

ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ СИСТЕМЫ ПРОТЕОЛИЗА В КЛЕТКАХ *CHLORELLA VULGARIS*

Ильючик И.А., Никандров В.Н.

Полесский государственный университет, Пинск, Беларусь

Методом лизиса белков-субстратов в тонком слое агарового геля показано, что протеиназы безъядерных супернатантов гомогенатов клеток семисуточной культуры *Ch. vulgaris* на среде Тамийя способны расщеплять казеин (*Cas*), гемоглобин (*Hb*), желатин (*Gel*) и фибриноген (*Fn*) человека при рН 7,4 и 9,0, но не при рН 3,0.

Расщепление *Cas* при рН 7,4 в присутствии группоспецифических ингибиторов протеиназ (10^{-3} М) изменялось не более чем на 15%, а лизис *Fn* усиливался на 14–16% в присутствии о-фенантролина (*o-Phe*) и *EDTA* и на 69% при добавлении фенилметилсульфонилфторида (*PMSF*). Лизис *Cas* и *Fn*, в целом, усиливался неорганическим ортофосфатом на 21–123%, в отдельных случаях он подавлялся на 12–37%. Лизис *Cas* возрастал при добавлении АТФ на 20–40%, а лизис *Fn* АТФ слабо подавлял.

При рН 9,0 расщепление *Cas* возрастало при добавлении *o-Phe* и *EDTA* на 18–20%, но подавлялось на 20% 8-оксихинолином (*8-Oqi*). Лизис *Fn* усиливали *PMSF*, *EDTA* и диэтилдитиокарбамат (*DEDTC*) на 69, 33 и 23% соответственно. Расщепление *Hb* угнетали р-хлормеркурибензоат (*PCMB*) или *8-Oqi* на 13%, а лизис *Gel* – *PMSF*, *8-Oqi* и *PCMB* на 32, 38 и 15% соответственно, но усиливал на 17% *o-Phe*.

Выделенные из гомогенатов методом дифференциального центрифугирования ядерная (Я), пластидная (П) и митохондриальная (Мх) фракции при рН 7,4 и 9,0 способны расщеплять все 4 белка-субстрата, особенно интенсивно – *Cas* и *Fn*, слабее всего – *Hb*. Как правило, уровень протеолиза при рН 9,0 превышал таковой при рН 7,4: по *Cas* на 9–18%, по *Fn* на 23% (только Я), по *Gel* на 28 и 12% (соответственно П и Мх, а в Я угнетался на 16%), по *Hb* в 1,9, 1,8 и 2,4 раза в Я, П и Мх.

Действие группоспецифических ингибиторов зависело от конкретной фракции гомогената, рН реакционной смеси и белка-субстрата. Лизис Мх *Cas*, но не *Gel* независимо от рН угнетали *8-Oqi* и *PCMB* на 38–55%. Расщепление *Cas* оказалось более чувствительным к действию комплексонов (Мх – особенно и П). Ингибиторный эффект *PMSF* при рН 7,4 выявлен при лизисе *Cas* только Мх, а при рН 9,0 – на Я и П. Расщепление же *Gel* было чувствительно к *PCMB* независимо от рН для П, а при рН 9,0 наблюдали парадоксальный эффект *PMSF* в случае Я.