

ՀԱՄԱՐԱՌՑ ԳԻՏԱԿԱՆ ՀԱՂՈՐԴՈՒՄՆԵՐ

Գ. Թ. ԱԳՈՒՆՑ, Ի. Հ. ԱՍԼԱՆՑԱՆ

ԱՆՈՐԴԱՆԱԿԱՆ ՊՈԼԻՖՈՍՓԱՏԱԶԱՆՆԵՐԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՄԱՍԻՆ

Կոնդենսացված պոլիֆոսֆատները անօրգանական միացություններ են, որոնք ստացվում են օրթոֆոսֆորական թթվի միացորդի կոնդենսացումից:

Այդ տիպի միացությունները հիշոն ստորաբաժանել է երեք խմբի՝ մետաֆոսֆատներ, պոլիֆոսֆատներ և ցանցանման պոլիֆոսֆատներ [1,2]:

Մետաֆոսֆատները հանդես են գալիս փակ շղթայով և ունեն հետևյալ բնդհանուր բանաձևը $(Me \cdot P_3O_9)_n$ և $(Me \cdot P_4O_{12})_n$, որտեղ n -ը հավասար է մեկ միավորի կամ մեկ միավորից ավելի: Այս երկու միացությունները՝ տրիմետաֆոսֆատը, տետրամետաֆոսֆատը անհամեմատ լավ են ուսումնասիրված:

Պոլիֆոսֆատներն ունեն զծալին ստրուկտուրա — բաց շղթա: Նրանց բնդհանուր բանաձևն ունի հետևյալ տեսքը $(Me + H)^n + 2p^{n-1}O_3^{n-1}$, որտեղ n -ի արժեքը կարող է տատանվել մեկից մինչև 10^4 -ի սահմաններում: Ավելի պարզ պոլիֆոսֆատները բյուրեղային նյութեր են և ունեն փոքր մոլեկուլյար կշիռ: Դրանց թվին են դասվում պիրոֆոսֆատը, տրիմետաֆոսֆատը և տետրամետաֆոսֆատը: Բարձր մոլեկուլյար կշիռ ունեցող պոլիֆոսֆատներն ամորֆ նյութեր են և նրանց բնդհանուր բանաձևում $n > 3$ -ից:

Պոլիմետաֆոսֆատներ կան մի շարք միարժեք բույսերի մեջ, ինչպես նաև ցածրակարգ կենդանիների օրգանիզմներում [3]:

Պոլիֆոսֆատների քիմիական կառուցվածքի [4,5], նրանց տարածման և ֆիզիոլոգիական դերի մասին մանրամասն արժեքավոր տեղեկություններ կարելի է գտնել պրոֆեսոր Ֆերգյանի վերջերս հրատարակված հոդվածում [5]:

Օրգանիզմներում պոլիֆոսֆատների դերը, նրանց առաջացման և լուրացման ուղիները հասկանալու համար պետք է ուսումնասիրել այն ֆերմենտները, որոնք արագացնում են այդ նյութերի քայքայումը:

Մեր առաջին հաղորդման մեջ [6] մանրամասն քննարկվել է անօրգանական տրիմետաֆոսֆատազայի ափսիվության փոփոխությունը հավի սաղմի զարգացման տարբեր էտապներում:

Այդ ուսումնասիրություններից պարզվել է, որ հավի զարգացող սաղմի տարբեր օրգաններն օժտված են տրիմետաֆոսֆատազային ափսիվության տարբեր ինտենսիվությամբ: Ուսումնասիրելով տրիմետաֆոսֆատազային ափսիվությունը սաղմի տարբեր հյուսվածքներում (տարբեր pH-երի ժամանակ), պարզվել է, որ ինչպես սաղմի հյուսվածքում, այնպես էլ մյուս օրգաններում հանդես է գալիս միալն թթու տրիմետաֆոսֆատազան: Ուղեղի տարբեր մասերում ֆերմենտի ափսիվությունը հանդես է գալիս տարբեր ինտենսիվությամբ: Մեծ ափսիվություն է ցուցաբերում միջին ուղեղը, ավելի քիչ՝ կիսագնդերը, թսկ ուղեղիկը զրավում է միջին տեղը:

