

С. М. ПРОКОШЕВ и Е. И. ПЕТРОЧЕНКО

## ВЗАИМООТНОШЕНИЕ БЕЛКА И АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ В КЛУБНЯХ КАРТОФЕЛЯ

(Представлено академиком А. И. Опариным 10 V 1948)

Явление образования белка в порезанных клубнях картофеля впервые было установлено русским ученым В. Залесским в 1901 г. (1). Установленный нами (2) параллелизм между интенсивностью образования белка и аскорбиновой кислотой ставит на очередь выяснение характера причинной связи образования этой кислоты со структурой и метаболизмом плазменных белков в растительных тканях. Постановка этого вопроса тем более своевременна, поскольку в области биохимии животной клетки уже получены весьма интересные данные о наличии связи аскорбиновой кислоты с клеточными белками (3).

Прежде всего казалось интересным проследить, какое влияние оказывает на ход раневых реакций инфильтрация в растительную ткань раствора аскорбиновой кислоты.

Объектом исследования являлись цилиндрические кусочки мякоти средним весом 0,8 г, перед постановкой опыта вырезанные пробочным сверлом из картофельных клубней, тщательно обмытые дистиллированной водой и обсушенные чистым полотном. Прирост содержания аскорбиновой кислоты в кусочках повышается прямо пропорционально концентрации инфильтрируемого раствора в исследованных пределах 0,02—0,2 М.

Инфильтрированная аскорбиновая кислота прочно адсорбируется клетками, поскольку трехкратное промывание кусочков после инфильтрации не уменьшает прироста ее содержания. В кусочках, инфильтрированных раствором аскорбиновой кислоты и оставленных после этого на несколько дней на воздухе при комнатной температуре, раневой биосинтез ее либо полностью прекращается, если уровень ее содержания в результате инфильтрации повысился до 30—43 мг %, либо заметно ослабляется, если уровень содержания при инфильтрации повысился меньше, только до 20 мг % (табл. 1 и рис. 1).

При инфильтрации в кусочки 0,2 М раствора аскорбиновой кислоты вначале создается исключительно высокое содержание витамина, несвойственное ткани клубней, которое резко снижается в первые же сутки

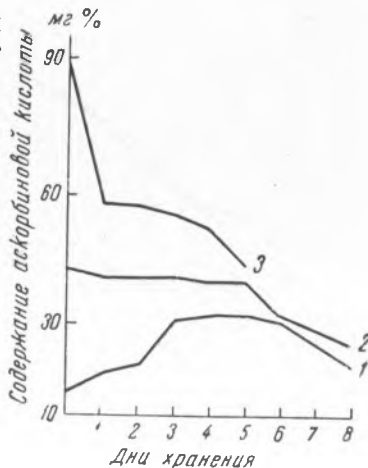


Рис. 1. Динамика содержания аскорбиновой кислоты в кусочках клубней, инфильтрированных водой (1), 0,05 М раствором аскорбиновой кислоты (2) и 0,2 М раствором аскорбиновой кислоты (3)

до 50—55 мг% — максимального уровня содержания, свойственного наиболее молодым клубням, стабилизируется в последующие трое суток на этом уровне, а затем начинает постепенно снижаться (рис. 1). Дегидроаскорбиновая кислота, инфильтрированная в кусочки

Таблица 1  
Влияние инфильтрации 0,02 М раствора аскорбиновой кислоты (АК) на раневой биосинтез ее в кусочках клубней

№ опыта	Содержание АК в мг %				Прирост АК в мг% за 3 дня хранения кусочков, инфильтрированных	
	сразу после инфильтрации		после 3 дней хранения кусочков, инфильтрированных		водой	раствором АК
	воды	раствора АК	водой	раствором АК		
1	17,8	31,4	25,7	31,7	+ 7,9	+ 0,3
2	11,3	20,5	28,1	33,9	+16,8	+13,4

клубней, быстро редуцируется, значительно повышая уровень содержания аскорбиновой кислоты в ткани, и тем самым также ослабляет ее раневой биосинтез (рис. 2).

Приведенные данные свидетельствуют о том, что образование аскорбиновой кислоты в результате раневого воздей-

ствия на ткань клубня определяется прежде всего возрастанием потребности клеток в этом веществе. Частичное или полное покрытие этой возросшей потребности клеток путем инфильтрации раствора аскорбиновой кислоты вызывает ослабление или полное прекращение ее биосинтеза, а избыток введенной аскорбиновой кислоты быстро разрушается.

