

4. Новикова И.И., Литвиненко А.И., Бойкова И.В., Ярошенко В.А., Калько Г.В. Биологическая эффективность новых микробиологических препаратов Алиринов Б и С для защиты растений от болезней в разных природно-климатических зонах. I. Биологическая эффективность Алиринов в отношении болезней овощных культур открытого и защищенного грунта и картофеля // Микология и фитопатология. - 2003. - Т. 37. - Вып. 1. - С. 92-97.

5. Куликов С.Н., Алимов Ф.К., Захарова Н.Г., Немцев С.В., Варламов В.П. Биопрепараты с различным механизмом действия для борьбы с грибными болезнями картофеля // Прикл. биохим и микроб. - 2006. - Т. 42. - №1. - С. 86-92.

6. Егоров Н.С. Микробы-антагонисты и биологические методы определения антибиотической активности. М.: Высшая школа, 1976. - 221 с.

7. Смирнова И.Э. Стимулирующее влияние целлюлолитических бактерий на высшие растения // Вестник сельскохозяйственной науки Казахстана. - 2000. - № 5. - С.12-14.

Түйін

Сапалы және экономика жағынан тиімді «Бацирин» биопрепаратының негіздері жасалды. Биопрепарат ауылшаруашылық өсімдіктердің фитопатогенді саңырауқұлақтарымен күресіп, өсімдіктің өсуін және дамуын тездетеді.

Summary

The basis of the production of new, effective and economical kazakhstan's biopreparation "Bacirin" for protection agricultural plants against phytopathogenic fungi causing root rot of the cereals was developed. This biopreparation stimulates growth agricultural plants.

УДК 577.151

Табыс Д., Бейсембаева Р.У.

ҚОЙ ҰЛПАЛАРЫНДАҒЫ ПРОСТАГЛАНДИН Н СИТАЗАНЫҢ СИПАТТАМАСЫ

Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Алматы, Қазақстан

Простагландиндер (PG) – жоғары активті органикалық заттар, молекулалық биореттеушілер [1-2]. Простагландиндердің синтезіне жауапты биферменттік простагландинсинтаза жүйесі. Простагландинсинтаза жүйесінің (PGH-синтаза) ферменттеріне қызығушылық олардың өте жоғары биологиялық белсенділігіне және олардың тікелей немесе басқалар арқылы көптеген физиологиялық процестерге қатысуна байланысты. PGH-синтаза реакция кезінде тез инактивтеледі, сол себепті простагландиндерді *a in vitro* биокатализатор ретінде қолдану қиын. Простагландин жүйесінің ферменттерін алудың арзан әрі тиімді көзін табу биотехнологияның маңызы мақсаты болып табылады [3].

Простагландинсинтаза жүйе екі ферменттен, простагландин Н синтаза (PGH-синтаза) және простагландин Н конвертаза, (PGH-конвертаза) тұрады. PGH-синтаза – арахидон қышқылының простагландин Н₂-ге трансформациясын катализдейді. PGH-конвертазаның әсерінен PGH₂ белгілі бір простагландин түріне айналады. Бұл фермент мүше ерекшелікті және осы мүшеге лайқты простагландин түрінің синтезін катализдейді.

PGH-синтаза екі каталитикалық активтілікке ие, циклооксигеназды және пероксидазды. Циклооксигеназды белсенді орталық – арахидон қышқылы көміртек қаңқасының циклденуіне және оттегінің екі молекуласының сутегінің қос тотығына айналуына жауапты. Реакция нәтижесінде арахидон қышқылы PGG₂-ге дейін өзгереді. PGH-синтаза пероксидазды белсенді орталығы екі қызмет атқарады: циклогеназды реакция нәтижесінде алынған PGG₂-ны PGH₂-ге айналдырады және циклооксигеназды реакциясын катализдейді [4,5].

Жұмыстың мақсаты – қойдың әр түрлі ұлпаларында PGH-синтазаның каталитикалық қасиеттерін зерттеу изоформаларын анықтау.

