

Архив журнала

Вопросы медицинской химии

ISSN 0042-8809

1990

Том 36 выпуск 2

Внимание! Распознавание текста проведено в автоматическом режиме для облегчения работы поисковых систем. Будьте внимательны при копировании, возможны ошибки и неточности. Используйте сканированный графический вариант.

Archive of journal

Voprosy meditsinskoi khimii

ISSN 0042-8809

1990

Volume 36 issue 2

Attention! OCR has been performed automatically for search engines only. Be careful when copying, errors are possible. Use scanned picture as standard.

<http://pbmc.ibmc.msk.ru>

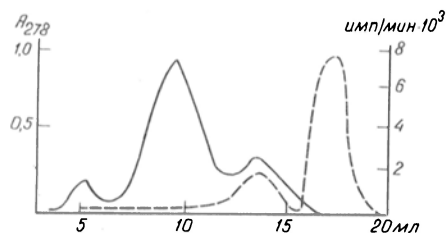


Рис. 6. Продукты протеолиза эластина, обработанного $[^{14}\text{C}]$ -формальдегидом.

Сплошная линия — оптическая плотность при A_{278} ; пунктирная — имп/мин $\cdot 10^3$.

тканей. Однако обратимая деформируемость этого белка возможна при условии, что отдельные фибриллы (или полипептидные цепи) обладают достаточной кинетической свободой по отношению друг к другу. В связи с этим молекулы эластина имеют удаленные друг от друга на большом расстоянии, редкие поперечные связи, которые в основном представлены двумя уникальными поперечно связывающими соединениями — десмозином и изодесмозином [21].

Таким образом, биохимические исследования эластина, обработанного формальдегидом, свидетельствуют, что не происходит, по-видимому, прочного связывания его с эластином, сопровождающегося образованием дополнительных поперечных сшивок, а имеют место конформационные изменения и метилирование белка по концевым NH_2 -группам. Последнее дает основание полагать, что увеличение прочностных характеристик модифицированных ксенотрансплантатов по сравнению с необработанными артериями объясняется увеличением поперечных сшивок в молекулах коллагена сосудистой стенки. Роль эластина в этом процессе весьма незначительна.

Представленные данные указывают на то, что обработка сосудистой стенки растворами альдегидов не приводит к существенному уменьшению гидролиза эластина специфическими и неспецифическими протеазами. Возможно, что эластин сосудистых ксенотрансплантатов может быть подвергнут ферментному воздействию в организме реципиента на различных этапах после трансплантации. Это может приводить к нежелательным изменениям механических характеристик трансплантата и влиять на параметры гемодинамики. Комплекс вопросов, связанных с этой проблемой, подлежит дальнейшему изучению.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бохуа Н. К., Чомахидзе А. В., Пурия Б. А., Касьянов В. А. // Всесоюзная конф. сердечно-сосудистых хирургов, 2-я: Тезисы докладов. — М., 1978. — С. 255—256.
2. Кротовский Г. С., Дронов А. Ф. и др. // Там же. — С. 267—268.
3. Лебедев Л. В., Плоткин Л. Л., Смирнов А. Д. Протезы кровеносных сосудов. — Л., 1975.
4. Пурия Б. А., Касьянов В. А. Биомеханика крупных кровеносных сосудов человека. — Рига, 1980.
5. Реброва Г. А., Денисов-Никольский Ю. И. // Вопр. мед. химии. — 1981. — № 5. — С. 694—698.
6. Реброва Г. А., Денисов-Никольский Ю. И., Ромаков Ю. А. // Там же. — 1984. — № 6. — С. 102—106.
7. Vaughn R. J., Travis J. // Biochemistry (Wash.). — 1976. — Vol. 5. — P. 836—841.
8. Barker H., Oliver R., Grant R., Stephen L. // Biochim. biophys. Acta. — 1980. — Vol. 632. — P. 589—597.

