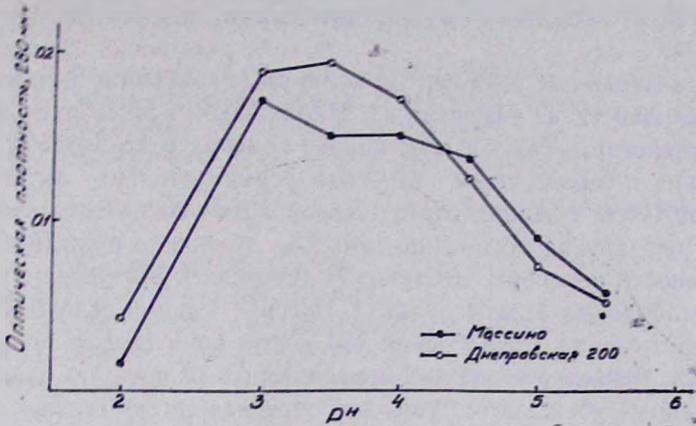


Рис. 2. Протеолитическая активность зерен кукурузы (субстрат—гемоглобин):

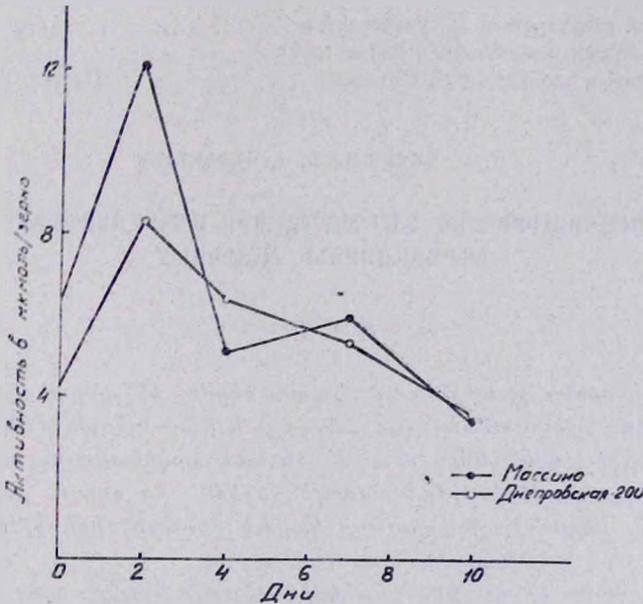


Рис. 3. Аргиназная активность зерен кукурузы при прорастании.

Следующим этапом явилось изучение динамики обнаруженной аргиназной активности при прорастании зерна. Из рис. 3 видно, что активность этого фермента в первые два дня прорастания заметно повышается (приблизительно в два раза), после чего резко падает. С четвертого дня прорастания (до 10-го дня) она продолжает снижаться сравнительно медленно. Интересно, что подобная динамика обнаруживается не только при расчете ферментативной активности на единицу зерна, но и на 1 г свежей и сухой ткани. Это свидетельствует о том, что замеченное снижение ферментативной активности ко второму дню прорастания обусловлено не относительным уменьшением содержания ферментативного белка вследствие повышения процентного содержания

лоды, а является следствием действительного падения ферментативной активности.

У исследованных двух сортов кукурузы различий в динамике аргиназной активности не замечается. Наблюдаются лишь расхождения в ее интенсивности. Так, в покоящихся семенах и ко второму дню их прорастания в зернах сорта Массино ферментативная активность на 50% выше, чем в зернах сорта Днепровская 200. Если учесть, что оптимум рН аргиназной активности 9,5, то можно прийти к выводу, что активность некоторых ферментов (протеаз и аргиназы), участвующих в катаболизме белков, у сорта Массино выше в основной зоне, по сравнению с сортом Днепровская 200. Хотя пока трудно оценить биологический смысл отмеченных межсортовых различий, однако полученные данные убеждают в том, что определение протеазной и амидиназной активности имеет значение для более глубокой характеристики различных сортов кукурузы.

Ереванский государственный университет,  
кафедра биохимии и проблемная лаборатория  
сравнительной и эволюционной биохимии

Поступило 13.11.1976 г.

Մ. Ա. ԴԱՎԹՅԱՆ, Զ. Ա. ՎԱՐԴԱՆՅԱՆ

ՊՐՈՏԵՈԼԻՏԻԿ ԵՎ ԱՄԻԴԻՆԱԶՆԱՅԻՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ  
ԵԳԻՊՏԱՑՈՐԵՆԻ ՀԱՏԻԿՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ու մ

Եգիպտացորենի հատիկներում հայտնաբերվել են պրոտեոլիտիկ ակտիվությունները օպտիմումներ՝ рН 3,0—4,0 և 8,5—9,5 սահմաններում:

Հատիկների մզվածքները օժտված են նաև արգինազային բարձր ակտիվությամբ, որը սերմերի ծլման առաջին երկու օրը զգալի բարձրանում է (գրեթե երկու անգամ), չորրորդ օրը կտրուկ ընկնում, իսկ ծլման հետագա օրերին իջնում է դանդաղորեն:

Հետազոտված երկու ֆերմենտների ակտիվությունը առավել բարձր է եգիպտացորենի Մասինո սորտի հատիկներում:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Варданян Дж. А., Давтян М. А. Биологический журнал Армении, 26, 6, 1973.
2. Варданян Дж. А., Давтян М. А. Биологический журнал Армении, 26, 8, 1973.
3. Wahl G., Barby E. Stärke, 23, 4, 1971.
4. Пешкова А. А., Реймерс Ф. Э., Ханкин Э. Е. ДАН СССР, 202, 5, 1972.
5. Krebs H. A., Henseleit R. Klinische Wochenschrift, II, 1137, 1932.
6. Krebs H. A., Henseleit R. Klinische Wochenschrift, 18, 757, 1932.
7. Cohen P. P., Brawn G. W. V-th International Congress of Biochemistry Symposium III, p. 132, Moscow, 1961.
8. Mora J., Tarrav N., Martuscelly J., Soberon G. Biochem. J., 96, 588, 1965.
9. Mora J., Martuscelly J., Ortiz-Pineda J., Soberon G. Biochem. J., 96, 28, 1965.

10. Ачанян Л. Г., Давтян М. А. Биологический журнал Армении, 24, 4, 1974.
11. Давтян М. А., Бунятыян Г. Х. Биохимия и функция нервной системы (Мат-лы междунар. симп., Л., сентябрь, 1965), 78.
12. Давтян М. А. Вопросы биохимии мозга, Ереван, 3, 273, 1967.
13. Давтян М. А. Вопросы биохимии мозга, Ереван, 4, 237, 1968.
14. Давтян М. А., Бунятыян Г. Х. Биохимия, 35, 412, 1970.
15. Карапетян С. А., Арутюнян Т. Г., Давтян М. А. Биологический журнал Армении, 26, 8, 1973.
16. Карапетян С. А., Арутюнян Т. Г., Давтян М. А. Биологический журнал Армении, 26, 12, 1973.
17. Kunitz M. J. Gen. Physiol., 30, 291, 1947.
18. Anson M. L. J. Gen. Physiol., 22, 79, 1938.
19. Ratner S., Pappas A. Arch. Biochem. Biophys., 9, 280, 1960.
20. Sellgson D., Sellgson H. J. Lab. and Clin. Med., 38, 324, 1951.
21. Силакова А. И., Труш Г. П., Явилякова А. Вопросы медицинской химии, 8, 538, 1962.