

УДК 577.154.26

БИОХИМИЯ

А. Н. ПЕТРОВА, А. И. ВОСКОБОЕВ

ДЕКСТРИН-4-ГЛИКОЗИЛТРАНСФЕРАЗА СЛЮНЫ ЧЕЛОВЕКА

(Представлено академиком А. И. Опариным 21 VII 1969)

В последние годы в ряде работ было показано, что препараты α -амилазы как растительных, так и животных тканей обладают трансферазной активностью (1, 2). Авторы этих исследований пытаются разрешить вопрос о том, связана ли трансферазная активность с присутствием в препаратах примесей трансфераз, или же трансферазное действие осуществляется

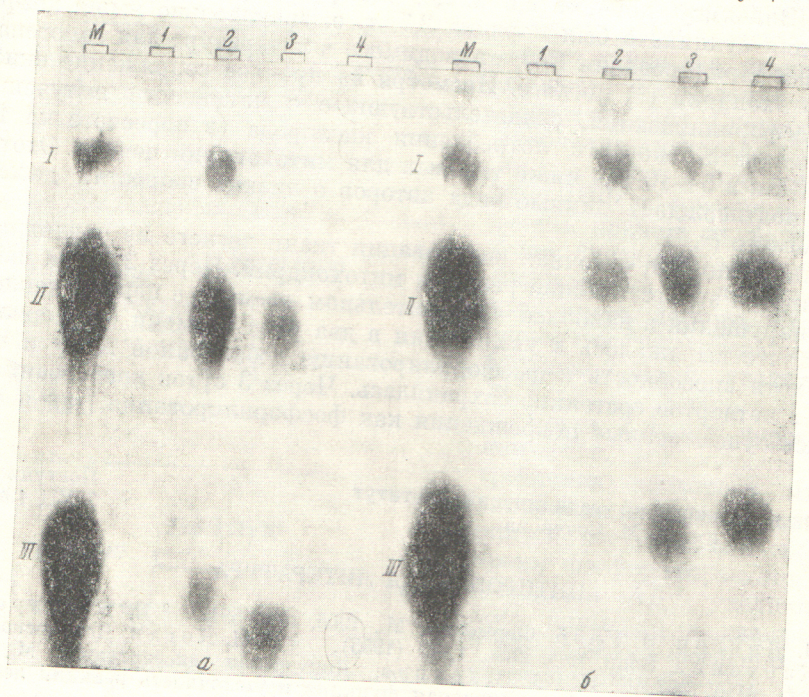


Рис. 1. Действие слюны (а) и высокоочищенной α -амилазы (б) на крахмал. Хроматографирование реакционной смеси. М — метки: I — мальтотриоза, II — мальтоза, III — глюкоза; 1 — до инкубации, 2 — 3 часа, 3 — 1 сутки, 4 — 3 суток (а) и 5 суток (б) инкубации

α -амилазой, поскольку для некоторых гидролитических ферментов показана обратимость действия.

Независимо от этих исследований нами было установлено, что слюна человека, являющаяся богатым источником α -амилазы, обладает трансферазным действием; как показали наши опыты, в слюне содержится трансглюкозилаза, найденная нами ранее в печени и мышцах (3, 4).

Опыты ставили со слюной, разбавленной в 10 раз (0,5 мл), к которой добавляли или один крахмал (0,5 мл 10% раствора), или же в смеси с глюкозой (25 мг/мл) и мальтозой (50 мг/мл). Инкубационную смесь фракционировали двумя объемами этанола; в осадке определяли количество

полисахарида по глюкозе после гидролиза в 0,6 N HCl в течение 3 час. В спиртовой вытяжке изучали олигосахариды, для чего этанол упаривали и остаток исследовали методом хроматографии на бумаге. В качестве растворителя использовали систему бутанол — этанол — вода (3:9:1), проявителем служил анилинфталат. Инкубацию реакционных смесей проводили при pH 7,0 и 5,0 — 5,3.

Действие слюны сравнивали с таковым высокоочищенного препарата α -амилазы (гомогенного в ультрацентрифуге) мутантного штамма 3 — 9 — 15 Asp. oryzae. К раствору препарата α -амилазы, содержащего 50 μ г/мл белка, прибавляли субстраты, как и в опытах со слюной.