9. Bjorksten J., Sundholm F. // Rejuvenation. — 1984. — Vol. 12. — P. 43—46.
10. Bucker B. R. et al. // Biochim. biophys. Acta. — 1978. — Vol. 539. — P. 267—273.
11. Cortivo R., Pagano F. // Brit. J. Urol. — 1981. — Vol. 53. — P. 134—137.
12. Cunningham L. W. // Meth. Enzymol. — 1982. — Vol. 82. — P. 671—689.
13. Dardik H., Ibrahim I. M., Sprayregen S. et al. // Surgery. — 1976. — Vol. 79. — P. 618—624.
14. Uitto J. // J. invest. Derm. — 1979. — Vol. 72. — P. 1—10.
15. Harris E. D., Farrell M. E. // Biochim. biophys. Acta. — 1972. — Vol. 278. — P. 133—141.
16. Horstmann H. J. // Analyt. Biochem. — 1979. — Vol. 30. — P. 130—143.
17. Houle D., LaBella F. // Connect. Tissue Res. — 1977. — Vol. 5. — P. 83—89.
18. Korneld-Poullain M. // Bull. Soc. Chim. Biol. — 1968. — Vol. 5. — P. 759—771.
19. Lansing A. J., Rosental T. // Anat. Rec. — 1952. — Vol. 144. — P. 555—572.
20. Richmond V. L. // Biochim. biophys. Acta. — 1981. — Vol. 669. — P. 193—205.
21. Sage H. // Comp. Biochem. Physiol. — 1983. — Vol. 74-B. — P. 373—380.
22. Sandberg H., Sossell M. // New Engl. J. Med. — 1981. — Vol. 304. — P. 566—579.
23. Stegmann H., Sandler K. // Clin. chim. Acta. — 1967. — Vol. 8. — P. 267—273.

Поступила 30.01.89

CHARACTERISTICS OF ELASTIN FROM HUMAN LARGE ARTERIES WALL AFTER TREATMENT WITH FORMALDEHYDE

G. A. Rebrova, Yu. A. Romakov, Yu. I. Denisov-Nikol'sky, A. P. Mikhalev

Laboratory of Biological Structures, Ministry of Public Health of the USSR, Moscow.

Biochemical studies of elastin from human large arteries wall were carried out using both native and treated with formaldehyde protein. No differences were observed in sensitivity of native and formaldehyde treated elastin to the effect of various proteases and to alkaline-alcohol hydrolysis. Fractions obtained after enzymatic and alkaline hydrolysis were similar in their composition.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1990

УДК 615.357:577.152.276].012.6

Е. Е. Арутюнян, И. М. Грубер, В. М. Поляченко, И. И. Никольская, С. С. Дебов

СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ МЕТИЛАЗ SAU 6782-ТИПА

НИИ медицинской энзимологии АМН СССР, НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова АМН СССР, Москва

Проблема энзиматического метилирования как одного из механизмов модификации ДНК является одной из актуальных в современной молекулярной биологии. Пристальное внимание к метилированию ДНК в целом и к изучению функциональной роли отдельных метилирующих ферментов обусловлено тем, что метилазы (МТЛ) играют существенную роль в процессах обмена генетической информацией у прокариот [1], определяют возможность переноса и стабильность плазмид [9], участвуют в регуляции экспрессии отдельных генов и целых оперонов [12], в функционировании репликативных комплексов [8], мутагенезе [7, 10].

Сайт-специфические ферменты — рестриктазы

(РЭ) и МТЛ — нашли широкое применение в экспериментах *in vitro*. Эти ферменты являются удобной моделью для изучения механизма белок-нуклеинового взаимодействия [7, 9], используются в качестве молекулярных зондов при исследовании структурно-функциональной организации ДНК высших организмов [3]. Кроме того, РЭ и МТЛ играют ведущую роль в экспериментах по генной инженерии.

Бактериальные штаммы, как правило, характеризуются множественностью метилирующих ферментов [14]. Изучение их функциональной роли связано с получением индивидуальных МТЛ. При этом их выделение из суммарного клеточного пула представляет собой проблему, требующую в качестве предварительного этапа работы изучения свойств суммарного препарата МТЛ с последующей разработкой схемы фракционирования.

