

Т. Л. ДЕИЧ и действительный член АН Венгерской Народной Республики
Э. Т. СОРЕНИ

АМИНОКОНЦЕВЫЕ ГРУППЫ ГЛИАДИНОВ И ИХ ИЗМЕНЕНИЕ ПОД ВЛИЯНИЕМ МЕЖРОДОВОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ

(Представлено академиком А. И. Опариным 28 VI 1954)

Огромное количество накопленных иммунохимией данных, свидетельствующих о видовой специфичности белков, указывает на то, что видовая специфичность должна иметь свою основу в химической структуре белков.

С другой стороны, небольшое количество накопленных данных об аминокислотном составе, физико-химических константах и биологических функциях индивидуальных, химически гомогенных белков показывает, что белки различной биологической функции одного и того же вида животных или растений отличаются друг от друга значительно больше, чем белки идентичной функции даже самых отдаленных видов. Поэтому для расшифровки, видимо, тонкой химической основы видовой специфичности недостаточно определить аминокислотный состав, а необходимо установить также последовательность аминокислотных остатков гомогенных белков идентичной функции, изолированных из различных видов.

Первым и пока скромным шагом на этом пути может служить определение концевых аминокислотных групп белков, которое позволяет судить одновременно и о количестве открытых полипептидных цепей. Зангер (1) разработал метод с применением 1:2:4-фтординитробензола для определения аминоконцевых групп. При помощи этого метода было установлено видовое отличие у гемоглобинов (2), миоглобинов (3) и протаминов (4). Между тем не обнаружено отражение видовой специфичности на аминоконцевых группах сывороточного альбумина (5) и *d*-глицеринальдегид-3-фосфат-дегидрогеназы дрожжей и кролика (6). Цель настоящей работы — установить аминоконцевые группы некоторых глиадинов.

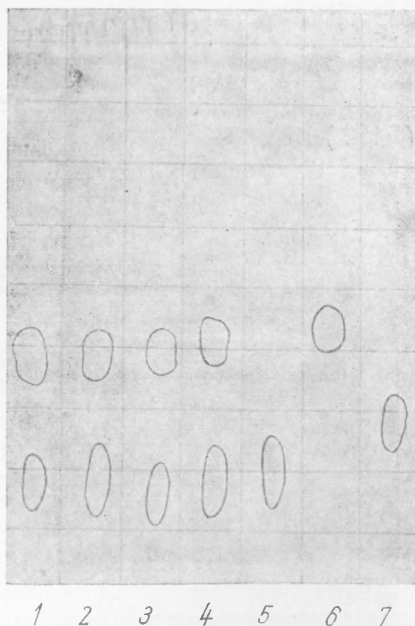


Рис. 1. Хроматограмма водной фазы гидролизата из ДНФ-глиадинов: 1 — *Triticum durum*, 2 — *Triticum vulgare*, 3 — продажной пшеничной муки. Контроль: 4 — инсулин, 5 — эпислон-ДНФ-лизин, 6 — N-ДНФ-гистидин, 7 — bis-ДНФ-гистидин

Глиадины были изолированы из следующих видов злаков: *Triticum durum* «tavaszi», *Triticum vulgare* «tavaszi», *Triticum turgidum* v. *Linneanum*; *Secale cereale* «Fleischmann», «Lovászpatonai», «Ovári»

Таблица 1
Определение аминоконцевых групп глиадинов

	Колич. ДНФ-глиадина в мг	Колич. ДНФ-фенилаланина в мг	ДНФ-фенилаланин г/2500	Число концевых групп
<i>Triticum durum</i>	81,7	1,0	335	1,0
	128,5	1,9	410	1,2
	111,0	1,6	398	1,1
<i>Triticum vulgare</i>	75,7	1,5	545	1,6
	72,8	1,9	660	2,0
	71,3	1,9	700	2,1
<i>Triticum turgidum</i>	104,0	0,6	169	0,5
	70,0	0,45	149	0,45
	72,0	0,47	181	0,55
Пшенично-ржаной гибриды «Triticale Martonvásár № 1»	35,0	0	0	0
	100,0	0	0	0
	44,0	0	0	0
	55,0	0,14	70	0,2

и пшенично-ржаной гибриды «Triticale Martonvásár. № 1», полученный Д. Редси и А. Киш в Институте растениеводства в Мартонвашаре (7).

Изолирование глиадинов было проведено по методу Осборна в модификации Дилл и Альсберг (8). С целью дальнейшей очистки полученные по указанному методу препараты, растворенные в 70% спирте, сохраняют при 0° в течение 10 дней, затем отфильтровывают от небольшого количества образовавшегося осадка, осаждают абсолютным спиртом, центрифугируют, промывают спиртом, эфиром и высушивают в вакуум-эксикаторе.

