

Академик А. И. ОПАРИН и Т. Н. ЕВРЕИНОВА

### ОБРАЗОВАНИЕ МАЛЬТОЗЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ НА ГЛЮКОЗО-1-ФОСФАТ ФОСФОРИЛАЗЫ И АМИЛАЗЫ

Фосфорилаза и амилаза — ферменты, принимающие участие в синтезе и распаде углеводов. Они широко распространены в растительном мире. Их активность меняется на разных стадиях развития растений (<sup>1,4</sup>) в связи с изменениями состояния протоплазмы. Для того чтобы понять механизм этих изменений, мы поставили перед собой задачу — изучить совместное действие указанных ферментов на модельных опытах как в гомогенной, так и в гетерогенной среде.

В данном сообщении изложены результаты опытов, проведенных в гомогенных растворах со смесью  $\beta$ -амилазы и фосфорилазы. Субстратом для их действия служила кристаллическая двукальциевая соль глюкозо-1-фосфата. Фосфорилаза была получена из картофеля сорт Лорх, по методу, описанному у Кузина (<sup>3</sup>). Амилаза была выделена из соевых бобов по способу Таубера (<sup>5</sup>). Действие фосфорилазы устанавливалось по отщеплению неорганического фосфора, который определялся методом Фиске и Зубарова. Колориметрирование производилось в фотометре Пульфриха (<sup>2</sup>). Действие  $\beta$ -амилазы испытывалось на растворимом крахмале с определением редуцирующих веществ по Бьерри (микро-Бертран). Активность ферментов была проверена по общепринятым методам. В отдельности каждый фермент действовал согласно описаниям, имеющимся в литературе.

Таблица 1

Результаты совместного действия  
фосфорилазы и  $\beta$ -амилазы на  
глюкозо-1-фосфат

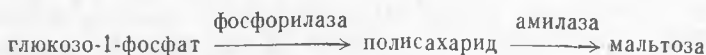
№ опыта	Навески глюкозо-1-фосфата в мг	% глюкозо-1-фосфата, подвергшегося изменению в результате действия ферментов	
		по фосфору	по мальтозе
1	31,03	66	60
2	~32,75	53	34,9
3	40	65,62	70,46
4	40	75,0	69,79
5	40	70,31	69,79

Для изучения совместного действия обоих ферментов в гомогенном растворе составлялась следующая смесь: глюкозо-1-фосфат (30—40 мг), фосфорилаза (1 мл),  $\beta$ -амилаза (10 мг), крахмал (2 мг в

виде затравки), ацетатный буфер  $1/15 M$   $0,1 N NaF$ . Общий объем 15 мл,  $pH=6,0$ , температура  $+20-22^{\circ}C$ . Параллельно ставились контрольные опыты с инактивированными нагреванием ферментами.

По истечении одного часа в смеси производилось определение количества отщепившегося от глюкозо-1-фосфата неорганического фосфора и количества образовавшейся в смеси мальтозы. Последняя определялась по разности редуцирующих веществ до и после 15-минутного гидролиза  $2\% HCl$  на кипящей водяной бане. Если на основании этих данных рассчитать процент глюкозо-1-фосфата, потерявшего свой фосфор при действии фосфорилазы, а также его процент, пошедший на синтез мальтозы, то получаются данные, сведенные в табл. 1.

Количество редуцирующих веществ, определяемых после гидролиза  $2\% HCl$ , было примерно вдвое больше, чем определяемых непосредственно по окончании опыта. Это указывает на образование в растворе дисахаридов типа мальтозы. Для того чтобы убедиться, действительно ли в результате совместного действия фосфорилазы и  $\beta$ -амилазы идет образование мальтозы, было проведено получение озазонов. Из реагирующей смеси до ее гидролиза был выделен озазон мальтозы с температурой плавления  $+207-209^{\circ}C$ , а после гидролиза--озазон глюкозы с температурой плавления  $+159-160^{\circ}C$ . Исходя из данных опыта, можно себе представить, что при совместном действии ферментов процессы изменения глюкозо-1-фосфата идут следующим образом:



В зависимости от изменения активности ферментов соотношение звеньев этой цепи может меняться.

Поступило  
26 X 1947

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> А. И. Опарин и С. Б. Каден, Биохимия, **10**, 26 (1945). <sup>2</sup> А. Л. Курсанов, Обратимое действие ферментов в растительной клетке, 1940. <sup>3</sup> А. М. Казини и В. И. Иванов, Биохимия, **10**, 36 (1945); **11**, 273 (1946). <sup>4</sup> L. Bliss, Cereal Chemistry, **23**, 177 (1946). <sup>5</sup> S. Laufer, H. Tauber and C. Davis, *ibid.*, **21**, 26 (1944).