Объектом настоящего исследования явился бактериальный штамм *S. aureus* 6782, в котором ранее нами было доказано наличие системы хозяйской специфичности (СХС) [4] и выделена РЭ *Sau* 6782. Цель работы — выделение индивидуальных фракций МТЛ *Sau* 6782, свободных от примесей РЭ и неспецифических нуклеаз. Изучение распределения пиков РЭ и МТЛ при различных видах колоночной хроматографии и выбор наиболее адекватной схемы разделения представляются нам необходимыми условиями для последующего успешного поиска модифицирующей МТЛ *Sau* 6782.

Методика

В работе использовали: бактериальный штамм *S. aureus* 6782 из музея НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова АМН СССР; ДНК фага λ производства ИПО «Фермент» (Вильнюс), ДНК тимуса («Sigma», США); агарозу, 0,5 М биогель А («Bio-Rad», США); голубую сефарозу С1 6В (ГС), фенил-сефарозу — ФС («Pharmacia», Швеция); ДЭАЭ-целлюлозу (ДЭ-52), фосфоцеллюлозу Р II (ФЦ), фильтры GF-C («Whatman», Англия); глицерин, тритон X-100 («Serva», ФРГ); лизоамидазу отечественного производства. Донором метильных групп служил S-аденозил-L-метионин ($^3\text{H-SAM}$) с удельной активностью 15 Ки/ммоль («Amersham», Англия).

Методики выращивания клеток *S. aureus* 6782, получения грубого экстракта (ГЭ) и суммарной белковой фракции 0,8 насыщения сульфата аммония (СА 0,8 Н) описаны ранее [1]. Лизоамидазу добавляли из расчета 1 мл 1 % раствора на 10 мл клеточной суспензии и инкубировали 15 мин при 37 °С. Метилазную активность определяли на фильтрах GF-C в толуоловом сцинтиляторе [4]. Активность

МТЛ выражена количеством импульсов в 1 мин в расчете на 1 мкг акцепторной ДНК. Способ определения рестриктазной и неспецифической нуклеазной активности описан ранее [1]. Специфическая и неспецифическая эндонуклеазная активность выражена количеством ферментного препарата (в мкл), необходимым для полного гидролиза 1 мкг ДНК фага λ за 1 ч при 37 °С. Для горизонтального электрофореза использовали 1,2 % агарозу.

Гель-фильтрацию на биоэле А (0,5 М) проводили на колонке 1,2×10 см, уравновешенной 20 мМ К-фосфатным буфером (рН 7,4), с 10 мМ ЭДТА, 7 мМ β -меркаптоэтанолом (β -МЕ) и 5 % глицерином со скоростью 10 мл/ч. Всего собрано 105 фракций по 5 мл.

Линообменную хроматографию на ДЭ-52 проводили на колонке 1,2×10 см, уравновешенной 10 мМ К-фосфатным буфером (рН 7,2) с ЭДТА и β -МЕ со скоростью 10 мл/ч. Градиентную элюцию осуществляли 0,0–1,0 М NaCl. Объем градиента 80 мл, объем фракции 4 мл. Условия аффинной хроматографии на ГС и катионообменной хроматографии на ФЦ-РП описаны нами ранее [1]. Гидрофобную хроматографию на ФС проводили на колонке 0,7×10 см, уравновешенной К-фосфатным буфером (рН 7,6), 1 М СА со скоростью 4 мл/ч. На колонку наносили 20 мг белка фракции СА 0,8 Н в 10 мл буфера. Фермент элюировали комбинированным градиентом понижающейся концентрации СА от 1,0 до 0,0 М и повышающимся градиентом концентрации глицерина от 0,0 до 60 %.

Результаты и обсуждение

Для выделения индивидуальных фракций МТЛ прежде всего необходимо освободиться от сопутствующей рестриктазной активности, т. е. добиться таких условий хроматографического разделения, при которых полученные фракции МТЛ не будут содержать примесей РЭ, приводящей к элиминации субстрата. То же, хотя и не в такой полной мере, относится к неспецифическим нуклеолитическим ферментам, примеси которых также недопустимы, так как приводят к деградации ДНК. Кроме того, условия фракционирования должны быть подобраны таким образом, чтобы обеспечить полное разрешение метилазных пиков при хроматографическом разделении, что позволит корректно определить количество МТЛ в исследуемом штамме.