Зерттеу объектілері және зерттеу әдістері

Биферментті простагландинсинтаза жүйелері дені сау қойдың қан, бұлшық ет, бүйрек, жүрек ұлпалары құрамындағы жасушаларынан бөліп алынды. Мембранамен байланысқан биферментті простагландинсинтаза жүйесінің препаратын алу тәсілін ұлпа түріне байланысты қолданылатын әдістерге өзгертулер енгізу арқылы алдық.

Простагландинсинтаза жүйесін алу үшін бүйрек ұлпасын бөлшектерге бөлеміз және оған 0,1М трис-НСІ буфер ерітіндісін (рН=8,2) құямыз, гомогенизациялаймыз, алынған материалды центрифугалаймыз (1000 айналым/мин, 30 минут 4 °С). Супернатантты алып Горяев камерасымен микроскоп арқылы жасушаларды қараймыз. Супернатантты центрифугалаймыз. Жасушаларға 0,1М трис-НСІ буфер ерітіндісін (рН=8,2) құйып гомогенизациялаймыз, одан кейін центрифугалаймыз (2000 айналым/мин. 30 минут 4 °С). Алынған тұнбаға тағыда 0,1М трис-НСІ буфер ерітіндісін (рН=8,2) аз мөлшерін (300-400мкл) қосып центрифугалаймыз (11000-12000 айналым/мин, 30 минут 4 °С). Алынған тұнба мембранамен байланысқан биферменттік жүйе екенін пероксидазды белсенділігін зерттеу арқылы анықтаймыз. Оны 20⁰С тоңазытқышта сақтауға болады.

Дәл осындай әдіспен бұлшық ет ұлпасынан ферменттік жүйе алынады, ал жүрек ұлпасынан алғанда рН=8,5 болған 0,1М трис-НСІ буфер ерітіндісі құйылады және соңғы центрифугалауда 15000 айналым/мин. 30 минут 4 °С болады. Қаннан былай алынады: қанды центрифугалық пробиркаға 5мл- ден құйып, 5 минут центрифугалаймыз (1000 айналым/мин) да бетіндігі сұйықтығын мұзда тұрған стаканға құямыз. Тұнбаға түскен эритроциттерді төгіп тастаймыз [8]. Қан плазмасын центрифугада 15000 айн/мин, 15 минут 4 °С та айналдырамыз, үстіндегі сұйықтықты төгіп тастаймыз. Тұнбаға 0,1М трис-НСІ буфер ерітіндісін (рН=8,2) 100-200мкл құйып, суспензиялаймызда гомогенизациялаймыз. Алынған суспензияны 0,5мл пробиркаға құйып, температурасы - 20⁰С тоңазытқышта сақтаймыз. РGH-синтазаның пероксидазды белсенділігін спектрофотометрлік әдісін қолданып анықтаймыз [6].

Реакциялық қоспаның құрамына 1мг белокқа шаққандағы фермент препараты, гваякол, гемин, сутегінің қос тотығы қосылады, 0,1М трис-НСІ буфер ерітіндісімен (рН=8,2) 3мл ге жеткізіледі. Қоспаны 30 минут 37⁰ С су моншасында инкубациялаймыз. Содан кейін пероксидазды белсенділігін тетрагваякол мөлшеріне байланысты анықтаймыз. РGH-синтазаның каталитикалық белсенділігін тетрагваякол мөлшерінің 30 минут аралығында түзілген 1мг белокқа (мкмоль/мг) шаққан түрінде көрсетеміз. Белок концентрациясын Байер әдісімен Бенедикт реактивін қолданып анықталады [7].

