

приморских сортов - лизина - 5,5, гистидина - 1,9, аргинина - 10,3, аспарагиновой кислоты - 4,7, серина - 3,8, глицина - 3,8, глутаминовой кислоты - 18,1, треонина - 3,8, аланина - 4,6, тирозина - 4,0, метионина - 1,7, валина - 8,0, фенилаланина - 5,3, лейцинов - 14,4, пролина - 4,0, триптофана - 1,8, цистина - 1,2.

Следует отметить, что белок семян сои дальневосточных сортов - богатый источник незаменимых аминокислот.

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ГЛОБУЛИНАХ СЕМЯН СОИ

И.А.Вайнтрауб, А.Д.Шутов, В.С. Шварц, В.Г. Клименко
(Кишиневский государственный университет)

Оборн и Кэмпбел, выделившие впервые глобулин семян сои, полагали, что он однороден. Последующими исследованиями установлено, что глобулин семян сои представляет собой сложную систему, состоящую из многих компонентов.

Исследования в ультрацентрифуге (Найсмит, Вольф и Бригго и др.) показали, что глобулины семян сои состоят из четырех седиментационных компонентов с константами седиментации, равными приблизительно 2S, 7S, 11S и 15S. Последний скорее всего является не самостоятельным компонентом, а продуктом агрегации 11S белка.

При хроматографии на гидроксилапатите глобулины семян сои были разделены на 4 фракции (Вольф и др.). Из них фракция А содержит 2S белок, фракция С - 11S белок, фракция D - 7S белок. В состав фракции В входят белки с константами седиментации 2S и 7S. 7S белок фракции D отличается от 7S белка фракции В по ряду свойств и в частности способностью димеризоваться при низкой ионной силе (Вольф и др.)

Изменив характер градиента и скорость элюирования, мы смогли обнаружить во фракции В четыре пика. Пики VI, VII, VIII соответствовали 7S, а пик V - 2S белку. В приведенных выше работах белок определяли по экстинкции при 279 мμ. Однако, как показали более тщательное исследование, проведенное в нашей лаборатории,

фракция А содержит заметное количество низкомолекулярного вещества, поглощающегося ультрафиолетовом свете. Содержание же белка во фракции А глобулинов семян сои очень мало. Пики VII и $VIII$ обусловлены пептидопротеидами и поэтому при определении по E279 содержание белка в них также очень завышено. При электрофорезе в акриламидном геле пиков VII и $VIII$ мы обнаружили значительное число зон (не менее 10).

Таким образом, существует, очевидно, значительное число компонентов с константой седиментации, близкой к $7S$, однако основную часть $7S$ белка составляет $7S$ белок фракции D.

Многокомпонентность глобулинов семян сои выдвигает на первый план проблему выделения чистых компонентов, ибо ввиду сложности и множественности реакций отдельных компонентов исследование неочищенных фракций имеет лишь ограниченную ценность. В решении этой проблемы за последнее время достигнуты значительные успехи благодаря применению хроматографических методов.

При выделении $II S$ белка исходят из нерастворимой на холоду фракции (Бриггс и Мэнн). Дальнейшую очистку мы проводили хроматографией на гидроксилapatите, а также зонным осаждением на сефадексе в градиенте $(NH_4)_2SO_4$. Оба эти метода полностью удаляют примеси $2S$ и $7S$ компонентов, но не позволяют избавиться от высокомолекулярных агрегатов $II S$ белка. Препарат, очищенный от агрегатов, получают гелевой фильтрацией на сефадексе Г-200 с последующим удалением $7S$ компонента хроматографией на гидроксилapatите (Митсуда и др.). $7S$ белок, очевидно, соответствующий белку фракции D, выделен фракционированием висаливаемым $(NH_4)_2SO_4$ и осаждением на холоду (Робертс и Бриггс) и гелевой фильтрацией (Кожима).

Для выделения $2S$ белка была применена хроматография на гидроксилapatите (Вацтрауб) и гелевая фильтрация (Кожима). Более чистые препараты $7S$ белка фракции D и $2S$ белка со значительно лучшими выходами получают при комбинировании нескольких методов очистки. Так, для выделения $2S$ белка нами предложена следующая методика: фракция глобулинов, висаливаемая $(NH_4)_2SO_4$ при 40% насыщения, хроматографируют на гидроксилapatите для удаления примесей фрак-

ций А, С и D. Полученную фракцию В хроматографируют на ДЭАЭ-целлюлозе для удаления примесей 7 S белка и производят окончательную очистку гелевой фильтрацией.