Таким образом, в нашем случае задача сводится, во-первых, к отделению МТЛ *Sau* 6782 от описанной ранее РЭ *Sau* 6782 и от нуклеазного пула и, во-вторых, к получению индивидуальных метилирующих ферментов. Для решения подобных задач, как правило, используют различные виды колоночной хроматографии и гель-фильтрацию. Для элюирования ферментов применяют хлориды Na и K; СА, а также глицерин и тритон X-100. Поэтому на предварительном

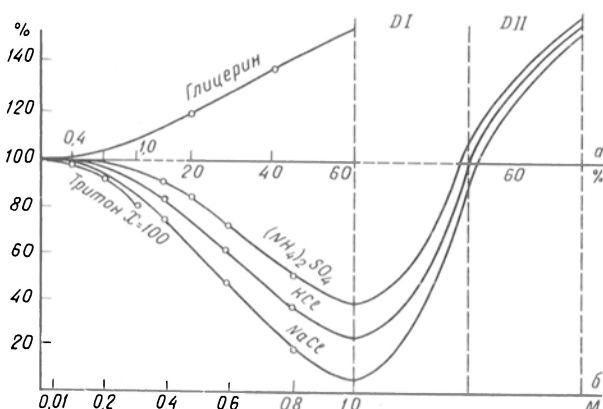


Рис. 1

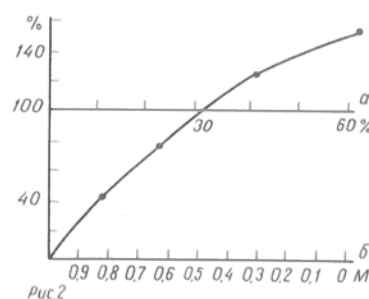


Рис. 2

Рис. 1. Влияние солей, глицерина и тритона X-100 на активность суммарного препарата МТЛ *Sau* 6782.

По осям абсцисс: а — концентрация глицерина и тритона X-100 (в %); б — концентрация солей (в М); по оси ординат — активность МТЛ (в %). За 100 % принята активность суммарного препарата МТЛ *Sau* 6782 в 10 мМ К-фосфатном буфере. Д I — диализ против буфера, Д II — диализ против 60 % глицерина.

Рис. 2. Совместное влияние СА и глицерина на активность МТЛ *Sau* 6782 в условиях комбинированного градиента на ФС.

По осям абсцисс: а — концентрация глицерина (в %); б — концентрация СА (в М); по оси ординат — активность МТЛ (в %).

этапе мы изучили влияние этих факторов на активность суммарного препарата МТЛ Sau 6782. Полученные результаты, естественно, нельзя полностью отнести к индивидуальным препаратам МТЛ Sau 6782-типа, однако эти данные позволяют выявить некоторые общие закономерности, касающиеся активации и ингибирования ферментов, и выработать тактику поиска метода их разделения.

На рис. 1 представлены результаты первой серии экспериментов. По нашим данным, все исследованные соли в концентрации 0,4 М и более в той или иной мере ингибируют суммарную метилирующую активность. При высоких концентрациях солей (от 0,8 до 1,0 М) степень ингибирования превышает 50 %, что делает невозможным идентификацию метилирующей активности в этих условиях. Однако после диализа против 10 мМ К-фосфатного буфера активность МТЛ полностью восстанавливается вне зависимости от того, какая соль была первоначально добавлена. Таким образом, все исследованные соли могут быть использованы в составе элюирующих растворов при условии обязательного диализа фракций перед определением в них метилирующей активности.