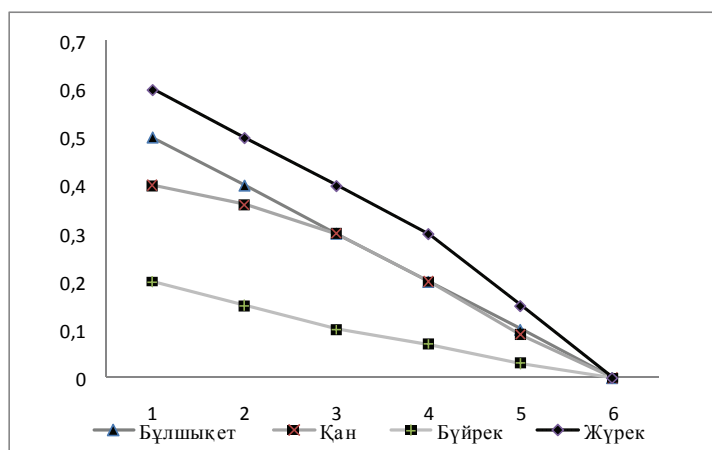
Нәтижелер және оларды талдау

Қойдың қан, бұлшық ет, бүйрек, жүрек ұлпаларынан бөліп алынған ферменттік препараттар пероксидазды белсенділігіне ие болады. РGH-синтазаның белсенділігіне арнайы тежегіштер, мысалы, аспирина, индометацин, ибупрофен және т.б. әсер етеді. Аспирин РGH-синтазаның барлық түрін тежейтіні анықталған, бұл ферменттік жүйеде РGH-синтазаның бар жоғын анықтаудың көрсеткіші. Басқа тежегіштердің әсері РGH-синтазаның изоформаларының түріне байланысты болатындығы дәлелденген.

Қойдың қан, бұлшық ет, бүйрек, жүрек ұлпаларынан бөліп алынған ферменттік препараттарының пероксидазды белсенділігіне аспирина әсерін зерттедік. РGH- синтазаның 1мг белокқа шаққандағы фермент препаратын алып, оның үстіне аспирина әр түрлі мөлшерін (10-110мкмоль) қосып, 15 минут 37⁰ С инкубациялаймыз. Содан кейін реакциялық қоспаға (гваякол, гемин, сутегінің қос тотығы) енгіздік, жалпы мөлшерін 0,1М трис-НСІ буфер рН 8,2 ерітіндісімен 3 мл-ге жеткіздік. Қоспаны 30 минут 37⁰ С су моншасында инкубациялаймыз. Сосын РGH-синтазаның белсенділігін 30 минут аралығында түзілген тетрагваяколдың мөлшерінің 1 мг белокқа шаққан түрінде көрсетеміз (1 сурет).

Аспирин пероксидазды белсенділігін тежейтіндігі барлық зерттелетін ферменттік препараттарда РGH-синтазаның болуын дәлелдейді.

Келесі зерттеу жұмыстарында қойдың бұлшық ет, қан, бүйрек және жүрек ұлпаларынан мембранамен байланысқан биферменттік жүйенің пероксидазды белсенділігі субстратқа (сутек қос тотығының), электрон қабылдағыштың мөлшеріне (гваяколдің), кофактор мөлшеріне (геминнің), ортаның рН-на тәуелділігін анықтадық.



Абсисс өсі бойынша: Аспирин мөлшері мкмоль.

Ординат өсі бойынша: Мембрана фракциясындағы PGH-синтазаның пероксидазды белсенділігі, тетрагваяколдың 1 мг белокқа шаққандағы 30 минут ішінде синтезделген мөлшері, оптикалық тығыздығы бойынша

