

новленных или пока только предполагаемых).

При таком подходе по мере расширения наших знаний о роли лектинов в организме определяющие их критерии, несомненно, будут пересмотрены и изменены, а само понятие "лектин" либо станет более крупной категорией, объединяющей разнофункциональные группы углеводсвязывающих белков, либо же это название сохранится за группой биополимеров с определенной, специфичной функцией. Пока же абсолютно целесообразно все белки, отвечающие требованиям, которые предъявляются сегодня к лектинам, включать в эту категорию вне зависимости от приущих им физиологических активностей, включая ферментативную.

#### Л и т е р а т у р а:

1. Захарова И.А., Буглова Т.Т., Тихомирова А.С. В: Ферменты, трансформирующие галактозу. - Киев: Наукова думка, 1988. - С. 7-89.

2. Dixon H.B.F. // Nature. - 1981. - Vol. 292. - P. 192.

3. Franz H., Žiřka P., Mohr J.J. // Acta histochem. - 1982. - Vol. 71. - P. 19-21.

4. Goldstein I.J., Hughes R.C., Monsigny M., Osawa T., Sharon N. // Nature. - 1980. - Vol. 285. - P. 66.

5. Kocourek J., Hořejší V. // Nature. - 1981. - Vol. 290. - P. 188.

6. Zacharova I.Y., Tamm V.E., Pavlova I.N. // Methods in Enzymology. - Vol. 160: ed. W.A. Wood, S.T. Kellogg, Academic Press. - San Diego. - 1988. - P. 620-626.

#### СКРИНИНГ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ОДНОКЛЕТОЧНЫХ ВОДОРОСЛЕЙ НА СОДЕРЖАНИЕ ЛЕКТИНОВ И ИХ ВНУТРИКЛЕТОЧНАЯ ЛОКАЛИЗАЦИЯ

Е.С. Купцова, Н.А. Пронина, Е.Е. Семененко

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева

АН СССР, г. Москва

Известно, что в различного рода биотехнологических процессах требуется широкий спектр лектинов, обладающих разной специфичностью к углеводам. Лектины обнаружены почти во всех живых организмах: от простейших до высших как растений, так

и животных. Однако в доступной нам литературе совершенно нет сведений о лектинах микроводорослей - одноклеточных фотоавтотрофных организмов /1, 3/. Помимо чисто прикладного характера, изучение лектиновой активности одноклеточных водорослей как модельной системы, имеющей один хлоропласт на клетку, удобно для познания таких процессов, связанных с функционированием хлоропластных мембран, как внутриклеточный транспорт, а также регуляция собственно фотосинтетического выделения кислорода.

В работе исследовались одноклеточные зеленые водоросли: *Chlorella* sp.К (С-1), *Coellastrum sphaericum* (Н-248) - пресноводные, *Dunaliella salina* (D-209) - галофильные; золотистые - *Monochrysis lutheri* (P-271); красные водоросли - *Porphyridium aeruginosum* и *Porphyridium cruentum* (P-271) из коллекции водорослей (IPPAS) Института физиологии растений АН СССР.

Суспензии водорослей выращивались в условиях интенсивной культуры в накопительном режиме, при круглосуточном освещении с 1,7% CO<sub>2</sub> и оптимальной для каждого вида температурой. Наличие лектинов тестировали методом гемагглютинации по способности агглютинировать эритроциты кролика. Использовали 2% суспензию трипсинизированных эритроцитов в 10 мМ фосфатном буфере pH 7,2. Каждой постановке соответствовали два контроля: 1) эритроциты в физиологическом растворе и 2) конканавалин А с эритроцитами. Учет гемагглютинации велся визуально через 2 ч при комнатной температуре. Суспензию водорослей гомогенизировали и с помощью дифференциального центрифугирования разделяли на растворимую фракцию и фракцию нерастворимых клеточных компонентов. Дальнейшее фракционирование вели по схеме (рисунок). При фракционировании мембранных белков в градиенте плотности сахарозы идентифицированы /2/ две фракции хлоропластных мембран (II и III) и фракция мембран плазмалеммы и клеточной стенки (V). Эти фракции обрабатывали тритоном X-100 и, кроме того, осадок после обработки тритоном X-100 сольбилизировали с помощью SDS в различных температурных режимах.

Как видно из таблицы I, во всех исследуемых видах водорослей не обнаружена агглютинирующая активность во фракции

## МЕМБРАННЫЕ БЕЛКИ.

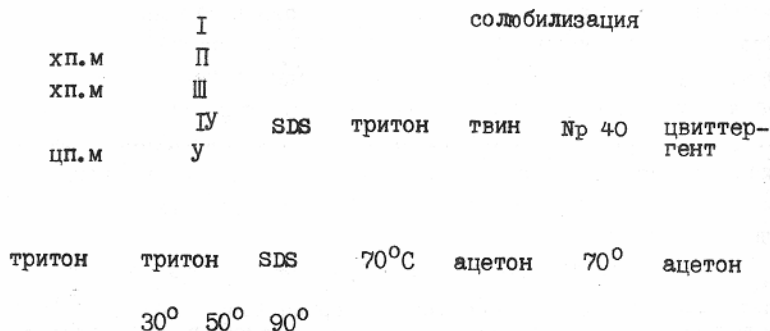


Рис. Схема фракционирования мембранных белков водорослей. Клеточные фракции, тестированные на гемагглютинирующую активность, обозначены звездочкой

растворимых белков в отличие от мембранных.