При гидрофобной хроматографии в качестве элюентов используют глицерин и тритон X-100. Изучая их влияние на активность суммарного препарата МТЛ, мы установили, что глицерин активирует фермент, а тритон X-100 ингибирует метилирующую активность. Активирующее действие глицерина возрастает с увеличением его концентрации и достигает 50 % при добавлении глицерина до 60 %. Аналогичного результата удалось добиться и путем диализа суммарного препарата МТЛ против 60 % глицерина. В этом случае активация фермента также составила 50 %, а удельная активность была выше за счет концентрирования белка.

Следовательно, при хроматографии МТЛ Sau 6782 на ФС в качестве элюента предпочтительнее использование глицерина, а не тритона X-100. При гидрофобной хроматографии, как правило, применяют комбинированный градиент повышающейся концентрации глицерина и понижающейся концентрации СА. Результаты совместного воздействия этих двух факторов, имеющих противоположную направленность, на активность суммарного препарата МТЛ Sau 6782 представлены на рис. 2. В этом модельном опыте воспроизведены условия возможного эксперимента по хроматографическому разделению МТЛ на ФС, т. е. для анализа взяты такие концентрации указанных компонентов, которые присутствуют в элюирующих растворах. Установлено, что 0,8 М СА в сочетании с 15 % глицерином ингибирует МТЛ на 40 %, а не на 50 %, как при воздействии СА, тогда как 0,5 М СА в сочетании с 30 % глицерином не оказывает ингибирующего действия на фермент, т. е. активность МТЛ составляет 100 %. Более высокие концентрации глицерина приводят к активации ферментного препарата, которая составляет 50 % при конечной концентрации элюента.

Таким образом, при хроматографии на ФС МТЛ Sau 6782 глицерин, по всей вероятности, будет уменьшать степень ингибирующего действия СА

на активные фракции первой половины градиента и активировать фракции второй половины градиента.

Учитывая, что при гель-фильтрации не требуется высоких концентраций солей и, следовательно, трудоемкой процедуры диализа, мы начали наш поиск эффективного способа фракционирования МТЛ с использованием биогеля А (0,5 М). Однако экспериментально выявлена недостаточная разрешающая способность этого метода для разделения РЭ и МТЛ Sau 6782. Пики рестриктазной и нуклеазной активности сильно размыты и перекрываются с метилазными пиками (рис. 3). Тем не менее на основании картины метилазного профиля при гель-фильтрации на биогеле А (0,5 М) можно сделать вывод о множественности метилаз в штамме *S. aureus* 6782. В то же время достоверное определение количества метилирующих ферментов и истинного уровня их активности невозможно ввиду перекрывания метилазных пиков с пиками интерферирующих ферментов.

Хроматографические методы разделения белков обладают более высокой разрешающей способностью по сравнению с гель-фильтрацией и успешно используются при очистке РЭ и МТЛ [13, 15, 16]. Мы исследовали возможности аффинной, гидрофобной и ионообменной хроматографии для разделения МТЛ Sau 6782.

При аффинной хроматографии на ГС СА, 0,8 Н Sau 6782 (рис. 4) идентифицированы 3 пика метилазной активности (определение активности здесь и далее осуществляли после диализа для удаления NaCl). Первый пик соответствует 0,25–0,35 М NaCl и совпадает с рестриктазным пиком. Второй пик МТЛ элюируется 0,4–0,5 М NaCl и перекрывается с пиком неспецифических нуклеаз. Перекрывание пиков рестриктазной и метилазной активности Sau 6782 при аффинной хроматографии на ГС делает невозможным использование этого метода для разделения указанных ферментов.