Сурет 1 - PGH-синтазаның белсенділігіне аспиринаң әсері

Асқын су тотығының мөлшеріне тәуелділігін реакциялық қоспаның құрамына ұлпа түріне байланысты әр түрлі мандердегі (бұлшық ет жасушасында 0,2-1,4 ммоль, қан жасушасында 0,3-1,3 ммоль, бүйрек жасушасында 0,5-1,7 ммоль, жүрек жасушасында 0,5-1,7 ммоль аралығында) сутегінің қос тотығын алып пероксидазды белсенділігін анықтадық. Нәтижеде бұлшық ет ұлпасының ферментінде сутек қос тотығының мөлшері 1,2ммоль-ға тең болғанда мембрана фракциясындағы PGH-синтазаның пероксидазды белсенділігі максималды деңгейге жетеді. Сутек қос тотығының мөлшерін 1,2-1,5 ммоль-ға дейін көтерген кезде фермент белсенділігі жоғарламайды не төмендемей бір қалыпта тұрып қалады. Бұл жағдайды былай деп қорытындылауға болады: мембрана фракциясындағы PGH-синтазаның пероксидазды белсенділігі сутек қос тотығының 1,2ммоль мөлшері тетрагваяколдың 30 минут аралығында түзілген, 1мг белокқа шаққандағы максималды мәні болып табылды. Дәл осындай қан клеткаларында сутек қос тотығының мөлшері 0,9ммоль-ға тең болғанда пероксидазды белсенділігі ең жоғарғы деңгейде болады, Ал бүйрек клеткаларында 1,1ммоль-ға тең болғанда белсенділігі ең жоғарғы деңгейде болады. Жүрек клеткаларында 1,3 ммоль болғанда максималды активтілікті көрсетті.

PGH-синтаза ферменттік белсенділігін көрсету үшін реакцияда тотықсыздандырғыштың – электрон қабылдағыштың қатысуы қажет. Реакциялық қоспаның құрамына гваяколдің әр түрлі мөлшері (бұлшық ет жасушасында 0,5-1,7 ммоль, қан жасушасында 0,3-1,5 ммоль, бүйрек жасушасында 0,3-1,5 ммоль, жүрек жасушасында 0,5-1,7 ммоль аралығында) қосылады. Содан кейін пероксидазды белсенділігін анықтаймыз. Нәтижеде, бұлшық ет жасушасынан алынған фермент препараты 1,5 ммоль гваякол мөлшерінде, қан клеткаларының 0,7 ммоль мөлшерінде, бүйрек клеткаларының 0,9 ммоль, жүрек клеткаларының 1,3 ммоль-да жоғарғы активтілікке ие болды.

PGH-синтазаның каталитикалық жұмысқа дайын түрі ол белок: гемин комплексі 1:1 стехиометриялық қатынаста болып табылады. Гемин кофакторы фермент препаратын алу кезінде оңай бөлініп кетеді және ол органикалық емес темір немесе порфиринмен ауыстырылмайды[8]. Осыған байланысты жұмыстың келесі кезінде реакция орталығындағы мембрана фракциясындағы PGH-синтазаның пероксидазды белсенділігінің гемин мөлшеріне тәуелділігі зерттелді. Реакциялық қоспаға геминнің әртүрлі концентриясы (бұлшық ет жасушасында 0,3-1,7 ммоль, қан жасушасында 0,4-2,2 ммоль, бүйрек жасушасында 0,3-1,5 ммоль, жүрек жасушасында 0,5-1,7 ммоль аралығында) қосылып пероксидазды белсенділігін анықталады. Нәтижеде, бұлшық ет жасушасынан алынған фермент препараты геминнің 1,5 ммоль мөлшерінде, қан клеткалары 1 ммоль мөлшерінде, бүйрек клеткалары 1,1 ммоль, жүрек клеткалары 1,5 ммоль мөлшері ең оптималды болып келді.

Простагландиндік реакция өтетін орта ретінде әртүрлі қоспа қолдануға болады, бірақ бәрінеде орта рН шамасы қолданылатын буфердің түрі реакцияның жүруіне, айналуына, түзілетін заттардың мөлшеріне өте маңызды әсер етеді [9].

PGH-синтазаның пероксидазды белсенділігін анықтауда рН-тің мәні зор. Тәжірибеде трис HCl буферінің рН мәндері рН 7-9 аралығында бақыланады.

