

УДК 577.15.012

БИОХИМИЯ

Член-корреспондент АН СССР В. Л. КРЕТОВИЧ, Т. П. КАРЯКИНА,
Л. П. СИДЕЛЬНИКОВА, Г. С. КАЛОШИНА

ВЛИЯНИЕ СОЛЕЙ АММОНИЯ НА ИЗОЭНЗИМЫ ГЛЮТАМАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА

Было показано (^{1, 2}), что введение методом инфильтрации солей аммония в корешки проростков гороха индуцирует в них глютаматдегидрогеназу (ГДГ), активность которой учитывалась по восстановительному аминированию α -кетоглutarовой кислоты. Индукция фермента под влиянием NH_4^+ сопровождалась синтезом белка *de novo*, так как одновременное с NH_4^+ введение в корни ингибитора белкового синтеза (актидиона) предотвращало индукцию фермента. Поскольку на хлорелле (³) показано образование специфичной к НАДФ глютаматдегидрогеназы при перенесении клеток хлореллы с питательного питания на аммонийное, нам представлялось интересным проследить, как влияет NH_4^+ на изоэнзимный спектр глютаматдегидрогеназы корешков и листочков проростков гороха.

Опыты проводили с 2-недельными проростками гороха сорта Победитель. Проростки выращивали на воде и затем после удаления семядолей помещали на К. Na-фосфатный буфер $1,25 \times 10^{-2}$ мол/л (рН 7,8) и $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ $1,25 \times 10^{-2}$ мол/л на одни сутки. Ферментные экстракты выделяли как из корешков, так и из листочков по методике, описанной ранее (¹). Электрофорез проводили при 3° с использованием полиакриламидного геля по методу Дэвиса (⁴) и Ориштейна (⁵). Расположение на колонке полос, соответствующих активности глютаматдегидрогеназы, определяли по образованию формазанов в присутствии глютамата, НАД или НАДФ. ФМС и пирротетразольного синего (⁷). Спектрофотометрическое определение глютаматдегидрогеназы проводили в трис-HCl-буфере (рН 7,8), как описано ранее (^{1, 2}). Определение свободного аммиака проводили в ферментных экстрактах до диализа по методу Любимова и др. (⁸). Белок определяли в ферментных экстрактах после диализа по Лоури.

Данные о количестве свободного аммиака в ферментных экстрактах из корешков и листочков (табл. 1) показали, что в условиях опыта соли аммония легко проникают в корневую систему, вызывая значительное повышение уровня свободного аммиака в тканях корешков и незначительное, но вполне ясное повышение в тканях листочков.

Попавший в растение аммиак, видимо, очень легко проникает через клеточные мембраны и, будучи физиологически активным соединением, играет роль не только как исходное вещество для различного вида синтезов, но и как регулятор ферментативных процессов в клетке. Это хорошо иллюстрируется приведенными ниже данными. Из табл. 2 видно, что в ферментных экстрактах из корешков проростков, находившихся сутки на аммонийном питании, активность ГДГ с НАД в три

Таблица 1

Количество свободного аммиака
в ферментных экстрактах

Питательные растворы	Аммиак, $\mu\text{г}$ на 1 г сырого веса	
	корни	листья
Вода	24,4	19,0
К, Na-фосфатный буфер	24,6	19,0
$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	132,0	29,0

Влияние аммония на активность ГДГ с НАД и НАДФ

Питательные растворы	Белок, мг/мл	НАД — ГДГ		НАДФ — ГДГ	
		удельная активность	общая актив- ность в 1 мл экстракта	удельная активность	общая актив- ность в 1 мл экстракта
Вода	0,80	180	144	—	—
	2,50	60	144	22	53
К, Na-фосфатный буфер	0,80	188	150	—	—
	2,50	61	152	22	55
$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	0,84	608	510	—	—
	2,53	100	270	50	135

Примечание: Числа над чертой — данные для корней, под чертой — для листьев.

раза выше, чем та же активность в ферментных экстрактах из корешков проростков, оставленных на воде или пересаженных на фосфатный буфер.