При фракционировании СА 0,8 Sau 6782 на анионообменнике ДЭ-52 также идентифицированы 3 пика метилазной активности, 1 из которых частично перекрывается с рестриктазным пиком, а 2 других соответствуют зонам неспецифических нуклеаз, которые очень размыты при этом виде хроматографии (рис. 5). Около 40 % ме-

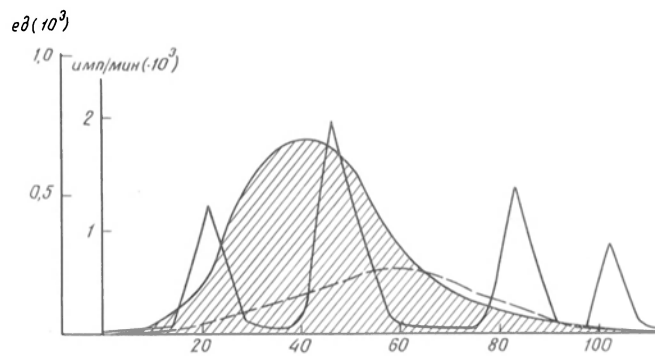


Рис. 3. Гель-фильтрация МТЛ и РЭ Sau 6782 на биогеле А (0,5 М).

По оси абсцисс — номера фракций; по осям ординат: специфическая и неспецифическая эндонуклеазная активность (в ед.), метилазная активность (в имп/мин). Сплошная линия — МТЛ, заштрихованный участок — РЭ, прерывистая линия — неспецифические нуклеазы.

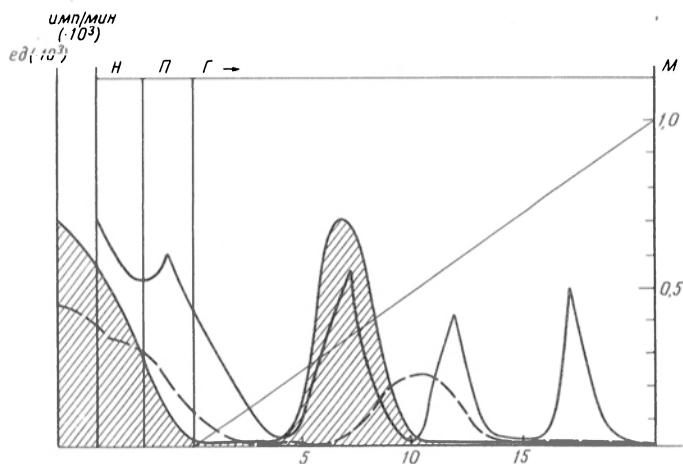


Рис. 4. Хроматография МТЛ и РЭ Sau 6782 на ГС.

По оси ординат справа — молярность элюирующего раствора (в М). Н — нанесение, П — промывка, Г — градиент. Остальные обозначения те же, что на рис. 3.

тилирующей активности не связывается с ионообменником, а обнаруживается в оттекающей жидкости. Следовательно, анионообменная хроматография на ДЭ-52 также непригодна для разделения МТЛ Sau 6782.

При разделении РЭ и МТЛ Sau 6782 методом катионообменной хроматографии на ФЦ-РП в отличие предыдущих случаев получено 4 пика метилазной активности, в значительной мере свободных от примесей РЭ и неспецифических нуклеаз (данные не приводятся).

Аналогичные, но более корректные результаты получены при гидрофобной хроматографии на ФС: 4 пика активности МТЛ имеют более высокую степень разрешения и свободны от примесей РЭ Sau 6782, которая связывается с сорбентом необратимо, что гарантирует ее полное отсутствие во фракциях МТЛ. Неспецифические нуклеазы в этих условиях также имеют высокое сродство к гидрофобному сорбенту и не обнаруживаются во фракциях градиента. МТЛ имеют сродство к ФС, хотя и меньшее, но достаточное, чтобы связаться с сорбентом на 90 %. Степень сродства индивидуальных фракций МТЛ различна. Так, МТЛ Sau 6782 элюируются в условиях комбинированного градиента 20 % глицерина и 0,68 М СА, 40 % глицерина и 0,35 М СА, 55 % глицерина и 0,25 М СА, 60 % глицерина и 0,0 М СА. Форма пиков с большой долей вероятности свидетельствует о том, что в каждом из них присутствует индивидуальный фермент метилирования (рис. 6). Естественно, что для доказательства этого положения необ-

ходимо определить сайт узнавания каждой из фракций, что в настоящее время осуществляется.

