

54  
A-38

Ташкентский государственный университет  
имени В. И. Ленина

---

И. А. АСАТОВ

**Выделение и исследование  
пептидов, щелочных белков  
и альбуминов семян маша, сои  
и некоторых бобовых**

А в т о р е ф е р а т

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата химических наук

ТАШКЕНТ — 1966

10

И. А. АСАТОВ

Выделение и исследование  
пептидов, щелочных белков и  
альбуминов семян маша, сои и  
некоторых бобовых

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата химических наук

Научный руководитель доктор химических наук  
профессор **К. Г. Иоффе**

ТАШКЕНТ — 1966

Работа выполнена на кафедре биологической и судебной химии Ташкентского фармацевтического института

Ученый Совет по присуждению ученых степеней по химическим наукам Ташкентского государственного университета имени В. И. Ленина, направляет Вам для ознакомления автореферат диссертационной работы

**И. А. Асатова.**

Ваши отзывы и замечания просим направить по адресу: г. Ташкент, ул. Выставочная, Вузгородок, химфак.

Защита диссертации намечается *визирь сентябрь* 1966 г.

Дата отправки автореферата „*18*“ /*IX* 1966 г.

Ученый секретарь  
Ученого совета по присуждению  
ученых степеней по химическим  
наукам ТашГУ доктор химичес-  
ких наук

*О. Ошер* (О. С. Отрошенко)

*328817*

Центральная научная  
БИБЛИОТЕКА  
Академии наук Киргизской ССР

Белки входят в структуру протоплазмы и ядра клеток, и являются составными частями биокатализаторов. Животный мир зависит от растительного, потому что белки производятся растительными организмами. Животные, в конечном итоге, только из растительных белков или продуктов их частичного распада строят белки своего тела. Поэтому изучение химических, физических и физико-химических свойств растительных белков имеет теоретическое и практическое значение для биологии и, в частности, медицины.

Следовательно, знание аминокислотного состава и последовательности аминокислот в пептидной цепи является необходимым этапом в изучении белков, так как от последовательности аминокислот в пептидной цепи, иными словами от первичной структуры белков зависят, по-видимому, и вторичная, и третичная структуры.

Целью настоящей работы было: во-первых, разработка метода выделения из спиртового экстракта фракций пептидов (пептиды отделенные от свободных аминокислот), белков, осаждаемых из водного экстракта щелочью и альбуминов семядолей семян некоторых бобовых растений; во-вторых, определение аминокислотного состава, электрофоретического поведения, N-концевых аминокислот и других физико-химических свойств этих препаратов.

Необходимость проведения такого исследования обусловлена в значительной степени тем, что вышеуказанные азотистые компоненты семян бобовых гораздо слабее изучены, чем глобулины этих семян, а щелочные белки вообще не изучены.

Сотрудниками кафедры биохимии Ташфарминститута при участии аспиранта Института ботаники АН УзССР А. Р. Рахимова, был разработан общий препаративный метод ступенчатого извлечения белков и пептидов из семян семейства бобовых. Этот метод был положен в основу разделения и получения отдельных белковых и пептидных фракций изучаемых объектов.

Для исследования были взяты семена следующих бобовых растений.

1. Маш (*Phaseolus aureus* Rohb) сорт «Победа-104».
2. Соя (*Glycine hispida* Max) сорт «Кубанский-276».
3. Нут (*Cicer arietinum* L) сорт «Азербайджанский-583».
4. Вигна или лобия (*Vigna sinensis* End) сорт «Гибридная-7».

Семена всех этих видов были получены из Среднеазиатской опытной станции ВИР. Среди этих семян, по содержанию белка, маш занимает второе место и считается по усвояемости организмом человека, питательности, развариваемости и пищевым достоинствам превосходящим фасоль, нут и горох. Поэтому из семян маша местные жители Средней Азии, и особенно жители Узбекистана, готовят различные блюда.

#### Выделение фракции пептидов

В перечне аминокислот, характеризующих состав свободных аминокислот, извлекаемых спиртом, отсутствуют такие аминокислоты как лизин, пролин, гистидин, цистин, глицин, треонин. Кроме того, о выделении пептидов и об аминокислотном составе их, мы не нашли ни одного сообщения в доступной нам литературе.