Таким образом, благодаря применению хроматографических методов, проблему выделения основных по количеству компонентов глобулинов семян сои можно считать решенной.

Свойства очищенных глобулиновых компонентов семян сои еще сравнительно мало изучены. Определены их молекулярные веса, N -концевые аминокислоты (Вольф и Бриггс, Робертс и Бриггс, Вайнтрауб), содержание в них углеводов (Вольф и др., Шварц и Вайнтрауб), аминокислотный состав 7 S белка (Робертс и Бриггс) и II S белка (Шварц и Вайнтрауб).

Значительный интерес представляют исследования четвертичной структуры II S белка. Седиментационные исследования показали, что II S белок диссоциирует с образованием 2 S субъединиц при высокой ионной силе, при низких и высоких значениях pH, под действием мочевины и детергентов (Вольф и Бриггс, Кротович и др.). Наличие в II S белке нескольких различных N -концевых аминокислот (Вайнтрауб, Митчелл и др.) указывает на вероятную неоднородность субъединиц II S белка. Более precise данные о неоднородности субъединиц получены нами при электрофорезе на акриламидном геле II S белка, диссоциированного мочевиной. Показано, что в этом случае он образует значительное число зон.

В отличие от нативного II S белка, образующего при хроматографии на ДЭАЭ-целлюлозе один пик, при хроматографии диссоциированного II S белка получено 9 фракций. При электрофорезе в акриламидном геле одна из полученных фракций оказалась однородной, остальные же состояли из нескольких компонентов. Порядок элюирования фракций соответствовал подвижностям их электрофоретических компонентов. Соотношение подвижностей в гелях различной концентрации приблизительно одинаково для всех электрофоретических компонентов. Это подтверждает седиментационные данные об отсутствии существенных различий в молекулярных весах субъединиц. Выделенные хроматографически фракции отличаются также и по составу N -концевых аминокислот.

Полученные данные подтверждают неоднородность субъединиц II S белка семян сои и намечают пути их разделения.

ФРАКЦИОНИРОВАНИЕ БЕЛКОВ СОИ СОРТА ПРИМОРСКАЯ 529

Н.П. Выхрестюк, И.А. Матяж

(Биолого-почвенный институт ДВ филиала СО АН СССР)

Белки сои урожая 1965 г. сорта Приморская 529 извлекались из обезжиренной муки посредством экстракции ее водой при комнатной температуре и 10% NaCl и 0,1 NaOH при 0°. Установлено, что в воду переходит до 60%, в солевой раствор - до 80% и в щелочной раствор - 89% соевого белка. В ультрафиолетовом свете все 3 экстракта имеют одинаковые максимумы поглощения - при 225 $\text{m}\mu$; 259 $\text{m}\mu$ и 277 $\text{m}\mu$. Ни водная, ни щелочная вытяжки не поддаются четкому разделению в фосфатном, боратном и вероналовом буфере при разных значениях pH. Лучшее разделение белков при помощи электрофореза на бумаге получено в веронал-мединаловом буфере pH 8,6. Солевая вытяжка делится при 200-220 на 6-7 фракций в этом буфере, в камере, разработанной институтом им. А.А. Богомольца, для бумажного электрофореза, в течение 12-18 часов.

Выделение белков проводилось из водного экстракта подкислением его при 0° до pH 4,5 20%-ной уксусной кислотой и насыщением сернокислым аммонием до 60% от полного; из солевого экстракта - подкислением 20%-ной уксусной кислотой и насыщением сернокислым аммонием до 90% от полного; из щелочного экстракта - насыщением сернокислым аммонием при 50-60 и 90% насыщения. Все полученные белковые фракции неоднородны при разделении их электрофорезом на бумаге.

Фракционирование белков сои на колонке с ДЕАЕ - сефадексом А-50 в 0,05 М боратном буфере pH 7,4 показало их очень большую неоднородность. Так, солевая вытяжка в боратном буфере делится на 20-25 фракций, среди которых 7 присутствует постоянно в большом количестве, остальные - в малом.

Изучается поведение выделенных с колонки фракций с помощью электрофореза на бумаге и их аминокислотный состав.