Данные о влиянии инфильтрации раствора аскорбиновой кислоты на белковый обмен в кусочках клубней приведены в табл. 2. Следует отметить, что переход азота в воду или в раствор в процессе инфи-

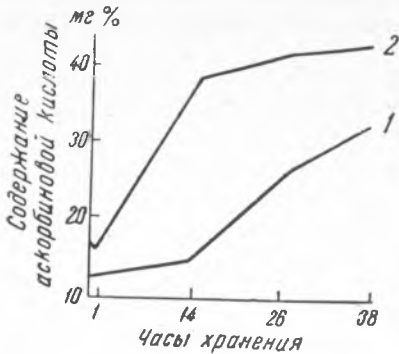


Рис. 2. Динамика содержания редуцированной аскорбиновой кислоты в кусочках клубней, инфильтрированных водой (1) и раствором дегидроаскорбиновой кислоты (2)

трации весьма незначителен, в пределах 1—2% от всего азота в кусочках клубней. Кроме того, непосредственно после инфильтрации воды или раствора аскорбиновой кислоты не обнаруживается существенных различий в распределении азота по отдельным фракциям.

Из этих данных следует, что характерное направление белкового обмена в ткани клубней, обусловленное раневым раздражением, именно синтез белка и понижение его растворимости, практически не изменяется в результате введения путем инфильтрации аскорбиновой кислоты. На основании этого можно заключить, что изменение структурного состояния плаз-

менных белков и синтез белка являются первичными и не зависимыми от содержания аскорбиновой кислоты, но уровень содержания последней, повидимому, зависит от структурного состояния белков и белкового обмена.

За последние годы в структурно-химических исследованиях белков широко стали применяться вещества, вызывающие обратимую денатурацию или задерживающие денатурацию белков<sup>(4)</sup>. Хорошо известно, что весьма разнообразные физические и химические факторы действуют сходным образом на растворы чистых белков и на белковую основу протоплазмы<sup>(5)</sup>. Тем самым можно допустить, что вещества, обладаю-

щие свойством изменять денатурационно-ренативационное равновесие белков, находящихся в растворе, должны оказать сходное действие и на белки протоплазмы при введении их путем инфильтрации в живую клетку, разумеется, при условии, что эти вещества не будут обладать каким-либо специфическим токсическим действием на клетку, а также не будут непосредственно и быстро включаться в метаболизм клетки.

Предварительная проверка показала возможность использования для этой цели мочевины в качестве денатурирующего агента, поскольку инфильтрация в кусочки клубней растворов этого вещества в пределах до 0,5 М включительно не оказывала какого-либо токсического действия, но более высокие концентрации уже действовали токсически.

Указанный предел биологически применимых концентраций мочевины лежит значительно ниже тех концентраций, которые используются для денатурации белковых растворов (3—6 мол.).

Поскольку денатурационный эффект мочевины на внутриклеточные белки безусловно должен иметь аддитивный характер, можно ожидать, что и сравнительно невысокие концентрации мочевины окажут заметное действие. Наоборот, применение салицилата натрия оказалось невозмож-

Таблица 2

Влияние инфильтрации 0,05 М раствора аскорбиновой кислоты (АК) на белковый обмен в кусочках клубней за 4 дня хранения их при комнатной температуре

Форма азота	Прирост (+) или уменьшение (-) в мг на 100 г кусочков, инфильтрированных	
	водой	раствором АК
Нерастворимый N . . . . .	+17,8	+15,5
Растворимый белковый N . . . . .	+ 8,3	+14,4
Небелковый N . . . . .	-26,0	-29,9
В том числе $\alpha \cdot \text{NH}_2 \cdot \text{N}$ . . . . .	-21,5	-24,0

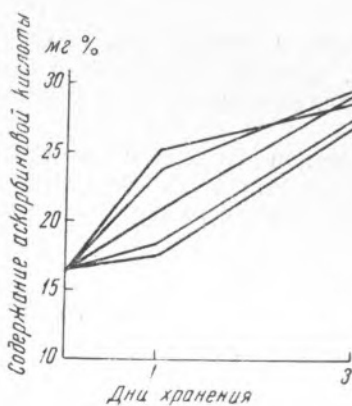


Рис. 3. Влияние инфильтрации в кусочки клубней растворов мочевины на биосинтез аскорбиновой кислоты: 1 — инфильтрация воды, 2 — 0,05 М мочевины, 3 — 0,10 М мочевины, 4 — 0,20 М мочевины, 5 — 0,50 М мочевины