Муку семядолей семян бобовых (маш, соя, нут, вигна) полностью обезжиренную эфиром, а затем ацетоном, исчерпывающе экстрагировали 70%-ным этиловым спиртом (фракция № 1). Полученные спиртовые экстракты унаривали в вакууме до 1/3 первоначального объема. К концентрированному спиртовому экстракту добавляли двойной объем ацетона и центрифугировали. Образовавшуюся гигроскопическую массу растирали с сухим ацетоном до образования сыпучего порошка. Таким образом, получили фракцию, осаждаемую ацетоном (ФОА)—смесь свободных пептидов, так как свободные аминокислоты полностью вымывались из смеси ацетоном. ФОА представляет собой слегка желтоватый порошок, хорошо растворимый в воде и 70%-ном спирте. Значительная часть вещества из раствора проходит через коллоидную мембрану.

Общий выход и содержание азота в ФОА приведены в табл. 1.

Таблица 1

Выходы ФОА, содержание азота в них и в спиртовых экстрактах муки семян исследованных бобовых (в % от общего азота)

Виды растений	Количество азота		Выход ФОА в расчете на воздушно-сухую муку в проценте
	в спиртовых экстрактах	в ФОА	
Маш	9,7	8,9	7,4
Соя	10,5	9,1	8,2
Нут	5,6	6,9	7,0
Вигна	6,9	7,2	4,1

#### Выделение фракции щелочных белков

В доступной нам литературе мы не нашли ни одного исследования, посвященного изучению белков осаждаемых щелочью из водного экстракта семядолей семян бобовых.

Водный экстракт обезжиренной муки семян бобовых содержит группу белков, осаждаемых кислотой, и группу белков, осаждающихся разными концентрациями щелочи (или пиридином).

Оставшаяся после экстрагирования спиртом мука была трехкратно экстрагирована водой в соотношении 1:5; 1:4; 1:3 при механическом перемешивании во вращающейся мешалке в течение 2 часов. Суспензия была центрифугирована первый раз в течение 50 мин., а второй и третий— по 30 минут при 3000 об/мин, т. е. при 1200×g.

Трехкратное экстрагирование муки водой давало практически полное извлечение соответствующих белковых фракций. Мы проводили пяти—или шестикратное экстрагирование с большими периодами взбалтывания. Однако такое удлинение времени экстрагирования не имело заметных преимуществ перед принятым способом.

Подкисление 4%-ной соляной кислотой водного экстракта до pH 3,9 - 4,1 (для белков различных бобовых) вызвало выпадение обильного осадка (фракция № 2). Осадок этот был отделен на центрифуге.

К прозрачному фильтрату от фракции № 2 добавляли до pH 5,8 4%-ный раствор едкого натрия и к слабощелочной жидкости, затем добавляли 0,2 н раствор натриевой соли

щавелевой кислоты для удаления ионов кальция, который совместно с белками экстрагируется из муки. Осадок удаляли фильтрованием. Прозрачный фильтрат при подщелачивании 4%-ным раствором щелочи (NaOH, KOH) давала осадок при pH 7,5—7,6 (фракция № 3 фитин).

Дальнейшее добавление щелочи к прозрачной надосадочной жидкости, после отделения фитина на центрифуге, приводило к образованию небольших количеств рыхлых, медленно оседавших хлопьев, которые были собраны на центрифуге.

В табл. 2 приведены номера фракций и значение pH, при которых происходило образование осадков. Обычно получали 3—5 щелочных фракций (фракция № 4<sub>1</sub> до 4<sub>6</sub>).