Дополнительным аргументом в пользу применения ФС для разделения МТЛ Sau 6782 является присутствие в элюирующем растворе глицерина, который, по данным модельного опыта (см. рис. 2), активует МТЛ Sau 6782. Для максимального использования всех свойств ферментов активные фракции каждого из пиков были объединены и отдиализованы против 60 % глицерина. При сравнении метилирующей активности индивидуальных фракций до и после диализа установлено, что для каждой из них характерно активирующее действие глицерина, что отражает общие закономерности, присущие суммарному препарату МТЛ. Однако степень активации дифференцирована и для МТЛ 2-го пика проявляется в большей мере (55 %), чем для МТЛ 1-го пика (40 %). Активность ферментов 3-го и 4-го пиков, элюирующихся высокими концентрациями глицерина, как и следовало ожидать, практически не изменяется после диализа. Следовательно, для МТЛ 1-го и 2-го пиков, полученных при хроматографии на ФС, диализ против 60 % глицерина необходим для активации ферментов.

Полученные таким образом препараты МТЛ хранятся в течение 6 мес при -10°C без потери активности. Высокая стабильность ферментных препаратов позволяет изучать их свойства, специфичность, а также осуществить поиск модифицирующего компонента СХС.

Таким образом, установлено, что штамм

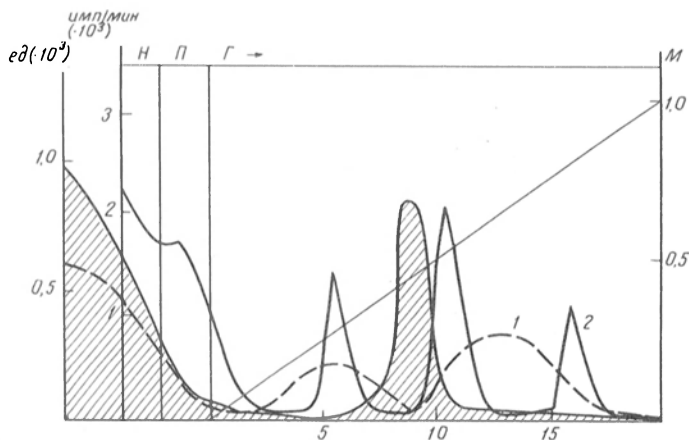
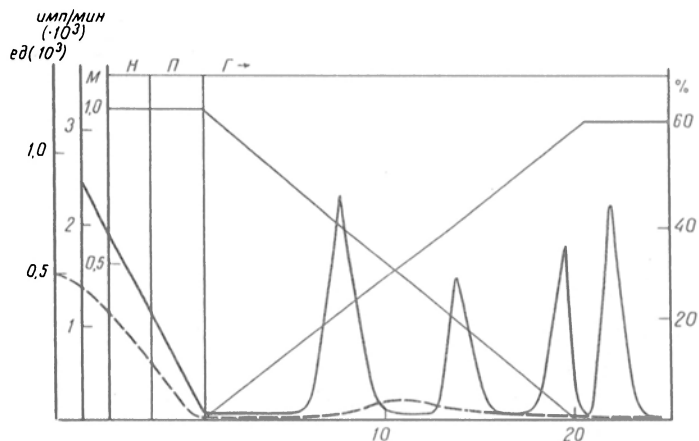


Рис. 5. Хроматография МТЛ и РЭ Sau 6782 на ДЭ-52. Обозначения те же, что на рис. 3 и 4.

Рис. 6. Хроматография МТЛ Sau 6782 на ФС.

По оси ординат: слева — активность МТЛ (в имп/мин), концентрация СА (в М), справа — концентрация глицерина (в %).



S. aureus 6782 обладает гетерогенностью метилазного профиля. Разработан метод фракционирования МТЛ Sau 6782, основанный на использовании гидрофобной хроматографии на ФС, позволяющий получить фракции МТЛ, свободные от примесей РЭ Sau 6782, а также неспецифических нуклеаз. Ионообменная, аффинная хроматография и гель-фильтрация оказались малоприменимыми для получения индивидуальных метилирующих ферментов Sau 6782-типа, так как не обеспечивают полного отделения МТЛ от сопутствующих ферментов деградации ДНК.