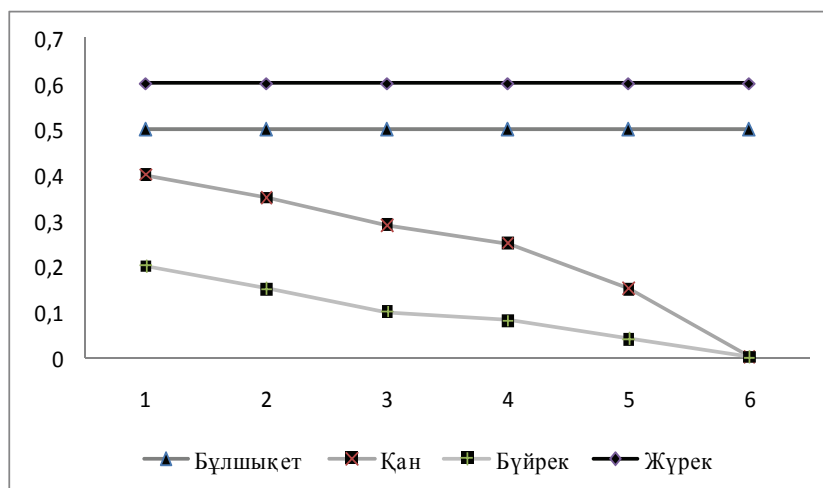
рН оптимумы бұлшық еттің фермент препараты үшін рН=8,5-8,8 аралығында, қан клеткаларының - рН=7,8-8,4, бүйрек клеткаларының - рН= 7,9-8,2, жүрек клеткаларының - рН=8,2-8,5 аралығында оптималды болды (1 кесте).

Жоғарыдағы сандық мәліметтерден салыстыра байқасақ қан мен бүйрек жасушасындағы PGH-синтазаның каталитикалық белсенділігі өзара бір біріне жақын, ал бұлшық ет пен жүрек жасушасындағы PGH-синтазаның каталитикалық белсенділігі өзара жақын екендігі байқалады. Бұл осы төрт ұлпа жасушаларындағы PGH-синтазаның изоформаларының әр түрлі болуы мүмкін деген қорытынды береді.

PGH-синтазаның пероксидазды белсенділігіне аспиринен басқа тежегіштердің әсері PGH-синтазаның изоформаларының түріне байланысты болатындығы дәлелденген. Осыған байланысты жұмыстың келесі сатысында ферменттік препараттардың пероксидазды белсенділігіне индометацин әсерін зерттедік (Аспирин әсерін зерттеу барысымен ұқсас). Зерттеу нәтижесін 2 суретте көрсетілген.

Кесте 1 - PGH-синтазаның каталитикалық белсенділігі

Компоненттер Ұлпа жасушалары	H ₂ O ₂ (ммол)	Гвякол(ммол)	Гемин (ммол)	рН
Қан жасушасында	0,9±	0,7±	1±	7,8-8,4
Бүйрек жасушасында	1,1±	0,9±	1,1±	7,9-8,2
Бұлшық ет жасушасында	1,2±	1,5±	1,5±	8,5-8,8
Жүрек жасушасында	1,3±	1,5±	1,5±	8,5-8,8



Абсисс өсі бойынша: индометацин мөлшері мкмоль. Ординат өсі бойынша: мембрана фракциясындағы PGH-синтазаның пероксидазды белсенділігі

Сурет 2 - PGH-синтазаның белсенділігіне индометациннің әсері

Тәжірибе нәтижесінде, бұлшық ет және жүрек жасушасындағы PGH-синтазаның пероксидазды белсенділігін индометацин тежемейді, қан және бүйрек жасушаларының құрамындағы PGH-синтазаны индометацин тежейді. Бұл қанмен бүйрек жасушаларының

құрамында PGH-синтазаның бір түрдегі изоформасы, ал бұлшық ет пен жүрек жасушасындағы PGH-синтазаның басқа изоформасы болуы мүмкін екенін көрсетеді.