Таблица 2

**Значение pH для формирования осадков щелочных белков из различных семян бобовых**

Виды растений	Величины pH и №№ фракций						
	№ 3 фитин	4 <sub>1</sub>	4 <sub>2</sub>	4 <sub>3</sub>	4 <sub>4</sub>	4 <sub>5</sub>	4 <sub>6</sub>
Маш	7,5—7,6	9,3	9,5—9,7	10,3—10,5	—	11,7	12,5
Соя	7,6	8,5—9,2	9,5—9,8	10,5	—	11,9	—
Вигна	—	9,0	9,7—9,8	—	11,2	11,8	12,4
Нут	7,8	—	—	10,5	11,1	—	12,1

Следует отметить, что первоначальное легкое помутнение при подщелачивании недосадочной жидкости, превращалось только через 20—30 минут в рыхлый хлопьевидный осадок, окрашенный в желтоватые тона. Раствор при дальнейшем прибавлении щелочи некоторое время оставался прозрачным и помутнения не появлялось. При дальнейшем добавлении щелочи помутнение появлялось вновь, когда был пройден какой-то интервал (см. табл. 2).

Щелочные фракции белков также получали из водного экстракта добавлением пиридина, вместо щелочи.

Для освобождения от солей, некоторые белковые фракции пропускали через колонку со смолой Дауэкс 50x2; другие фракции очищали на колонке Сефадекс Г—25.

Полученные нами фракции щелочных белков до высушивания представляли собой слегка желтоватые очень гигроскопичные массы, после сушки менявшие свой цвет на темно-коричневый.

**Выделение фракции альбуминов**

В доступной нам литературе мы не нашли описания применяемого нами метода получения фракции альбуминов из водного экстракта семян бобовых.

В литературе имеются несколько сбивчивые данные, как нам кажется, о группе альбуминов из семян бобовых. Хотя за последнее время в этом направлении проводятся ценные исследования (В. В. Саянова, Ю. Я. Гофман, 1965), но нет твердого общепринятого метода выделения их и, следовательно, нет их полной характеристики. Поэтому мы разработали свой улучшенный метод выделения альбуминов.

Для выделения фракции альбуминов использована надосадочная жидкость от фракции щелочных белков. Очищенный от фитина экстракт был насыщен сухим хлоридом натрия, выпавший незначительный темно-окрашенный осадок выброшен, так как был в очень малом количестве. При подкислении 4%-ной соляной кислотой до pH 1,9 — 2,0 из надосадочной жидкости выпадал обильный хлопьевидный осадок, слабо окрашенный в красно-розовый цвет — альбумины. Последний после центрифугирования был, в зависимости от поставленной цели, или высушен спиртом, а затем эфиром или растворен добавлением 4%-ного едкого натрия, диализован против воды и высушен лиофилизацией. В результате были получены гигроскопические белые порошки, хорошо растворимые в воде и разбавленных водных растворах солей и щелочей.

**Исследование фракции пептидов, осаждаемых из спиртового раствора ацетоном (ФОА)**

Методом бумажной хроматографии полного гидролизата (5,7 н HCl, запаянный капилляр, кипящая водяная баня, 24 часа) в ФОА маша и сои обнаружено присутствие следующих аминокислот: в ФОА маша — цистин, аспарагиновая кислота, глютаминовая кислота, лизин, гистидин, аргинин, серин, глицин, аланин, валин — метионин и пролин; а в ФОА

сои—цистин, аспарагиновая кислота, лизин, серин, гистидин, глицин, аргинин, глутаминовая кислота, треонин, аланин, тирозин и пролин.

По качественному содержанию отдельных аминокислот ФОА маша и сои близки друг другу, но в ФОА маша, в отличие от ФОА сои, присутствует метонин и валин, а в сое этих аминокислот не содержится, но зато присутствует треонин и тирозин.

Электрофорезом на бумаге в аппарате Марки ЭФА-1, в различных буферных системах установлена гетерогенность ФОА; она состоит из семи электрофоретических фракций. Четкое разделение получилось в мединал-вероналовом и боратном буфере при продолжительности форефаза в 4 часа. Одномерной и двухмерной хроматографией на бумаге ФОА маша, сои, нута и вигны также установлено наличие минимум семи компонентов.

Величины  $R_f$  и процентное соотношение приведены в табл. 3.