На рис. 1а представлена хроматограмма инкубационной смеси со слюной при pH 7,0. Видно, что под влиянием слюны, после 3 час. инкубации, крахмал расщепился на глюкозу, мальтозу, мальтотриозу и более сложные сахара. Однако через 1 сутки инкубации не только не происходило дальнейшего накопления сахаров, но наблюдалось явное уменьшение мальтозы и мальтотриозы, а после 3-суточного инкубирования эти сахара и глюкоза исчезли совсем и на хроматограмме были видны лишь слабые пятна более сложных сахаров.

Одновременное определение количества полисахарида в осадках инкубационных смесей показало, что через 3 часа инкубации весь крахмал был практически расщеплен. Однако после 3-суточной инкубации в осадке появился вновь синтезированный полисахарид, количество которого составляло 25% от исходного. Таким образом, наблюдаемое в реакционной смеси после длительной инкубации уменьшение и исчезновение простых и сложных сахаров происходило вследствие синтеза полисахарида. Как показали дальнейшие опыты, синтез полисахарида не был связан с действием α -амилазы слюны. Указанием на это являются проведенные с высокоочищенной α -амилазой опыты, в которых были получены совершенно другие результаты. Так, на рис. 1б видно, что при действии высокоочищенного препарата α -амилазы количество образовавшихся после 3-часовой инкубации глюкозы и мальтозы продолжает возрастать как через 1, так и 5 суток инкубации. Уменьшалось лишь пятно мальтотриозы, что хорошо согласуется с литературными данными о способности α -амилазы расщеплять этот трисахарид.

Следовательно, при действии высокоочищенного препарата α -амилазы наблюдается типичная картина расщепляющего действия этого фермента. Совершенно очевидно, что явления уменьшения или исчезновения сахаров и синтеза полисахарида, наблюдаемые при длительной инкубации слюны с крахмалом, были обусловлены действием трансферазы, для которой донором-субстратом являются разной длины декстрины и полисахарид, а акцепторами служат глюкоза и мальтоза. Как указывалось выше, такой фермент был найден нами ранее в печени и мышцах и назван декстрин-4-гликозилтрансферазой (ДГТ) (3, 4).

Наши исследования показали, что при определенных условиях опыта со слюной проявляется действие ДГТ и подавляется активность α -амилазы. Так (рис. 2), в присутствии крахмала в смеси с глюкозой (25 мг/мл) и

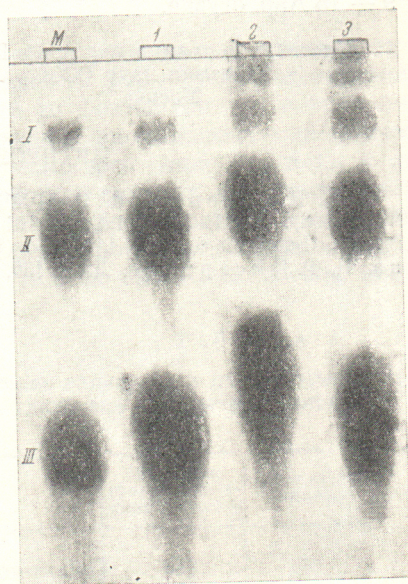


Рис. 2. Действие слюны на крахмал в смеси с глюкозой и мальтозой. Обозначения те же, что на рис. 1а

мальтозой (50 мг/мл) при рН 5, хотя и происходит понижение окраски крахмала с иодом (что указывает на его расщепление), не наблюдается образования глюкозы и мальтозы, т. е. расщепляющего действия α -амилазы. Наоборот, пятно мальтозы слегка уменьшается, и увеличиваются пятна мальтотриозы и более сложных сахаров, что указывает на трансферирующее действие слюны — перенос мальтозильных групп на мальтозу и глюкозу с образованием более сложных сахаров.

Таким образом, в данной работе показано, что трансферирующее действие слюны человека катализируется содержащейся в ней декстрин-4-глицозилтрансферазой (ДГТ).

Выражаем благодарность профессору Р. В. Фениксовой за предоставление высокоочищенного препарата α -амилазы мутантного штамма 3 — 9 — 15 Asp. orgyae.

Институт биохимии им. А. Н. Баха
Академии наук СССР
Москва

Поступило
20 VII 1969

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ С. Т. Greenwood, E. A. Milne, R. Ross, Arch. Biochem. and Biophys., 126, 244 (1968). ² H. Joshi, K. Hiromi, L. Ono, J. Biochemistry, 62, 439 (1967).
³ А. Н. Петрова, ДАН, 111, 1054 (1956); Биохимия, 27, 882 (1962). ⁴ А. Н. Петрова, Н. Ф. Писаренко, ДАН, 130, 217 (1960).