Սաղմի զարգացման զուգընթաց ուղեղի տարրեր մասերում տրիմետաֆոսֆատազայի ակտիվությունը նվազում է:

Սույն աշխատությունը նվիրված է հավի զարգացող սաղմի, սաղմնային հյուսվածքի, գեղնուցի և գեղնուցային պարկի, տրի-և տետրամետաֆոսֆատազայի ակտիվության ուսումնասիրությանը, երբ ֆերմենտը նախապես ենթարկվել է մասնակի թերմոինակտիվացիայի:

Թթու տրի-և տետրամետաֆոսֆատազայի ակտիվության ուսումնասիրությանը զրադվել է Բերգը [7], որը հիստոքիմիական մեթոդով պարզել է, որ մկների ու գորտերի երիկամները և 12-մատյա աղիքը սփռված են տետրամետաֆոսֆատազային ակտիվությամբ:

Մ Ե Թ Ո Ւ Ի Կ Ա

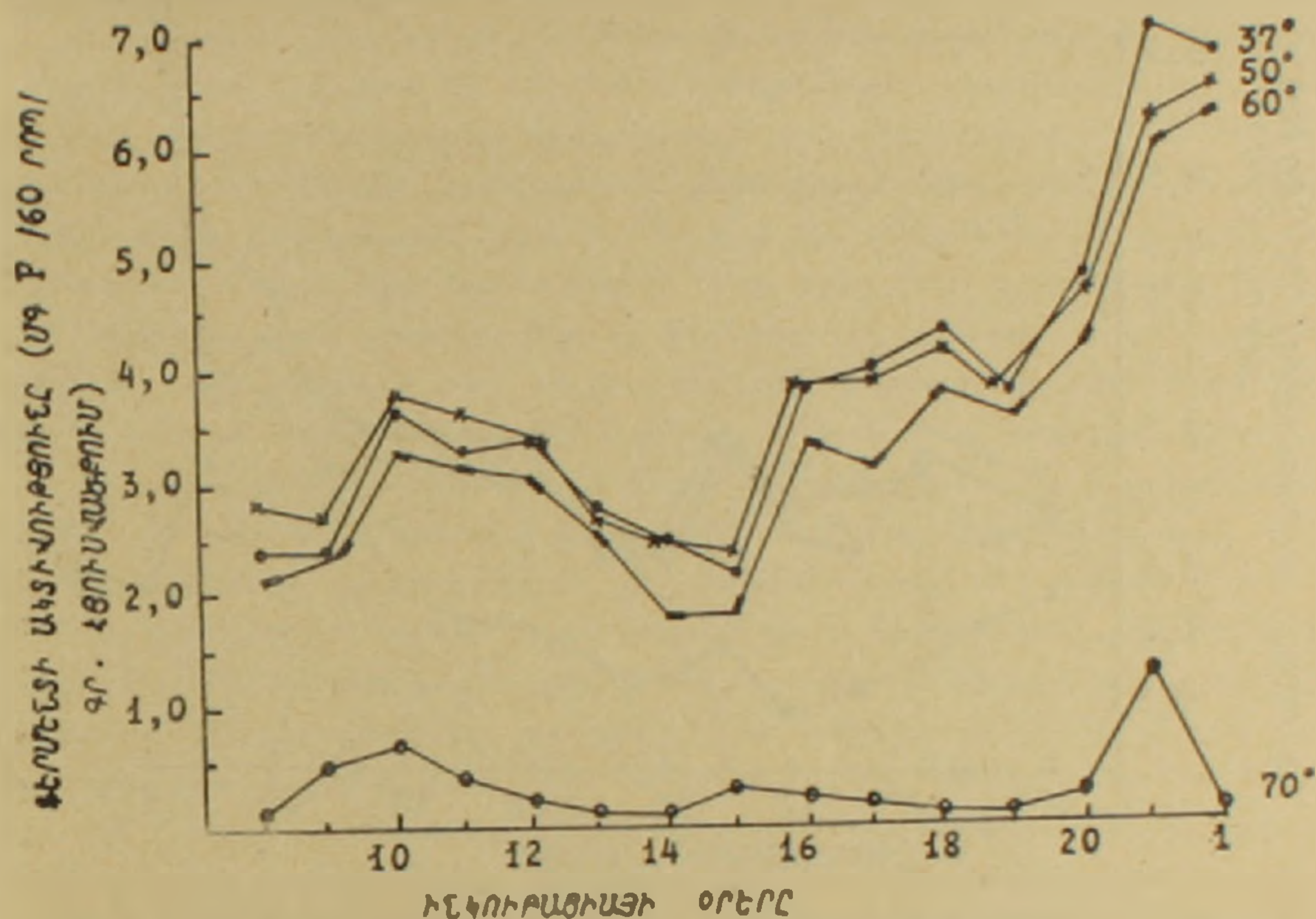
Փորձերը ղրվել են «Սպիտակ լեյոոն» ցեղի հավերի ինկուբացված ձվերի վրա: Նմուշները վերցվել են զարգացող սաղմի տարրեր մասերից՝ սաղմնային հյուսվածքից, գեղնուցից և գեղնուցային պարկից: Վերցված նմուշները սառը պայմաններում ենթարկվել են հոմոգենիզացիայի և թորած ջրով կատարվել համապատասխան նոսրացում, այն հաշվով, որ լուրաքանչյուր մեկ մլ հոմոգենատը պարունակի 30 — 40 մգ թարմ հյուսվածք: Որպես սուրսատրատ ծառայել է տրիմետաֆոսֆատը և տետրամետաֆոսֆատը, որոնց