Таблица 3

Величины  $R_f$  и количества отдельных пептидных фракций в % от общего количества суммарной фракции пептидов (по спектрофотометрическим данным)

Виды растений		№№ подфракций						
		1	2	3	4	5	6	7
Маш	$R_f$	0,24	0,29	0,35	0,55	0,60	0,79	0,90
	%	4,39	6,60	11,50	9,53	39,90	5,86	22,10
Соя	$R_f$	0,23	0,28	0,32	0,38	0,51	0,63	0,65
	%	4,31	6,19	5,87	8,27	45,08	6,95	22,90
Нут	$R_f$	0,20	0,26	0,30	0,34	0,39	0,52	0,83
	%	6,7	40,19	5,74	5,74	26,95	7,33	7,34
Вигна	$R_f$	0,28	0,33	0,40	0,46	0,50	0,56	0,75
	%	13,43	9,70	17,49	9,48	40,06	5,64	4,18

Как видно из табл. 3 выход отдельных подфракций очень различается; в ФОА маша, сои и вигны самый высокий выход подфракции № 5, а в ФОА нута—подфракция № 2.

**Раздельные ФОА на отдельные подфракции.** Для этого на бумагу размером 25x60 см было нанесено 100 мг вещества—распределено на 25 кружочка. После 96 часов развития хроматограмм в растворителе бутанол-уксусная кислота—вода(4:1:5) с обеих краев бумаги отрезались две полосы, содержащие ориентир и стандартные аминокислоты. Полосы проявляли раствором нингидрина и, ориентируясь на разделении семи подфракций вырезали соответствующие полоски из „центральных“ участков; их элюировали по Денту—Иоффе (1954). Элюаты высушивали в вакуум эксикаторе над  $P_2O_5$  и сухой остаток подвергали дальнейшему исследованию.

Электрофоретическое исследование подфракций, полученных из ФОА, обнаружило на каждой фореграмме только одно пятно. Следовательно, хроматография и электрофорез (оба на бумаге) дали согласующиеся друг с другом результаты. Одному пятну на хроматограмме соответствовало одно пятно на электрофореграмме.

Хроматографией на бумаге полного гидролизата (5,7 и HCl) каждой из семи подфракций маша, сои и двух подфракций нута и вигны по-отдельности, установлен аминокислотный состав их. Оценку количества аминокислот производили визуально и спектрофотометрически (для пептидов № 5 и № 7).

Результаты исследования аминокислотного состава маша и сои представлены в табл. 4.

Таким образом, в общей сложности ФОА маша и сои содержат по 12 аминокислот и по величине пятен располагаются в следующем порядке: в ФОА маша гистидин, цистин, глутаминовая кислота, аланин и др.; в ФОА сои—глутаминовая кислота, глицин, цистин, аланин, лизин и др.

Фенилизотиоционатным методом определены N—концевые аминокислоты подфракций № 7 препаратов маша и сои. В маше N—концевым был гистидин, а в Сое—глицин.

На основании результатов этого анализа, эти фракции являются однокомпонентными, то есть, по-видимому, химически индивидуальными. Таким образом, пептид № 7 сои может быть представлен как Гли—(Ала, Сер), а такой же пептид маша, как Гис—(Глю, Цис, Ала).

Таблица 4

Аминокислотный состав семи пептидных подфракций спиртового экстракта семян маша и сои после полного гидролиза их (спектрофотометрически и визуально)

Название аминокислот	Количество аминокислотных остатков, найденных в отдельных подфракциях													
	маш							соя						
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7*
Глицин . . . . .	—	2	1	2	—	—	—	—	2	—	—	1	—	4
Аланин . . . . .	—	1	—	—	3	1	1	—	—	—	2	—	2	1
Серин . . . . .	—	2	—	—	—	1	—	—	—	1	—	—	—	2
Треонин . . . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	—	—
Цистин . . . . .	—	1	—	—	3	1	1	1	—	3	—	2	1	—
Аспарагиновая кислота	2	—	—	—	—	—	—	—	1	1	—	—	—	—
Глютаминовая кислота	1	—	—	—	2	—	3	3	—	2	—	—	3	—
Аргинин . . . . .	—	—	—	3	—	—	1	—	—	1	—	—	—	—
Лизин . . . . .	—	—	2	2	—	—	—	—	—	—	3	1	—	—
Гистидин . . . . .	4	3	3	3	1	2	3	—	—	1	—	—	—	—
Тирозин . . . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—
Метионин-валин . . . .	2	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Пролин . . . . .	—	—	—	1	2	—	—	—	—	—	—	3	—	—
Число остатков аминокислот в пептидной подфракции . . . . .	9	11	8	11	11	5	9	4	3	9	5	11	6	7

Как видно из таблицы, количество аминокислотных остатков в подфракциях ФОА маша и сои различно и содержит от 3 до 11 аминокислотных остатков.

