

А. В. БЛАГОВЕЩЕНСКИЙ и А. Ю. КОЛОГРИВОВА
**АКТИВИРОВАНИЕ КАТАЛАЗЫ БИОГЕННЫМИ
СТИМУЛЯТОРАМИ**

(Представлено академиком А. А. Рихтером 23 II 1945)

Согласно В. П. Филатову ⁽¹⁾, когда клетки находятся в условиях, близких к гибели, например, длительно охлаждаются до температур несколько выше 0°, в них образуются вещества, противодействующие гибели и названные В. П. Филатовым факторами сопротивления или биогенными стимуляторами.

Первая попытка дать биохимическое истолкование этим явлениям стимуляции была сделана одним из нас еще в 1939 г. Опыт с изучением активности и качества каталазы у ростков огурца, охлаждавшихся до +1° в течение недели, показал, что активность каталазы увеличивалась у них по сравнению с контролем и одновременно уменьшалось значение термических коэффициентов, т. е. обнаруживалось повышение качества каталазы, увеличение ее энергетического уровня.

Константы скорости реакции расщепления перекиси водорода увеличились для 15° с $29,7 \cdot 10^{-4}$ у контрольных до $43,2 \cdot 10^{-4}$ у охлажденных и для 25° с $54,3 \cdot 10^{-4}$ у контрольных до $63,0 \cdot 10^{-4}$ у охлажденных. Значения коэффициента Вант-Гоффа изменились, следовательно, от 1,83 у контрольных до 1,46 у охлажденных, и значение коэффициента Аррениуса упало, соответственно, с 10 300 гкал до 6400 гкал.

Результаты этого опыта, однако, не давали ответа на вопрос, меняется ли при охлаждении непосредственно белок каталазы или же первичным является образование особых веществ, действующих на фермент и повышающих его активность и качество. Положительный ответ в последнем смысле был получен в опытах с исследованием вытяжек из ростков маша (*Phaseolus aureus* Roxb.), охлаждавшихся до +2° в течение 10 дней.

Ростки были растерты, сок отфильтрован, белки свернуты кипячением. Жидкость подвергалась автоклавированию при 120° и не содержала ни белков, ни ферментов, в частности, совершенно не обладала способностью разлагать перекись водорода. Терапевтическое действие этой вытяжки было проверено В. В. Скородинской и дало определенные положительные результаты (при излечении пендинской язвы).

Покоящиеся семена и ростки различного возраста маша (*Phaseolus aureus* Roxb.) растирались с фосфатной буферной смесью рН=7,0. Полученная суспензия делилась на две части, к одной из которых добавлялся препарат стимулятора, а к другой — вода. Активность каталазы определялась газометрически. Для вычисления констант скорости реакции брались средние из трех параллельных определе-

ний. Вычисление производилось по формуле $k = \frac{1}{t_1} \ln \frac{a}{a-x}$. Из полученных результатов вычислялись значения $Q_{10} = \frac{k_2}{k_1}$ и $\mu = R \ln Q_{10} \frac{T_1 T_2}{10}$ гкал.

Опыт 1. Навески тонко растертых проросших семян в 250 мг смешивались с 25 мл буферной смеси. В контрольной серии к этой смеси добавлялось 2 мл воды, в опытной — 2 мл стимулятора. Для отдельного определения бралось 5 мл. Количество кислорода, выделяющегося при полном разложении перекиси водорода, $a = 35,5 \text{ см}^3$. Отсчеты через каждые 30 сек. Температура 15 и 25° (табл. 1).

Таблица 1
Кинетика действия каталазы семян под влиянием биогенных стимуляторов

Время t''	Выделение O_2 в см^3				$k \cdot 10^5$			
	контроль		опыт		контроль		опыт	
	15°	25°	15°	25°	15°	25°	15°	25°
30	7,2	11,4	8,3	11,6	754	1289	886	1317
60	11,6	18,3	12,4	18,0	658	1168	735	1177
90	15,0	21,3	16,2	21,2	610	1017	676	1009
120	17,8	23,2	19,1	22,8	579	882	643	855
150	20,0	23,9	21,5	23,8	552	745	620	739
	Среднее				631	1020	708	1019
	Q_{10}				1,62		1,44	
	μ гкал				8400		6400	

Опыт 2. 3 г пятидневных ростков тонко растертых с 25 мл буферной смеси, 5 мл стимулятора (или воды). $a = 30,55 \text{ см}^3$ (табл. 2).

