

## **Кинетические характеристики бифункционального ингибитора альфа-амилазы/трипсина из зерна пшеницы**

**Исламов Ринат Алимжанович**

*младший научный сотрудник*

*Институт молекулярной биологии и биохимии им. М.А. Айтхожина МОН РК,*

*Алматы, Казахстан*

*E-mail: reti\_rp@mail.ru*

Бифункциональные ингибиторы широко распространены во многих высших растениях, но особенно богаты ими злаковые культуры, такие как пшеница, ячмень, кукуруза, рис, овес и др. В лаборатории биохимии зерновых культур из зерна пшеницы (Саратовская 29) впервые был выделен и изучен новый бифункциональный ингибитор альфа-амилазы млекопитающих и трипсина. В предыдущих работах было показано, что ингибитор имеет два независимых центра связывания, а также аминокислоты, задействованные во взаимодействии с ферментом. Реактивный центр связывания трипсина включает в себя аргинин, тогда как во взаимодействии с альфа-амилазой участвуют лизин и ароматические аминокислоты. Бифункциональный ингибитор показал высокую специфичность (не действовал на химоотрипсин, субтилизин, проназу, протеиназу К, папаин и растительные  $\alpha$ -амилазы), термостабильность (до 90°C) и рН-устойчивость (до 1,5).

Важнейшими свойствами ингибитора являются его кинетические характеристики, прежде всего тип ингибирования и  $K_i$ . В данной работе в качестве субстратов были использованы синтетический – ВАЕЕ, и природные – азоказеин и гемоглобин. С ВАЕЕ ингибирование шло по неконкурентному типу с  $K_i \leq 10^{-7}$  М в тоже время с азоказеином наблюдалось неполное неконкурентное ингибирование, с гемоглобином – конкурентный тип ингибирования, с  $K_i=10^{-10}$  М для обоих случаев. В изучении ингибирования альфа-амилазы бифункциональным ингибитором использовался растворимый картофельный крахмал. Ингибирование амилазы шло по неполному неконкурентному ингибированию, с  $K_i=10^{-10}$  М.

Результаты исследований показали, что полученный нами новый бифункциональный ингибитор имел высокое сродство к трипсину и альфа-амилазе млекопитающих, следовательно, его физиологическая роль в растении заключается в ингибировании экзогенных форм гидролаз. Доказательством этого может служить тот факт, что слюна многих насекомых-вредителей посевов пшеницы содержит трипсазы – трипсин-подобные ферменты. В дальнейших исследованиях планируется изучить регуляцию синтеза ингибитора, а также более подробно его структурно-молекулярную организацию. (Научный руководитель – доктор биологических наук, профессор О.В. Фурсов)