Определение аминоконцевых групп производилось по методу Зангера, модифицированному одним из нас (9). Глиадин в бикарбонатной среде механически встряхивают с 1:2:4-фтординитробензолом, динитрофенил (ДНФ)-глиадин осаждают водой, центрифугируют, промывают спиртом,

эфиром и высушивают в вакуум-эксикаторе. ДНФ-глиадины гидролизуют в 20% соляной кислоте в запаянной стеклянной трубке в течение 16 час. при 110°. Гидролизаты экстрагируют эфиром. Как водную, так и эфирную фазу высушивают при помощи вакуумной дистилляции.

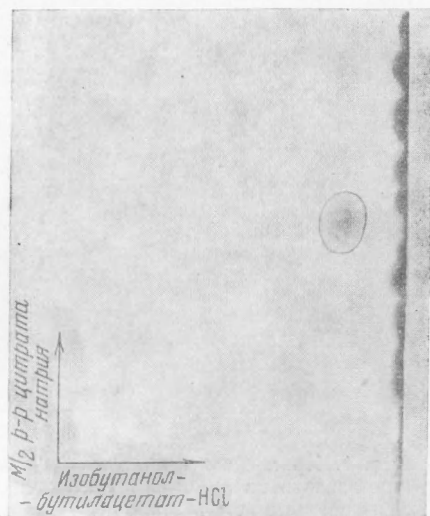


Рис. 2. Хроматограмма эфирной фазы гидролизата из ДНФ-глиадина *Triticum turgidum*

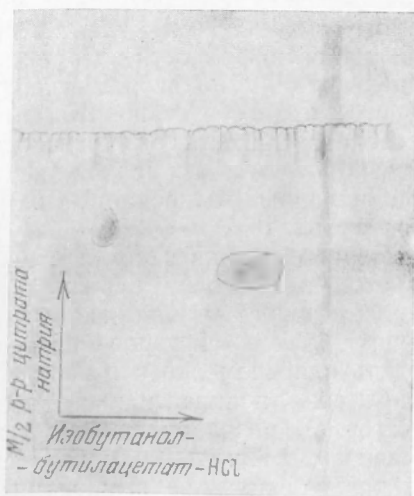


Рис. 3. Хроматограмма эфирной фазы гидролизата из ДНФ-глиадина *Secale cereale* «Ovári»

эфиром и высушивают в вакуум-эксикаторе. ДНФ-глиадины гидролизуют в 20% соляной кислоте в запаянной стеклянной трубке в течение 16 час. при 110°. Гидролизаты экстрагируют эфиром. Как водную, так и эфирную фазу высушивают при помощи вакуумной дистилляции.

Остаток водной фазы растворяют в дистиллированной воде, остаток эфирной фазы — в этилацетате.

Идентификация ДНФ-аминокислот проводилась при помощи двухмерной бумажной хроматографии. В качестве растворителя был применен М/2 раствор цитрата натрия рН 6,4 в одном направлении, и смесь изобутанол-бутилацетат-соляная кислота (2%) в пропорции 5:3:2 во втором направлении. При помощи этого метода на фильтровальной бумаге «Macherey — Nagel 619. e. h.» хорошо разделяются ДНФ-аминокислоты, растворимые в эфире ⁽¹⁰⁾. Для проверки описанного метода мы выбрали два белка: инсулин, концевые группы которого хорошо известны ⁽¹⁾, и яичный альбумин, не содержащий аминоконцевых групп ⁽¹¹⁾. В соответствии с литературными данными у инсулина в качестве аминоконцевых групп мы обнаружили фенилаланин и глицин, у яичного же альбумина аминоконцевых групп обнаружить не удалось.

Результаты исследования

Водная фаза гидролизатов всех исследованных ДНФ-глиадинов содержала только лишь эпсилон-ДНФ-лизин и N-ДНФ-гистидин, что соответствует остаткам лизина и гистидина внутри пептидных цепей (см. рис. 1).

Эфирная фаза гидролизатов ДНФ-глиадинов изолированных из *Triticum durum*, *Triticum vulgare* и *Triticum turgidum*, содержит одну ДНФ-аминокислоту, которая на основании контрольной хроматограммы и значения R_F оказалась ДНФ-фенилаланином. Рис. 2 показывает хроматограмму гидролизата ДНФ-глиадина, изолированного из *Triticum turgidum*.