Для экстракции лектинов применяли водные, солевые и буферные растворы с варьированием рН. Использование таких экстрагентов как 0,9% NaCl, 0,5% KCl, 0,1 М ЭДТА не приводило к обнаружению лектиновой активности в растворимой фракции. Можно было бы предположить, что лектины в растворе присутствуют совместно с гаптенами, которые не дают возможности

Таблица I  
Скрининг одноклеточных водорослей на содержание лектинов

Название вида	Гемагглютинирующая активность	
	растворимые белки	мембранные белки
<i>Chlorella</i> sp. K	-	+
<i>Coelastrum sphaericum</i>	-	+
<i>Dunaliella salina</i>	-	+
<i>Monochrysis lutheri</i>	-	+
<i>Porphyridium cruentum</i>	-	+
<i>Porphyridium aerogineum</i>	-	+

проявляться лектиновой активности. Известно, что лектины должны освобождаться при кислом pH из-за диссоциации их комплекса с гаптенами. Однако изменение pH в широком диапазоне от 5,2 до 7,8 не приводило к проявлению гемагглютинирующей активности растворимой фракции белка водорослей.

Таблица 2

Агглютинирующая активность различных фракций клеток *Chlorella* sp. К

Растворимые белки		Мембранные белки	
Суммарная фракция	-	2% Тритон X-100	+++ 0,98 мкг/мл
Высаливание сульфатом аммония:		2% тритон + 1% цвиттергент	++ 1,8 мкг/мл
30%	-	1% Np 40	+
80%	-	1% SDS	+
		1% твин 20	+

Фракцию мембранных белков солубилизировали с помощью различных детергентов в различных температурных режимах как переосаждением ацетоном, так и без него. Результаты, представленные в таблице 2, показывают, что максимальная гемагглютинирующая активность обнаружена при обработке белков 2% тритоном X-100. Как нагревание, так и переосаждение ацетоном приводят к потере у данной фракции агглютинирующей активности.

Таблица 3

Локализация гемагглютинирующей активности в клетках *Chlorella* sp. К

	Хлоропластные мембраны	Плазмалемма
	мкг белка/мл	
Тритон X-100	1,6	$2 \cdot 10^{-2}$
Тритон → SDS		
30°, 60 мин	0	1,3
50°, 30 мин	0	2,1
90°, 5 мин	1,6	0

У клеток *Chlorella* sp.К агглютинирующая активность проявляется (таблица 3) как во фракции тилакоидных мембран, так и в мембранах плазмалеммы. Максимальная активность достигается при обработке мембран плазмалеммы 2% тритоном X-100.

У *Dunaliella salina* (таблица 4) максимальная гемагглютинирующая активность обнаруживается во II фракции хлоропластных мембран после обработки 2% тритоном X-100.

Таблица 4

Локализация агглютинирующей активности в клетках  
*Dunaliella salina*

Растворимые белки		Мембранные белки, мкг белка/мл	
Суммарная фракция	0	Суммарная фракция	3,1
Высаливание сульфатом аммония:		II фракция хлоропластных мембран	0,32
30%	0	III фракция хлоропластных мембран	1,4
80%	0		

Приведенные данные впервые показывают наличие гемагглютинирующей активности у различных видов микроводорослей, что может свидетельствовать о присутствии в них альголектинов - лектинов одноклеточных водорослей. Максимальное проявление активности в хлоропластных мембранах и в мембранах плазмалеммы может быть связано, очевидно, с регуляторной ролью лектинов в процессах транспорта и функционирования фотосинтетического аппарата одноклеточных водорослей.

Л и т е р а т у р а

1. Лахтин В.М. Лектины в исследовании белков и углеводов. Итоги науки и техники, серия Биотехнология, ВИНТИ. - М., 1987. - Т. 2. - 288 с.

2. Пронина Н.А., Семенов В.Е. Локализация связанной карбоангидразы в мембранах клеток хлореллы. Физиология растений, 1988, 35. - Вып. I. - С. 51-60.

3. The lectins. Properties, Functions and Applications

ВЛИЯНИЕ ФОТОПЕРИОДИЧЕСКОЙ ИНДУКЦИИ НА ИЗМЕНЕНИЕ  
ЛЕКТИНОВОЙ АКТИВНОСТИ В СТЕБЛЕВЫХ АПЕКСАХ  
РАСТЕНИЙ ПРИ ПЕРЕХОДЕ К ЦВЕТЕНИЮ

Э.Н. Комарова, Э.И. Вискребенцева,  
Э.Л. Милыева, Г.Я. Алексидзе

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева АН  
СССР, г. Москва

Тбилисский государственный университет, г. Тбилиси

В работах P. Albersheim и других авторов показано, что из клеточных стенок под действием специфических гликолитических ферментов выделяются вещества - олигосахарины (углеводной природы, содержащие от 2 до 15 моносахаридных цепочек), обладающие гормоноподобным действием /4/. Показано, что олигосахарины могут служить регуляторами морфогенеза растений /4, 5/. Так как лектины являются белками, специфически связывающими гликоконъюгаты, они должны обладать способностью взаимодействовать с олигосахаридами и, следовательно, могут влиять на процессы роста и морфогенеза.

Процесс фотопериодической индукции цветения начинается с листовой фазы. В листьях под действием света и темноты осуществляется цепь последовательных реакций, в результате которых происходит биосинтез гормонов цветения. Под влиянием гормонов, транспортирующихся из листьев в стеблевые апексы, в них происходят морфогенетические изменения, приводящие к цветению /3/. Вероятно, лектины и олигосахарины, наряду с гормонами цветения, могут принимать участие в регуляции морфогенеза стеблевых апексов при переходе к цветению. В связи с этим в настоящей работе было изучено влияние фотопериодической индукции на изменение лектиновой активности в стеблевых апексах при переходе к цветению.

Объектом исследования служили стеблевые апексы растений двух противоположных фотопериодически чувствительных типов: