Как и предполагалось, ксилоизомеразной активности в культуральной жидкости и в клетках исходного штамма JN42 *E. carotovora* не было обнаружено. То, что для штамма *E. carotovora* TA5 не было идентифицировано существенной активности фермента в культуральной жидкости, доказывает, что секрция химерного белка DspE-XylA зависит от системы секрции третьего типа.

Литература

1. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Молекулярное клонирование / М.: Мир, 1984. 479 с.
2. Миллер Дж. Эксперименты в молекулярной генетике / М.: Мир, 1976. 436 с.
3. Lloyd S. A., Norman M., Rosqvist R. and Wolf-Watz H. Yersinia YopE is targeted for type III secretion by N-terminal, not mRNA, signals // Molecular Microbiology, –2001. –V. 39. –p. 520–531.
4. Miao, E. A., and Miller S. I. A conserved amino acid sequence directing intracellular type III secretion by Salmonella typhimurium // Proc. Natl. Acad. Sci. USA, –2000. –V. 97. p. –7539–7544
5. Petnicki-Ocwieja, T., et. al. Genomewide identification of proteins secreted by the Hrp type III protein secretion system of Pseudomonas syringae pv. tomato DC3000 // PNAS –2002, – V. 99. –P.7655

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ В КОРНЯХ ПРОРОСТКОВ ЯЧМЕНЯ

А. С. Оснюк

Характерной особенностью растительных организмов являются их колоссальные биосинтетические возможности. В области обмена соединений азота это проявляется прежде всего в необычайном разнообразии аминокислот, синтезируемых растительными организмами, причем многие из них не входят в состав белков (эти соединения называются непротеиногенными аминокислотами). Обычно в цитоплазме растений содержатся свободные аминокислоты как протеиногенные, так и непротеиногенные. В настоящее время обнаружено около 300 свободных аминокислот, которые в значительной степени определяют специфику азотного обмена того или иного растения [1]. Многие из них широко распространены, другие встречаются лишь у отдельных видов. Некоторые небелковые аминокислоты просто накапливаются в виде промежуточных продуктов обмена, другие представляют типичные вещества вторичного происхождения [2].

Некоторые свободные аминокислоты выступают в роли первичных акцепторов соединений минерального азота и регуляторов процессов внутриклеточного метаболизма. Их содержание в цитоплазме клеток за-

висит от особенностей обмена веществ и определяется рядом факторов эндогенной и экзогенной природы.

Цель нашего исследования – определение состава и концентрации свободных аминокислот в корнях проростков ячменя, выращенных при различных условиях азотного питания. В качестве объекта исследования нами был выбран ячмень обыкновенный (*Hordeum sativum*) сорта Тюрингия.

Нами проводилось качественное и количественное определение аминокислот в этанольных экстрактах из корней 14 дневных проростков ячменя на основе хроматографического анализа в тонком слое. Идентификацию аминокислот осуществили по значению R_f пятен на хроматограмме, выявляемых нингидрином.

В вытяжке из корней проростков ячменя, выращенных в аммонийном растворе, обнаруживается 6 аминокислот, а в вытяжках из корней, выращенных в нитратном растворе или в условиях азотного голодания содержится 4 аминокислоты (табл. 1). Следует отметить, что на хроматограммах, где проявились аминокислоты, содержащиеся в вытяжках из корней проростков ячменя, выращенных на аммонийном или нитратном азоте, окраска пятен была более насыщенная, чем на хроматограмме с аминокислотами, содержащихся в корнях проростков выращенных в условиях азотного голодания.

Наиболее разнообразен состав свободных аминокислот в растениях выращенных в условиях питания солями аммония. Однако, у растений, выращенных условиях азотного голодания, регистрируется наличие заметного количества аланина, который отсутствует в других вариантах экспериментов. Разнообразие состава свободных аминокислот в растении-

Таблица 1

Результаты качественного анализа спиртовой вытяжки из корней проростком ячменя, выращенных на различных источниках азота

Положение пятна на хроматограмме	Вариант эксперимента			Результаты идентификации	
	Рост на Нитратах R_f , отн. Ед.	Рост на аммонии R_f , отн. ед	Азотное голодание R_f , отн. ед	R_f отн. ед.	Предполагаемая аминокислота
1	0,18	0,17	0,16	0,16	Аспарагиновая кислота
2	0,22	0,23	0,26	0,26	Глютаминовая кислота
2а		0,2		0,2	Серин
3		0,29		0,28	Треонин
4	0,30	0,3	0,3	0,3	Глютамин
4а			0,36	0,35	Аланин
5	0,39	0,41		0,40	Пролин

ях отражает, вероятно, закономерности синтеза аминокислот и белков.