Таблица 2

t''	Выделение O_2 в см^3						$k \cdot 10^5$					
	контроль			опыт			контроль			опыт		
	10°	15°	20°	10°	15°	20°	10°	15°	20°	10°	15°	20°
30	8,85	9,3	10,35	10,25	10,05	11,55	1136	1283	1377	1358	1327	1572
60	12,8	14,25	16,0	14,35	15,15	16,70	923	1043	1232	1159	1137	1313
90	15,8	17,25	18,75	16,30	17,90	19,15	806	920	1056	864	976	1094
120	17,65	19,05	20,35	17,85	19,30	20,40	716	811	910	729	829	914
150	18,7	19,85	21,15	18,90	20,40	20,95	629	696	783	640	732	768
180	19,31	20,3	21,6	19,35	20,90	21,45	—	—	—	—	—	—
	Среднее						842	951	1072	950	1000	1132
	Q_{10}						1,27			1,19		
	μ гкал						3900			2900		

Для следующих нескольких опытов ограничимся приведением только средних значений $k \cdot 10^5$ (табл. 3).

Данные относятся к покоящимся семенам (опыт № 3) и к семенам, набухавшим в течение ночи (опыты № 4 и 5).

Таким образом, во всех приведенных опытах, так же как и в опыте с каталазой огурцов активность фермента при действии стимулятора возрастала и одновременно возрастало и качество. Можно было предположить, что увеличение качества только кажущееся, так как при 25° наблюдалось в большинстве опытов в присутствии стимулятора некоторое снижение константы скорости реакции, что могло говорить о разрушении фермента при этой температуре. Это обстоятельство заставило нас предпринять спе-

Таблица 3

Константы скорости и термические коэффициенты каталазы при воздействии биогенных стимуляторов

№ опыта	$k \cdot 10^5$				Q_{10}		μ гкал	
	контроль		опыт		контроль	опыт	контроль	опыт
	15°	25°	15°	25°	15°	25°	15°	25°
3	438,2	773,3	502,2	770,5	1,76	1,53	9600	7200
4	280,8	534,2	305,0	563,9	1,90	1,85	10900	10500
5	288,5	573,9	301,7	410,3	1,99	1,36	11700	5200

циальное исследование по изучению термостабильности каталазы в отсутствие и в присутствии биогенных стимуляторов.

Набухшие в воде семена маша тщательно растирались с буферной смесью и смешивались с раствором стимулятора (в контрольном опыте с равным количеством воды). Определения активности проводились немедленно после приготовления смеси и затем через 30 мин., 1 и 2 часа стояния смеси при 15 и 25°.

Приводим полученные значения констант скорости $k \cdot 10^5$ (табл. 4).

Таблица 4

Тепловое инактивация каталазы

t''	Без стимулятора		Со стимулятором	
	15°	25°	15°	25°
	Начало опыта			
30	331,1	890,9	341,2	514,5
60	293,8	573,8	299,9	446,3
90	278,6	522,9	352,6	366,1
120	268,5	459,0	259,0	379,3
150	255,3	423,1	255,9	345,2
Среднее . . .	285,5	573,9	301,7	410,3
	30 минут стояния			
30	308,2	401,1	321,2	311,4
60	271,6	354,5	310,8	292,8
90	250,4	348,5	281,4	270,4
120	250,6	316,8	272,0	263,8
150	232,5	296,7	255,8	245,3
Среднее . . .	262,7	343,5	288,2	276,7
	1 час стояния			
30	207,8	374,1	248,3	342,7
60	197,7	397,7	241,4	344,2
90	190,8	371,6	213,9	327,9
120	174,5	338,4	201,7	317,1
150	164,1	317,4	191,7	284,5
Среднее . . .	187,0	359,8	219,4	323,3
	2 часа стояния			
30	207,8	505,2	227,7	332,0
60	203,1	479,0	241,4	350,3
90	194,7	459,8	225,6	336,6
120	183,3	418,3	217,3	313,6
150	168,9	396,0	204,5	299,3
Среднее . . .	191,6	451,7	223,3	326,4

Сопоставляя найденные значения констант скорости для ката-
лазы без стимулятора и в присутствии стимулятора, находим, что
в последнем случае фермент становится значительно более устой-
чивым при температуре 15°, но менее устойчивым при 25°, что
оставляет открытым вопрос о повышении качества каталазы в наших
опытах.

Поступило
23 II 1945

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ В. П. Филатов, Тканевая терапия, Ташкент, 1943.