### Исследование фракции щелочных белков

Для обнаружения белкового компонента, составляющего фракцию щелочных белков, были подвергнуты электрофорезу в аппарате для электрофореза собственной конструкции, а также и в аппарате марки ЭФА-1 на бумаге.

Опыты ставили в различных буферных растворах.

Напряжение электрического поля на концах бумажной полоски составляло 6 в/см и 2 ма на одну электрофореграмму, шириной 3 и длиной 33 см. Хорошее разделение получено при продолжительности электрофореза в течение 7—8 часов.

Исследуемые фракции щелочных белков оказались гетерогенными и состоящими каждая минимум из двух или трех электрофоретических компонентов.

Аминокислотный состав фракций щелочных белков определяли в кислотных гидролизатах методом двухмерной распределительной хроматографии на фильтроальной бумаге (фирма «Нидершлаг» в ГДР) размером 60x52 см. Качество бумаги было предварительно проверено и установлено время прогона. Для очистки белковых гидролизатов от гуминовых веществ добавляли к ним кусочки олова или SnCl<sub>2</sub> и выпаривали досуха в водяной бане с непрерывным поддуванием воздухом, что ускоряет процесс упаривания; удаляли кусочек олова, промывали его 2—3 каплями дистиллированной воды и раствор снова выпаривали. Это повторяли 2—3 раза, чтобы полностью удалить соляную кислоту. К сухому остатку добавляли 0,2—0,3 мл дистиллированной воды и пропускали сероводород для связывания олова. Очистку от осадка сульфидов олова и гуминовых веществ производили фильтрованием через ватный фильтр. Фильтраты выпаривали досуха, остаток растворяли в определенном количестве дистиллированной воды и наносили на хроматографическую бумагу.

На двухмерных хроматограммах полных гидролизатов отдельных фракций найден полный набор всех белковых аминокислот (кроме триптофана); особенно много содержится щелочных и дикарбоновых аминокислот. Обращает на себя внимание содержание большого количества азота по сравнению с глобулинами и альбуминами, например, маш-фракция 4<sub>2</sub> содержит 17,20% азота, фракция 4<sub>2</sub> — 17,00%, соя фракция 4<sub>3</sub> — 17,25% и фракция 4<sub>3</sub> — 16,40%, а альбумин маша содержит 14,26% азота и соя 14,96%. Это является характерной чертой для гистонов.

В зародышах семян маша также удалось найти в очень небольшом количестве аналогичную фракцию щелочных белков. Гидролиз ее с последующим хроматографированием гидролизата дал картину очень похожую на хроматограмму гидролизатов щелочных белков.

Природу N-концевых аминокислот во фракциях белков осаждаемых щелочью устанавливали фтор-динитробензолным методом с частичным изменением. Нами для экстракции ДНФ-аминокислот был применен новый органический растворитель — смесь пиридина с этилацетатом (1:9).

Выделенные фракции по содержанию N—концевых аминокислот не являются идентичными, например, в маше (фракция 4<sub>3</sub>) N—концевыми аминокислотами являются аланин, глутаминовая кислота, глицин и лизин; маш (фракция, полученная добавлением пиридина) N—концевыми аминокислотами являются серин, глутаминовая кислота, треонин и лизин; соя (фракция, полученная добавлением пиридина) N—концевыми аминокислотами являются серин и лизин.

Эти щелочные белки не являются случайными или оставшимися кислотно-осаждаемыми белками, так как последние содержат другие крайние аминокислоты: аспарагиновую кислоту, глицин и аланин, а в выделенных нами щелочных белках содержатся другие N—концевые аминокислоты.

#### Исследование фракции альбуминов

Содержание азота в воздушно-сухом препарате определяли по микрометоду Кьельдаля и установили, что азот в альбуминах маша составляет  $14,26\% \pm 0,23$ , а в альбуминах сои— $14,96\% \pm 0,20$ .

