

УДК 581.134.4

БИОХИМИЯ

М. А. БЕЛОЗЕРСКИЙ

### ИЗМЕНЕНИЕ 13 S-ГЛОБУЛИНА СЕМЯН ГРЕЧИХИ ПРИ ПРОРАСТАНИИ

(Представлено академиком А. И. Опариным 1 IX 1970)

По вопросу о характере изменений семян растений при прорастании существуют различные мнения. С одной стороны, считалось, что гидролиз запасных белков сразу же идет до мелких пептидных фрагментов или аминокислот, без образования промежуточных высокомолекулярных продуктов (<sup>1, 2</sup>). С другой стороны, высказывались мнения и приводились экспериментальные данные о том, что при прорастании происходит предварительная диссоциация белков на субъединицы (<sup>3, 4</sup>).

Выделенный и изученный нами (<sup>5-7</sup>) 13S-глобулин семян гречихи является весьма удобным объектом для изучения данного вопроса. Белок этот имеет четвертичную структуру и при подкислении раствора обратимо диссоциирует на 2,7S-субъединицы через промежуточную стадию 8S-субъединиц, соответствующих половинкам макромолекулы исходного белка.

Семена гречихи сорта Большевик проращивали в темноте при температуре 20° на фильтровальной бумаге, пропитанной дистиллированной водой. Исследовали семена в покое и на 1—5 день прорастания. Для этого отбирали 100 семян и гомогенизировали их в 10 мл 5% раствора хлорида натрия. Полученную смесь центрифугировали и надосадочную жидкость исследовали при помощи аналитической ультрацентрифуги. Как это видно из рис. 1, количество 13S-глобулина в экстракте существенно не меняется в течение 1—2 дня прорастания и начинает заметно убывать на 3 день. После 5 дней прорастания пик на седиментационной диаграмме, соответствующий 13S-глобулину, уже не обнаруживается.

Полученные экстракты содержат довольно сложные смеси белковых компонентов, анализ количественного соотношения которых сильно затруднен. Тем не менее, при анализе площадей пиков на седиментационных диаграммах, особенно при применении в качестве экстрагента фосфатного буфера pH 6,5, создается впечатление, что на первых этапах прорастания относительное количество 8S-компонента увеличивается.

Для выяснения вопроса о ходе дальнейшего распада 13S-глобулина исходные и прорастающие семена экстрагировали 0,12 M трис-буфером, подкисленным лимонной кислотой до pH 2,2 и содержащим 3M мочевины. Полученные таким образом экстракты центрифугировали для отделения нерастворимых примесей и подвергали электрофорезу в полиакриламидном геле по методу Раймонда и Иордана (<sup>8</sup>) при pH 2,5 в 3M мочевины



Рис. 1. Седиментационные диаграммы белков семян гречихи на разных стадиях прорастания. а — солевой экстракт исходных семян в 1—2 день прорастания; б — 3 день прорастания; в — 4 день; г — 5 день. Растворитель 5% раствор NaCl, скорость вращения ротора 59 780 об/мин, температура ротора 20°, время снимков 25 мин.

(использовали стеклянные трубочки  $7 \times 0,5$  см, сила тока 5 ма на трубочку, напряжение 600 в, продолжительность электрофореза 5 час.).

Параллельно проводили электрофорез 13S-глобулина, диссоциирующего в этих условиях до 2,7S-субъединиц, а также смеси последних с кислыми экстрактами исходных семян гречихи. Как это видно на рис. 2, полосы, соответствующие 2,7S-субъединицам 13S-глобулина, обнаруживаются на всех электрофореграммах экстрактов белков исходных семян на 1—5 день прорастания.

На основании полученных данных можно сделать вывод, что при прорастании семян гречихи происходит диссоциация 13S-глобулина на субъединицы, причем эта диссоциация, возможно, идет через промежуточную

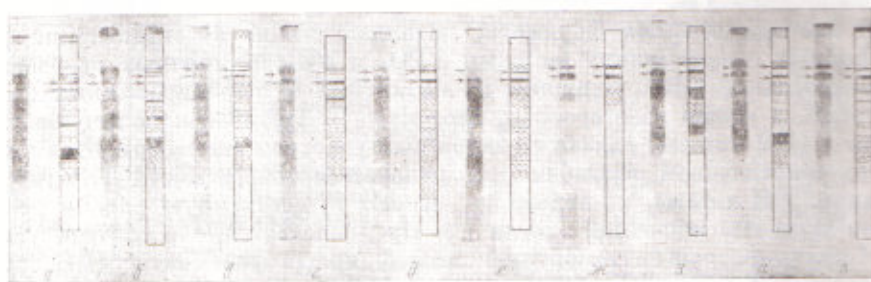


Рис. 2. Электрофореграммы белков семян гречихи на разных стадиях прорастания. *a* — белки сухих семян; *b* — 1 день прорастания; *c* — 2 день; *d* — 3 день; *e* — 4 день; *e* — 5 день; *ж* — субъединицы 13S-глобулина семян гречихи; *з* — белки семян с добавкой субъединиц 13S-глобулина; *и* — белки семян в 1 день их прорастания с добавкой субъединиц 13S-глобулина; *к* — 3 день прорастания с добавкой субъединиц 13S-глобулина. Стрелками обозначены зоны, соответствующие субъединицам 13S-глобулина

стадию 8S-субъединиц аналогично диссоциации 13S-глобулина при подкислении раствора.

Обращает на себя внимание тот факт, что субъединицы 13S-глобулина, образующиеся в процессе прорастания семян, отличаются от субъединиц, получающихся при диссоциации этого глобулина в кислой среде. Первые, как это следует из приведенных данных, не реассоциируют в нейтральной среде, вторые, как отмечалось выше, реассоциируют до 13S-глобулина. Повидимому, диссоциация 13S-глобулина при прорастании обусловливается изменением этого белка (например, дезамидированием, отщеплением небольшого фрагмента и т. п.). Предварительное изменение белка, приводящее к его диссоциации, может свидетельствовать об активной роли 13S-глобулина в процессе его использования как запасного белка.

Автор приносит благодарность проф. В. О. Шпикитеру за внимание к работе и обсуждение результатов.

Московский государственный университет  
им. М. В. Ломоносова

Поступило  
31 VII 1970

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> С. Е. Danielsson, Acta chem. scand., 5, 541 (1951). <sup>2</sup> G. Biserte, R. Scriban, Bull. Soc. chim. biol., 33, 114 (1951). <sup>3</sup> В. Л. Кретович, Т. И. Смирнова, М. К. Вейнова, Биохимия зерна и хлебопечения, 6, 66 (1960). <sup>4</sup> N. Catsimprooulas, С. Ekenstam et al., Biochim. et biophys. acta, 168, 122 (1968). <sup>5</sup> М. А. Белозерский, Л. Н. Викторова, В. О. Шпикитер, Биохимия, 33, 97 (1968). <sup>6</sup> М. А. Белозерский, И. Б. Емцева, Биохимия, 35, 152 (1970). <sup>7</sup> М. А. Белозерский, Вестн. Московск. унив., сер. биол., № 6 (1970). <sup>8</sup> E. M. Jordan, S. Raymond, Anal. Biochem., 27, 205 (1969).