Глиадины из разных сортов ржи (*Secale cereale* «Fleischmann», «Lovászpatonai», «Óvári») содержат в качестве аминоконцевых групп две аминокислоты; фенилаланин и глутаминовую кислоту. Исследование всех трех сортов дало идентичные результаты. Рис. 3 показывает анализ глиадина *Secale cereale* «Óvári».

Особенно интересным казалось нам проанализировать аминоконцевые группы глиадина пшенично-ржаного гибрида «*Triticale Martonvásárhely* № 1» ⁽⁶⁾. Оказалось, что глиадин пшенично-ржаного гибрида не содержит аминоконцевых групп.

Кроме качественных анализов, в некоторых случаях нами были проведены и количественные анализы ДНФ-аминокислот (см. табл. 1).

Результаты, приведенные в табл. 1, показывают: 1) отличие в количестве фенилаланиновых концевых групп в зависимости от вида пшеницы и 2) отсутствие аминоконцевых групп у глиадина пшенично-ржаного гибрида.

На основании проведенных нами исследований мы пришли к выводу о наличии связи между видовой специфичностью и химической структурой глиадинов, выражающейся в количестве и качестве концевых групп. Глиадины близких видов (*Triticum durum*, *vulgare* и *turgidum*) отличаются только количественно. Аминоконцевые группы представляют собой во всех трех случаях фенилаланин. Но глиадин из *Triticum durum* содержит одну концевую группу, глиадин из *Triticum vulgare* — две, а глиадин из *Triticum turgidum* — 0,5 фенилаланиновой концевой группы. Аминоконцевые группы более отдаленных видов отличаются уже качественно. Так, глиадин разных сортов ржи в качестве аминоконцевой группы содержит, кроме фенилаланина, также и глутаминовую кислоту.

Глиадин пшенично-ржаного гибрида не содержит аминоконцевой группы (по нашим предварительным данным он не содержит и карбоксилконцевой группы, в противоположность глиадину пшеницы). Этот факт доказывает, что отдаленная межродовая гибридизация вызывает возник-

новение нового свойства в химической структуре глиаина: концевые аминокислоты исчезают,—повидимому, они принимают циклическую структуру.

В. К. Карапетян (¹²) на основании генетического анализа ржано-пшеничных и пшенично-ржаных гибридов приходит к выводу, что в одном организме устойчиво совместить свойства и биологические особенности двух видов не удастся. Однако косвенные данные генетического анализа вряд ли могут решить вопрос о видообразовании. Нам кажется возможным предложить наш метод биохимического анализа для экспериментальной проверки теории Т. Д. Лысенко (¹³) о порождении одними видами растительных форм других видов. Обнаружение в качестве аминоконцевых групп фенилаланина и глутаминовой кислоты в глиаине из потомков зерен ржи, найденных в колосьях пшеницы, доказало бы правильность предположения Т. Д. Лысенко. Доказательство же отсутствия аминоконцевых групп в том же глиаине говорило бы, наоборот, о возможной правильности предположения Н. В. Турбина (¹⁴) о гибридном происхождении этих зерен.

Институт биохимии Академии наук
Венгерской Народной Республики
Будапешт

Поступило
28 VI 1954

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ F. Sanger, *Biochem. J.*, **39**, 507 (1945). ² R. R. Porter, F. Sanger, *ibid.*, **42**, 287 (1948). ³ K. Smidt, *Nature*, **163**, 481 (1949). ⁴ K. Felix, *Z. Physiol. Chem.*, **295**, 107 (1954). ⁵ P. Desnuelle et al., *C. R.*, **223**, 1496 (1951). ⁶ S. F. Velick, S. J. Udenfriend, *J. Biol. Chem.*, **203**, 575 (1953). ⁷ A. Kiss, Gy. Rédei, *Növénytermelés*, **1**, 67 (1952); *Acta Agronom. Acad. Sci. Hung.*, **3**, 257 (1953). ⁸ D. B. Dill, C. L. Alsberg, *J. Biol. Chem.*, **65**, 279 (1925). ⁹ T. Deutsch, *Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.* (1954). ¹⁰ T. Deutsch, *Magyar Kémiai F.* (1954). ¹¹ R. R. Porter, *Biochem. J.*, **46**, 473 (1950); P. Desnuelle, *Biochim. Acta*, **2**, 64 (1948). ¹² В. К. Карапетян, *Агробиология*, № 3, 67 (1953). ¹³ Т. Д. Лысенко, *БСЭ*, **8**, 14. ¹⁴ Н. В. Турбин, *Бот. журн.*, **37**, 799 (1952).