Анализ аминокислотного состава производили в кислотных гидролизатах альбуминов методом двухмерной распределительной хроматографии на бумаге.

Хроматографический и химический анализ показал, что исследуемые препараты содержат полный набор белковых аминокислот.

Для обнаружения белковых компонентов, составляющих фракцию альбуминов, они были подвергнуты электрофорезу на бумаге и на агаровом геле. Результаты исследования приведены ниже.

Этим методом в разных буферных растворах при различных значениях pH обнаружено в альбуминах три компонента, отличающихся по подвижности:

##### А. Подвижность (U) на бумаге

Альбумин маша:

Компонент I,	$U = + 1,3 \cdot 10^{-5} \text{ см}^2 \text{ V}^{-1} \text{ сек}^{-1}$
Компонент II,	$U = - 2,9 \cdot 10^{-5} \text{ см}^2 \text{ V}^{-1} \text{ сек}^{-1}$
Компонент III,	$U = - 1,4 \cdot 10^{-4} \text{ см}^2 \text{ V}^{-1} \text{ сек}^{-1}$

Альбумин соя:

Компонент I,	$U = + 5,3 \cdot 10^{-5} \text{ см}^2 \text{ V}^{-1} \text{ сек}^{-1}$
Компонент II,	$U = - 3,6 \cdot 10^{-5} \text{ см}^2 \text{ V}^{-1} \text{ сек}^{-1}$
Компонент III,	$U = - 3,3 \cdot 10^{-4} \text{ см}^2 \text{ V}^{-1} \text{ сек}^{-1}$

##### Б. Подвижность на агаровом геле

Альбумин маша:

Компонент I,	$U = + 0,8 \cdot 10^{-5} \text{ см}^2 \text{ V}^{-1} \text{ сек}^{-1}$
Компонент II,	$U = - 1,3 \cdot 10^{-5} \text{ см}^2 \text{ V}^{-1} \text{ сек}^{-1}$
Компонент III,	$U = - 1,6 \cdot 10^{-4} \text{ см}^2 \text{ V}^{-1} \text{ сек}^{-1}$

Альбумин соя:

Компонент I,	$U = + 0,7 \cdot 10^{-5} \text{ см}^2 \text{ V}^{-1} \text{ сек}^{-1}$
Компонент II,	$U = - 4,2 \cdot 10^{-5} \text{ см}^2 \text{ V}^{-1} \text{ сек}^{-1}$
Компонент III,	$U = - 3,0 \cdot 10^{-4} \text{ см}^2 \text{ V}^{-1} \text{ сек}^{-1}$

Таким образом, альбумины тоже являются полидисперсными.

Природы N—концевых аминокислот установили фенилизотиоцианатным методом с последующей регенерацией и нашли у N—концов пептидных цепей альбуминов маша наличие глутаминовой кислоты, лизина, серина, гистидина и аланина, а в сое—глутаминовой кислоты, гистидина и лизина.

По литературным данным альбуминовая фракция белков муки семян сои содержит различные ферменты (В. Л. Кретович и сотр.—1954, К. Е. Даниельсон—1956), поэтому дальнейшее изучение этой фракции представляет значительный биохимический интерес. С целью получения индивидуальных белков было применено несколько методов разделения белков: 1) переосаждение из нейтрального раствора путем прибавления этилового спирта различной концентрации; 2) образование меркаптоальбуминов; 3) переосаждение из нейтрального раствора различными количествами ацетона; 4) фракционирование проточным электрофорезом в агаровом геле. Однако попытки получить отдельные компоненты не были успешны.

Контроль идентичности полученных фракций производили методом определения N—концевых аминокислот (И. А. Вайнтриб—1962).



## В Ы В О Д Ы

1. Нами разработан общий метод выделения смеси пептидов из обезжиренной муки семян бобовых (маш, соя, нут, вигна) хроматографией на бумаге смеси пептидов установили, что они состоят из семи разной сложности пептидных подфракций. Установлено, что они отличаются друг от друга по электрофоретической подвижности.