Сонымен, қойдың 4 ұлпасында PGH-синтазаның 2 түрлі изоформасы қызмет атқарады.

Әдебиеттер

1. Joyce J. Diwan. Prostaglandins and related compounds. 2004;110-116
2. Scholz H. Prostaglandins // Am J.Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol.-2003-Vol.285.-P521-514.
3. Fitzpatrick F.A. and Soberman R. Regulated formation of eicosanoids.//J.Clin. Invest.-2001.-Vol.107.-P1347-1351.
4. Sciuili M.G., Seta F., Tassonelli S., Capone M.L., Ricciotti E., Pistrutto G. and Patrignani P. Effects of acetaminophen on constitutive and inducible prostanoid biosynthesis in human blood cells // Br.J.Pharmacol.-2003.-Vol.138.-P634-641.
5. Morita I., Schindler M., Regier M.K., Otto J.C., Hori T., Dewitt D.L. and Smith W.L. Different intracellular locations for prostaglandin endoperoxide H synthase -1 and -2 // J.Biol. Chem.-1995.- Vol.270.-P.10902-10908.
6. Варфоломов С.Д., Мевх А.Т Простагландины – молекулярные биорегуляторы. М. МГУ .1985.
7. Song I. And Smith W.L. C-terminal Ser/Pro-Thr-Glu-Leu tetra peptides of prostaglandin endoperoxide H synthase-1 and -2 target the enzyme to the endoplasmic reticulum // Arch Biophys.-1996.-vol.334.-P.67-72.
8. Chandrasekharan N.V., Dai H., Roos K.L.T., Evanson N.K., et al. COX3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: Cloning, structure and expression // PNAS.-2002.-Vol.99.-N.21.-P.13926-13931.
9. Плехан М.И. Спектрометрия биуретовых комплексов как метод исследования полипептидов и белков. В кн. Химия белка.- М.: МГУ, 1961.- С. 191.

Резюме

Исследованы кинетические характеристики пероксидазной активности PGH-синтазы простагландинсинтазной системы мышц, периферической крови, почки и сердце клеток овец и влияние на активность аспирина и индометацина. Установлено отличие изоформы PGH-синтазы мышц и сердца от изоформы PGH-синтазы периферической крови и почки овец.

Summary

The kinetic properties of peroxides activity of the first enzyme of of muscel, periferical blood, kidney and heart cell were investigated and researched leaven of aspirin and yndometacyn for prostaglandin synthase system. The PGH synthase of musel and heart cell have also isoforme, periferical blood and kidney too.

УДК 541.64

Тажыбаева С.М., Таныбаева А.К., Мусабеков К.Б. ПОЛУЧЕНИЕ АНТИДИАБЕТИЧЕСКИХ КОНДИТЕРСКИХ ГЕЛЕЙ

*Казахский национальный университет им. аль-Фараби
Химический факультет, e-mail: Sagdat.Tazhibaeva@kaznu.kz*

Современное состояние окружающей среды требует увеличения доли пищевых продуктов с минимальным количеством синтетических ингредиентов, которые могут оказывать побочное действие на живой организм. Особую ценность приобретают исследования по разработке рецептур пищевых продуктов антидиабетического назначения. Основными составляющими антидиабетических пищевых продуктов являются пектиновые вещества, которое выводят из организма тяжелые металлы, радионуклиды и регулируют бактериальную флору в желудочно-кишечном тракте. Благодаря своим уникальным биологическим и химическим свойствам, пектины являются основным компонентом многих пищевых продуктов диетического и лечебно-профилактического назначения. Поэтому весьма актуально получение легкоусвояемых кондитерских пищевых продуктов из пектинсодержащего сырья, отличающегося высокой пищевой ценностью.

Структурообразующим компонентом кондитерских гелей являются биополимеры. Имеющиеся в литературе сведения об их структурировании касаются желирования отдельных полимеров [1-2]. Что же касается исследований по технологии кондитерских изделий, в них не уделено достаточного внимания механизмам взаимодействия их