Изучено влияние солей, глицерина, тритона X-100 на активность суммарного препарата МТЛ Sau 6782. Показано, что хлориды Na и K, СА в концентрации 0,4 М и более, а также тритон X-100 обратимо ингибируют метилазную активность с последующим восстановлением ее до исходного уровня. Глицерин в концентрации 60 % активирует МТЛ Sau 6782 и 50 % и стабилизирует фермент.

8. Hattman S., Ives J., Margolin W., Howe M. // Gene.— 1985.— Vol. 39.— P. 71—76.
9. Lee A. S., Wells S., Delegeane A. // Biochem. biophys. Res. Commun.— 1986.— Vol. 135.— P. 942—949.
10. Lu A. L., Clark S., Modrich P. // Proc. nat. Acad. Sci. USA.— 1983.— Vol. 80.— P. 309—322.
11. Manarelli B. M., Balganesi F. S. et al. // Ibid.— 1985.— Vol. 82.— P. 4468—4482.
12. Marinus M. G. // Molec. gen. Genet.— 1985.— Vol. 200.— P. 185—196.
13. McClelland M. // Nucl. Acids Res.— 1981.— Vol. 9.— P. 6795—6804.
14. Nikolskaya J. J., Sharkova E. V. et al. // Biochem. int.— 1987.— Vol. 15, N 1.— P. 127—138.
15. Rubin R. A., Modrich P. // J. biol. Chem.— 1977.— Vol. 252, N 20.— P. 7265—7272.
16. Sato S., Nakasawa K., Shinomiya I. // J. Biochem. (Tokyo).— 1980.— Vol. 88, N 3.— P. 737—747.

Поступила 20.12.88

ISOLATION OF METHYLASES FROM SAU 6782 STRAIN

E. E. Arutyunyan, I. M. Gruber, V. M. Polyachenko, I. I. Nikol'skaya, S. S. Debov

Institute of Medical Enzymology, Academy of Medical Sciences of the USSR, I. I. Mechnikov Institute of Vaccines and Sera, Moscow.

Heterogenous profile of methylases was found in *S. aureus* 6782 strain. A procedure was developed for isolation of individual methylases from Sau 6782 free of Sau 6782 restrictases and unspecific nucleases by means of hydrophobic chromatography on phenyl-Sepharose. Ion exchange, affinity chromatographies and gel filtration were also used for isolation of the Sau 6782 methylases. But this technique was of limited suitability for isolation of individual methylating enzymes of the Sau 6782 type because it did not allow to separate completely these methylases from contaminating enzymes of DNA degradation. Effects of salts, glycerol and Triton X-100 on activity of total preparation of methylases Sau 6782 were studied. Na^+ and K^+ chlorides, ammonium sulfate at concentrations 0.4 M and higher as well as Triton X-100 inhibited reversibly the methylase activity followed by complete reduction up to initial level after dialysis. Glycerol at concentration 60 % activated Sau 6782 methylases by 50 % and stabilized the enzyme.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арутюнян Е. Е., Грубер И. М. и др. // Вопр. мед. химии.— 1985.— № 6.— С. 127—132.
2. Бурьянов Л. И., Захарченко В. Н., Баев А. А. // Докл. АН СССР.— 1981.— Т. 259, № 6.— С. 1492—1495.
3. Громова Е. С., Виноградова М. Н. и др. // Биоорг. химия.— 1987.— Т. 13, № 2.— С. 86—92.
4. Квачадзе Л. И., Андриашвили И. А., Чаншвили Т. Г. и др. // Вопр. мед. химии.— 1985.— № 1.— С. 121—125.
5. Никольская И. И., Лопатина Н. Г., Дебов С. С. // Биохимия.— 1980.— Т. 45, № 8.— С. 1457—1462.
6. Никольская И. И., Дебов С. С. // Вестн. АМН СССР.— 1987.— № 7.— С. 23—29.
7. Dunn J. J., Greenberg J. // Cell.— 1982.— Vol. 31.— P. 327—336.