

Г. А. БУЗУН, К. М. ДЖЕМУХАДЗЕ, Л. Ф. МИЛЕШКО

МОЛЕКУЛЯРНАЯ НЕОДНОРОДНОСТЬ ПОЛИФЕНОЛОКСИДАЗЫ В ЧАСТЯХ ПОБЕГА ЧАЙНОГО РАСТЕНИЯ

(Представлено академиком А. И. Опариным 2 XI 1972)

Полифенолоксидаза (О-дифенол : O₂-оксидоредуктаза, ЕС 1.10.3.1) чайного растения является ферментом, состоящим из нескольких компонентов, обладающих разными физико-химическими свойствами (¹⁻⁴). Однако в литературе отсутствуют данные по составу полифенолоксидазы отдельных органов чайного растения, в частности стеблей и листьев. Неизвестно также, меняются ли свойства полифенолоксидазы при развитии побега и его старении. С целью выяснить эти вопросы изучали полифенолоксидазу отдельных частей побега чайного растения.

В работе использовали трехлистные побеги, собранные в Адлерском районе в сентябре месяце. Отделяли почки, нежные вторые листья, огрубевшие третьи листья и нежную часть стебля. Полифенолоксидазу извлекали так, как описано ранее (⁵). Различия состояли в увеличении навески (почки и вторые листья 10 г, третьи листья 30 г и стебли 6 г) и, соответственно, количества буферного раствора и капрона. Экстракты концентрировали сефадексом (⁶) до 5–7 мл и срезу же подвергали гель-фильтрации на сефадексе Г-200 То 2829, уравновешенном 0,02 М К₂Na-фосфатным буфером при pH 7,0. Колонки размером 3,5 см × 50 см были замкнуты поршневыми затворами (⁷). Подачу растворителя осуществляли снизу вверх со скоростью 10–15 мл/час. Объем фракций 5 мл. В колонки вносили по 5 единиц активности полифенолоксидазы (²) в объеме 5 мл. Для калибровки колонок использовали химотрипсиноген, бычий сывороточный альбумин, γ-глобулин человека и синий декстран. Активность полифенолоксидазы в испытуемых растворах и элюатах определяли полярографически (²). Получение экстрактов и гель-фильтрацию проводили при 4°.

Результаты опытов приведены на рис. 1. Сплошная линия, показывающая активность полифенолоксидазы, имеет несколько максимумов. Римскими цифрами обозначены пики, которые были наиболее четко выражены и повторялись при гель-фильтрации препаратов полифенолоксидазы, выделенных из разных частей побега. С помощью электрофореза в полиакриламидном геле было установлено, что с определенным объемом элюции выходят идентичные компоненты. Как видно из рис. 1, высота пиков, полученных при гель-фильтрации, значительно различалась, что свидетельствовало о неодинаковых количествах одних и тех же компонентов полифенолоксидазы в отдельных частях побега. Так, в почках содержится относительно большое количество компонента I. По объему элюции эта фракция имеет молекулярный вес 10⁶ или выше. По-видимому, это какието белковые агрегаты, содержащие полифенолоксидазу. Во вторых листьях и стеблях содержание этой фракции значительно ниже. В третьих листьях эта фракция не обнаруживается. Пики II и V профилей элюции третьих листьев и стеблей выше, чем почек и вторых листьев. Компонента III относительно больше во вторых листьях, хотя соответствующий пик четко выражен на кривых элюции других частей побега. Максимум IV имеется везде, относительно высок он в почках и молодых нежных листьях.

Результаты, полученные при спектрометрировании элюатов (рис. 1, пунктирная линия), свидетельствуют о различиях удельной активности компонентов полифенолоксидазы отдельных частей побега. Так, высокие значения экстинкции показаны при разделении полифенолоксидазы третьих листьев, в то время как элюаты при гель-фильтрации белков стеблей дали слабое поглощение, а почки и вторые листья заняли промежуточное положение.

Мы приводим величины молекулярных весов разных компонентов: I 10^6 или выше, II 253 500, III 116 800, IV 58 600, V 28 400. Эти цифры являются средним арифметическим данных, полученных из профилей элюции (рис. 1). Самый небольшой компонент — это V. Он имеет молекулярный вес около 30 000. Компоненты II, III и IV, по представленным данным, имеют молекулярные веса, кратные 30 000. Эти данные согласуются с полученными ранее (2), когда гель-фильтрации подвергали полифенолоксидазу целых флешей, предварительно разделенную на ДЭАЭ-целлюлозе.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о разноразличиях качества полифенолоксидазы отдельных частей побега, вы-

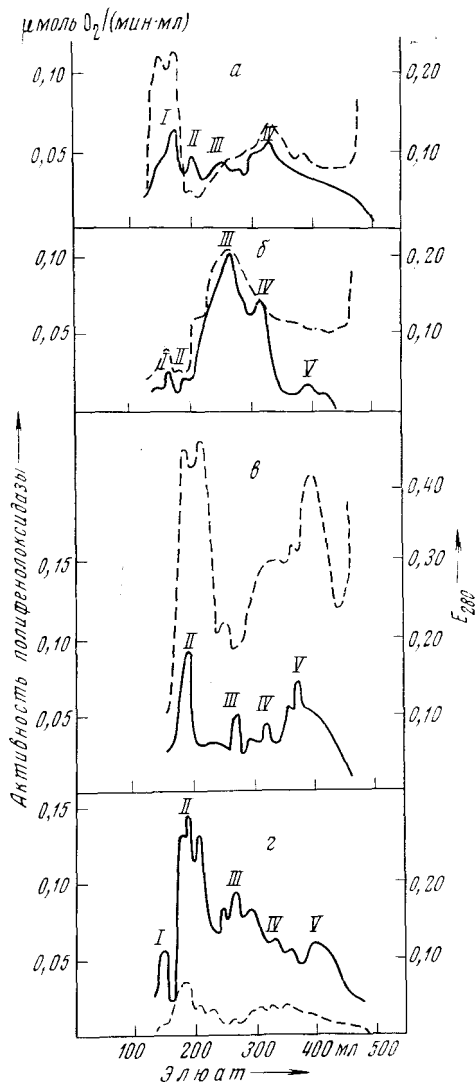


Рис. 1. Разделение полифенолоксидазы почек (а), вторых листьев (б), третьих листьев (в) и стеблей (г) на сефадексе Г-200. Сплошная линия — активность полифенолоксидазы, пунктирная — поглощение при 280 мμ

званной неодинаковым количественным соотношением компонентов. Наблюдаются значительные различия полифенолоксидазы стеблей и листьев, а также происходит существенное изменение фермента при развитии листьев и их огрубении.

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

Поступило
24 X 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ T. Takeo, I. Uritani, *Agr. Biol. Chem.*, **30**, 155 (1966). ² Г. А. Бузун, К. М. Джемухадзе, Л. Ф. Милешко, *Биохимия*, **35**, 1002 (1970). ³ М. А. Бокучава, Г. Н. Пруидзе, *Сообщ. ГрузССР*, **52**, 207 (1968). ⁴ Р. И. Хочолава, К. М. Джемухадзе, Г. А. Бузун, *В сборн. Чай*, 1971. ⁵ Г. А. Бузун, К. М. Джемухадзе, Л. Ф. Милешко, *Прикл. биохим. и микробиол.*, **6**, 345 (1970). ⁶ P. Flodin, V. Gellote, J. Rogath, *Nature*, **188**, 493 (1960). ⁷ Г. Б. Самородова-Бианки, *Физиология и биохимия культурных растений*, **2**, 639 (1970).