

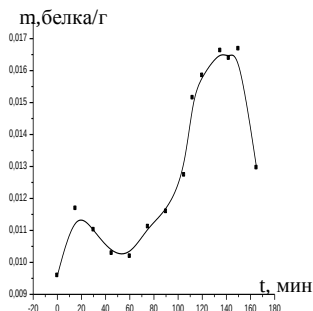


Рис. 1. Динамика содержания солерастворимых суммарных белков при созревании теста.

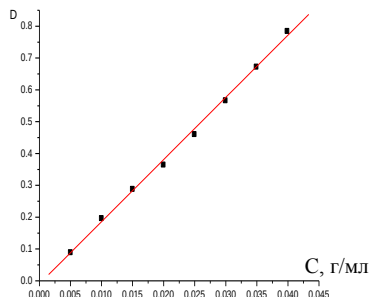


Рис. 2. Калибровочная кривая по белку-стандарту - САЧ

Изучение индивидуальных белковых компонентов в группе суммарных солерастворимых белков вели с использованием метода диск-электрофореза в ПААГе. Для качественного и количественного анализа свободных аминокислот в дрожжевом тесте применяли метод восходящей бумажной хроматографии.

Полученный комплекс физико-химических характеристик обсужден и сделаны первые шаги по составлению математического описания изучаемого процесса с использованием традиционного подхода, развиваемого в работах Дж. Бейли, Д. Оллиса и С.Д. Варфоломеева.

1. Филиппович Ю. Б. и др. Практикум по общей биохимии: Учеб. пособие для студентов хим. спец. пед. ин-тов. – М.: Просвещение, 1982. – 311 с.

## ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ ПАРАМЕТРЫ О-ДИФЕНОЛОКСИДАЗЫ ЛЬНА

*Лихуща П.С., Таланцева Ю.Н.*

Тверской государственный университет

О-дифенолоксидаза (о-ДФО) растений мало изучена. Еще в меньшей степени изучена о-ДФО льна. Цель исследования — выделение, очистка и изучение субстратной специфичности о-дифенолоксидазы проростков льна.

Экстракцию фермента вели по методике, предложенной В.Д. Анисимовым и др. с собственными модификациями, включающими: гомогенизацию растительного материала (фосфатный буфер pH 5,3); центрифугирование (3000 об/мин); высаливание (20%-м раствором сульфата аммония) и повторное центрифугирование (4000 об/мин). Гомоген-

ность фермента подтверждена 2-мя методами – гель-фильтрацией через сефадекс G-75 и электрофорезом на агарозе с использованием программы DenStar.

На первом этапе работы в качестве субстрата использовали бензидин. Изучали поведение фермента при изменении концентрации бензидина (рис. 1), а также при варьировании концентрации перекиси водорода.

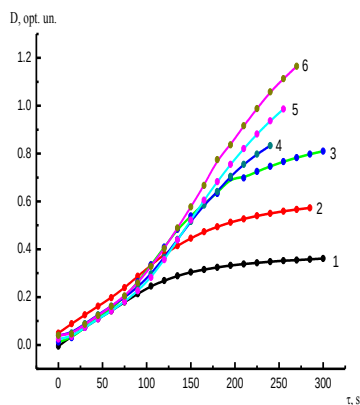


Рис. 1. Зависимости «D-τ» при изменении концентрации бензидина: ( $10^{-3}$  М) 1-0,4; 2-0,6; 3-0,8; 4-1,0; 5-1,2; 6-1,4

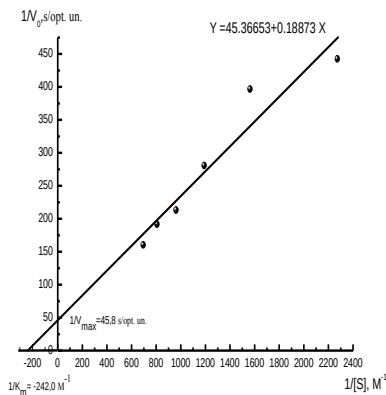


Рис 2. Прямая в координатах двойных обратных величин – координатах Лайнуивера-Берка ( $1/V_0 - 1/[S]$ ).

Первичные экспериментальные данные (рис. 1) перестраивали в координатах Лайнуивера-Берка (рис. 2) и рассчитывали важнейшие ферментативные параметры о-ДФО.

$$1/k_M = 440 \text{ М}^{-1}, 1/V_{\max} = 22 \text{ опт.ед} \cdot \text{с}^{-1}$$

$$k_M = 2,27 \cdot 10^{-3} \text{ моль/л} \quad k_{\text{кат}} = 135 \text{ с}^{-1}$$

$$1/k_M = 242 \text{ М}^{-1}, 1/V_{\max} = 46 \text{ опт.ед} \cdot \text{с}^{-1}$$

$$k_M = 4,13 \cdot 10^{-3} \text{ моль/л}, k_{\text{кат}} = 209 \text{ с}^{-1}$$

По литературным данным для о-ДФО значения  $k_M$  (мМ) и  $k_{\text{кат}}$  ( $\text{с}^{-1}$ ) составили, соответственно, 0.85 и 80.

Для пероксидазы эти характеристики составили 0.035 и 33, соответственно; в случае полифенолоксидазы только значение  $k_M$  рассчитано и дано как 11,2; 3,9; 1,5; 9,7; 25; 0,161 для различных растительных систем.