Данные электрофореза (рис. 1А) также показывают резкое увеличение полосы активности ГДГ с НАД в случае ферментных экстрактов из корней растений, находившихся на аммонийном питании. Интересно, что в ферментных экстрактах из листочков растений, питающихся аммонием, значительно увеличивается активность ГДГ как с НАД, так и с НАДФ (табл. 2). Из рис. 1Б, В видно, что при аммонийном питании в зимограмме увеличивается синяя полоса 3, которая соответствует изоферменту, локализованному преимущественно в хлоропластах ⁽⁴⁾ и специфичному как к НАД, так и к НАДФ. Однако, если растениям дать

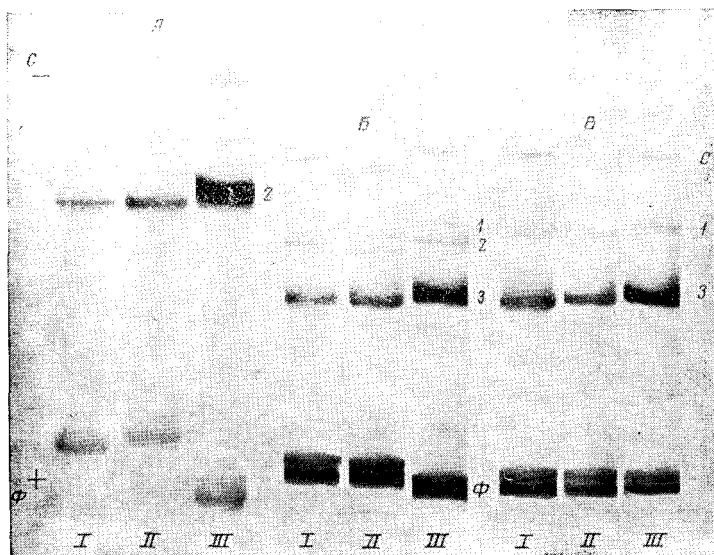


Рис. 1

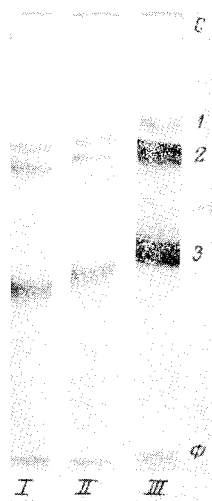


Рис. 2

Рис. 1. Зимограммы ГДГ с НАД из корешков (А) и ГДГ с НАД (Б) и НАДФ (В) из листочков проростков гороха с удаленными семядолями после их пребывания в течение 24 час. на воде (I), в К, Na-фосфатном буфере (II), в $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (III). 1 — красноватая полоса активности, 2 и 3 — синие полосы активности, с — старт, ф — фронт краски

Рис. 2. Зимограммы ГДГ с НАД из листочков проростков гороха с удаленными семядолями после их предварительного пребывания на воде в течение суток и последующего пребывания в течение 24 час. на воде (I), в К, Na-фосфатном буфере (II), в $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (III)

предварительно поголодать, то активность ГДГ снижается, и после перенесения таких растений на аммоний увеличиваются все полосы (рис. 2).

В отличие от ГДГ из хлореллы, ГДГ проростков гороха реагирует на аммоний усиленным синтезом изоферментов.

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

Поступило
24 VIII 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ В. Л. Кретович, Т. И. Карякина, Г. Ш. Ткемаладзе, Изв. АН СССР, сер. биол., № 5, 759 (1969). ² В. Л. Кретович, Г. Ш. Ткемаладзе и др., ДАН, 190, 222 (1970). ³ В. Р. Шатилов, Г. С. Калошина, В. Л. Кретович, ДАН, 194, 964 (1970). ⁴ В. Л. Кретович, Т. И. Карякина и др., ДАН, 201, № 5 (1971). ⁵ B. J. Davies, Ann. N. J. Acad. Sci., 121, Part 2, 404 (1964). ⁶ L. Ornstein, Ann. N. J. Acad. Sci., 121, Part 2, 324 (1964). ⁷ D. A. Thurgman, C. Palin, M. V. Laycock, Nature, 207, 193 (1965). ⁸ В. И. Любимов, Н. П. Львов, Б. Э. Кирштейне, Прикл. биохим. и микробиол., 4, 120 (1968).