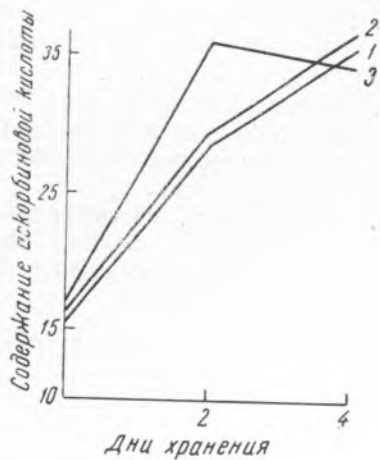


Рис. 4. Влияние инфильтрации в кусочки клубней 0,5 М раствора мочевины (3), 0,02 М раствора каприлата (2) и воды (1) на биосинтез аскорбиновой кислоты

ным, ибо даже такая низкая концентрация инфильтрируемого раствора салицилата как 0,05 М оказывала резкое токсическое действие. В качестве антиденатурирующего агента был применен каприлат натрия

в концентрации инфильтрируемого раствора 0,02 М, т. е. примерно равной тем концентрациям, которые применяются в исследованиях над белковыми растворами. Влияние инфильтрации растворов этих веществ на ход раневого биосинтеза аскорбиновой кислоты в кусочках клубней представлено типичными результатами двух опытов на рис. 3 и 4.

Из этих данных следует, что введение мочевины в кусочки клубней сильно ускоряет образование аскорбиновой кислоты, причем это ускорение особенно четко проявляется при коротких сроках экспозиции. Так например, в кусочках, инфильтрованных водой, за 24 часа хранения образовалось 2,9 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub> аскорбиновой кислоты, тогда как в кусочках, инфильтрованных 0,5 М раствором мочевины, за тот же срок и при тех же условиях хранения кусочков образовалось 9,8 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub> аскорбиновой кислоты, т. е. в 3,4 раза больше. Интересно, что стимулирующий эффект мочевины возрастает пропорционально концентрации вводимого раствора денатурирующего агента, как это ясно видно из хода кривых на рис. 3. Однако введение мочевины не изменяет максимального уровня накопления аскорбиновой кислоты, а лишь только значительно ускоряет достижение этого уровня, после чего начинается снижения содержания аскорбиновой кислоты (рис. 4). В этом отношении действие инфильтрованной мочевины существенно отличается от действия газообразных веществ (сероводорода, летучих веществ чеснока), которые не только ускоряют образование аскорбиновой кислоты, но и повышают максимальный уровень ее накопления (6).

Наоборот, инфильтрация раствора каприлата не оказывает никакого влияния на ход образования аскорбиновой кислоты (рис. 4). Возможно, что это объясняется либо недостаточной концентрацией антиденатуратора либо быстрым включением каприлата в метаболизм возбужденных раневым воздействием клеток клубня. Последнее предположение основывается на обнаружении свободной каприловой кислоты в картофеле (7).

Приведенные данные позволяют сделать следующие выводы:

1. Образование аскорбиновой кислоты в ткани клубней в результате раневого воздействия определяется возрастанием потребности клеток в этом веществе.

2. Возрастание этой потребности связано с изменением структуры плазменных белков и белковым обменом, причем изменения в белковом комплексе являются первичными, а биосинтез аскорбиновой кислоты производным от них.

3. Повидимому, важнейшим изменением в белковом комплексе, наряду с синтезом белка, является нарастание денатурационного состояния, скорость которого и определяет интенсивность биосинтеза аскорбиновой кислоты.

Институт биохимии им А. Н. Баха  
Академии Наук СССР

Поступило  
7 V 1948

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> W. Zaleski, Ber. Deutsch. Bot. Ges., **19**, 331 (1901). <sup>2</sup> С. Прокошев и Е. Данчева, Биохимия, **12**, 356 (1947). <sup>3</sup> Б. Гольдштейн и Д. Волькензон, там же, **12**, 89 (1947). <sup>4</sup> М. Ансон, Advances in Protein Chem., **11**, 361 (1945). <sup>5</sup> Д. Насонов и В. Александров, Реакция живого вещества на внешние воздействия, М.-Л., 1940. <sup>6</sup> С. Винокуров и Р. Казначей, Биохимия, **12**, 350 (1947). <sup>7</sup> K. Windisch, Chem. Zentralbl., **1**, 894 (1892).