2. Определен аминокислотный состав общей фракции осаждаемой ацетоном и отдельных пептидных подфракций. В продуктах полного гидролиза различных подфракций обнаружено присутствие от 3 до 11 аминокислотных остатков.

3. На основании определения природы N-концевой аминокислоты подфракции № 7, по-видимому она является монодисперсной. В сое находится N-концевой глицин, а в маше — гистидин. Таким образом, пептид № 7 сои может быть представлен как Гли—(Ала, Сер), а такой же пептид маша, как Гис—(Глю, Арг, Цис, Ала). Электрофорез отдельных подфракций также указывает на их монодисперсность.

4. Впервые удалось выделить из водного экстракта семядолей семян бобовых несколько фракций щелочных белков. Определением аминокислотного состава каждой фракции установлено, что она содержит набор всех белковых аминокислот (кроме триптофана) и является, по-видимому, высокомолекулярным белковым веществом.

5. Изучением N-концевых аминокислот и электрофоретических свойств щелочных белков установлена их большая гетерогенность, хотя они все осаждаются при щелочной среде.

6. По новой разработанной нами методике выделены из водного экстракта чистые альбумины после предварительного удаления глобулинов, ионов кальция, щелочных белков и фитина. Альбумины осажжены насыщением их раствора поваренной солью и подкислением до pH 1,9—2,0.

7. Изучением электрофоретического поведения альбуминов в разных буферных растворах при различных значениях pH, обнаружено присутствие трех компонентов, отличающихся по подвижности. Попытка разделить эти компоненты на индивидуальные вещества, оказалась безуспешной, хотя было применено несколько способов фракционирования.

8. Фенилизотиоцианатным методом установлено наличие у N-концов пептидных цепей альбуминов глютаминовой кислоты, гистидина, лизина, серина и аланина в альбуминах маша; в альбуминах сои найдены у N-конца глютаминовая кислота, гистидин и лизин, т. е. две последние аминокислоты маша в сое отсутствуют.

9. Установлено некоторое сходство азотистых фракций семян изученных нами растений (маш, соя, нут, вигна).

Текст диссертации содержит 5 глав на 200 страницах машинописи, из них 26 страниц занимает перечень литературы. Работа иллюстрирована 20 таблицами, 37 фото электрофореграмм, хроматограмм и кривых аминокислот и одной схемой.

Литературный указатель насчитывает 245 отечественных и зарубежных работ.

## С П И С О К

### работ, опубликованных по теме диссертации

1. Асатов И. А. — Тезисы докладов к Юбилейной научной конференции Ташкентского фармацевтического института. Ташкент, Медгиз, 1962, стр. 115.

2. Асатов И. А., Иоффе К. Г. — Тезисы докладов к 1 Всесоюзному биохим. съезду. М. Л., изд-во Ан СССР, 1963, вып. 3, стр. 78.

3. Асатов И. А. — Материалы I Республ. конфер. молодых ученых-медиков, изд-во „Медицина“ УзССР, Ташкент, 1964, стр. 131.

4. Асатов И. А., Иоффе К. Г. — Химия природн. соедин., 1, 40 (1966).

5. Асатов И. А. — Труды Таш. фармацевтического института, IV, 538, Ташкент, 1966.

6. Асатов И. А., Иоффе К. Г. — Труды Ташкентского фармацевтического института, IV, 685, Ташкент, 1966.

7. Иоффе К. Г., — Рахимов А. Р., Асатов И. А. и Ламм Г. Я. — Биохимия (в печати).

Некоторые разделы работ, доложены  
на следующих совещаниях

1. Пятый Международный биохимический конгресс, Москва, 1961.
2. Юбилейная научная конференция, Ташкентс. фармацевтического института, Ташкент, 1962.
3. Первый Всесоюзный биохимический съезд, Ленинград, 1964.
4. Вторая Всесоюзная межвузовская отчетно-коорд. конференция по химии природ. соединений, Ташкент, 1964.
5. Заседание биохимического общества отд. АН УзССР, Ташкент, 1964.
6. Научная конференция профессорско-преподавательского состава Ташкентского фармацевтического института, 1965.
7. Первая республ. конференция молодых ученых-медиков, Ташкент, 1964.

328817