Количественное содержание определяли для всех проявляемых на хроматограмме аминокислот колориметрически. Концентрации конкретных аминокислот устанавливались по калибровочным графикам, полученным для стандартных растворов, на основании измерения оптической плотности реакционных смесей нингидрина и растворов аминокислот различной концентрации. Полученные результаты отображены в таблице 2.

Во всех трех вытяжках были идентифицированы глутаминовая кислота, глутамин и аспарагиновая кислота. Наличие глутаминовой кислоты и глутамин не такая же и редкость. Довольно часто в литературе отмечается наличие свободных глутамин и глутаминовой кислоты в различных растениях. Так, например, в исследованиях Заболотного [3] отмечается наличие этих аминокислот в листьях люпина.

Наибольшее количество глутаминовой кислоты отмечается в корнях проростков ячменя, которые выращивались на аммоние. Второе место по количественному содержанию занимает глутамин (также наибольшая концентрация этого амида отмечается в вытяжке из растений, выращенных на среде, где источником азота был аммоний).

Глутаминовая и аспарагиновая кислоты играют особую роль в азотном метаболизме растений. Именно эти аминокислоты могут связывать избыток аммония образуя амиды. Таким образом осуществляется как депонирование аммонийного азота и детоксикация аммиака. В этом плане неудивительно, что наибольшая концентрация как глутаминовой кислоты, так и глутамин зарегистрированы в варианте выращивания растений на аммонийном азоте: в этом случае требуется быстрое связывание

Таблица 2

Значения концентраций аминокислот исследуемой смеси

Аминокислота	Вытяжка из корней растений, выращенных на NO ₃ , моль/г сырого веса	Вытяжка из корней растений, выращенных на NH ₄ , моль/г сырого веса	Вытяжка из корней растений, выращенных на воде, моль/г сырого веса
Глутаминовая кислота	$2 \cdot 10^{-7}$	$8 \cdot 10^{-6}$	$6 \cdot 10^{-8}$
Глутамин	$5 \cdot 10^{-8}$	$7 \cdot 10^{-7}$	$5 \cdot 10^{-8}$
Аспарагиновая кислота	$4 \cdot 10^{-7}$	10^{-8}	$7 \cdot 10^{-8}$
Пролин	$2 \cdot 10^{-7}$	$3 \cdot 10^{-6}$	
Серин		$1 \cdot 10^{-7}$	
Треонин		$9 \cdot 10^{-8}$	
Аланин			$2 \cdot 10^{-9}$

аммиака, поступающего из среды, что и отражают результаты табл. 2 – концентрации указанных соединений у растений выросших на аммонийном азоте в десятки раз превышают их содержание у растений выросших на нитратах.

Следует отметить, что максимальное содержание аспарагиновой кислоты отмечается у растений, выросших в условиях питания нитратным азотом. Минимальное содержание аспарагиновой кислоты отмечено у растений, выросших на аммонийном азоте, при этом содержание указанной аминокислоты у растений, выращиваемых в условиях азотного голодания, почти в десять раз превышает ее концентрацию в предыдущем варианте. Хотя общее содержание свободных аминокислот у растений, росших в условиях азотного голодания ниже (см. табл. 2).

Указанный факт, вероятно, связан не только с особенностями биохимических превращений соединений азота у растений в различных вариантах эксперимента, но и отражает участие продуктов первичной ассимиляции минерального азота в регуляции процессов поступления элементов азотного питания в растительную клетку. Из литературных источников известно, что аммоний транспортирующая система наиболее активизирована у растений выросших на нитратном азоте или в условиях азотного голодания. Возможно, соотношение концентраций аспарагиновой и глютаминовой кислот является фактором, регулирующим активность системы транспорта аммония плазмалеммы растительной клетки. Во всяком случае, у растений выросших на нитратном азоте и в условиях азотного голодания отношение концентраций глютаминовой и аспарагиновой кислот колеблется от 0,5 до 0,9, а у растений выросших на аммонийном азоте – составляет 800.

Таким образом, в результате исследований, в вытяжках из корней растений, выращенных в различных условиях азотного питания, обнаружены различия в качественном и количественном составе свободных аминокислот.

Литература

1. *Кретович В. Л.* Обмен азота в растениях, Москва, «Наука», 1972. 465 С.
2. *Гудвик Т, Мерсер Э.* Введение в биохимию растений, Москва, «Мир», 1986 Т. 2. 634 С.
3. *Заболотный А. И., Мироненко А. В., Валохович Н. Ф., Журавлева Л. А.* Изменения количества белка и свободных аминокислот в люпине желтом в процессе цветения // Вести Акад. Наук БССР. Сер. Биолог. наук. 1983. №1. С. 12 –16.