սինթեզը կատարվել է մեր լաբորատորիայում ըստ Թիլդի մեթոդի [7]: Ճրիմետաֆոսֆատազայի և տետրամետաֆոսֆատազայի ակտիվությունը որոշվել է ըստ Բոդանսկու մեթոդի [8], որտեղ օգտագործվել է մեդինալային բուֆեր рН-ը 9,2 և 4,5: Սուրսատրատները պատրաստվել են բուֆերային լուծույթներում, լուրաքանչյուր նմուշ պարունակել է 12,5 մգ սուրսատրատ:

Փորձերը ղրվել են հետևյալ կերպ. 5 փորձանոթների մեջ լցվել է մեկական մլ հոմոգենատ, առաջին փորձանոթը ջերմային մշակման չի ենթարկվել: Մնացած փորձանոթները 10 րոպե ենթարկվել են ջերմային մշակման. 2-րդ փորձանոթը 50°, 3-րդը 60°, 4-րդը 70°, բոլոր նմուշները սառելուց հետո ավելացվել են սուրսատրատ բուֆերով 5 մլ և ինկուբացվել 37°-ի տակ 1 ժամ տեղում: Այս փորձերին ուղեկցել են ստուգիչ նմուշներ, որտեղ մեկ զեպքում ինկուբացվել է միայն սուրսատրատը բուֆերով, մյուս զեպքում միայն հոմոգենատը առանց սուրսատրատի: Ինկուբացիայից հետո անօրգանական ֆոսֆորի քանակը որոշվել է ըստ Ֆիսկե-Սուրբարոյի մեթոդի: Բերված կորերում հաշվարկ է կատարվել, թե մեկ ժամվա ընթացքում 1 զլ հյուսվածքը սուրսատրատից քանի մգ անօրգանական ֆոսֆոր է անջատում:

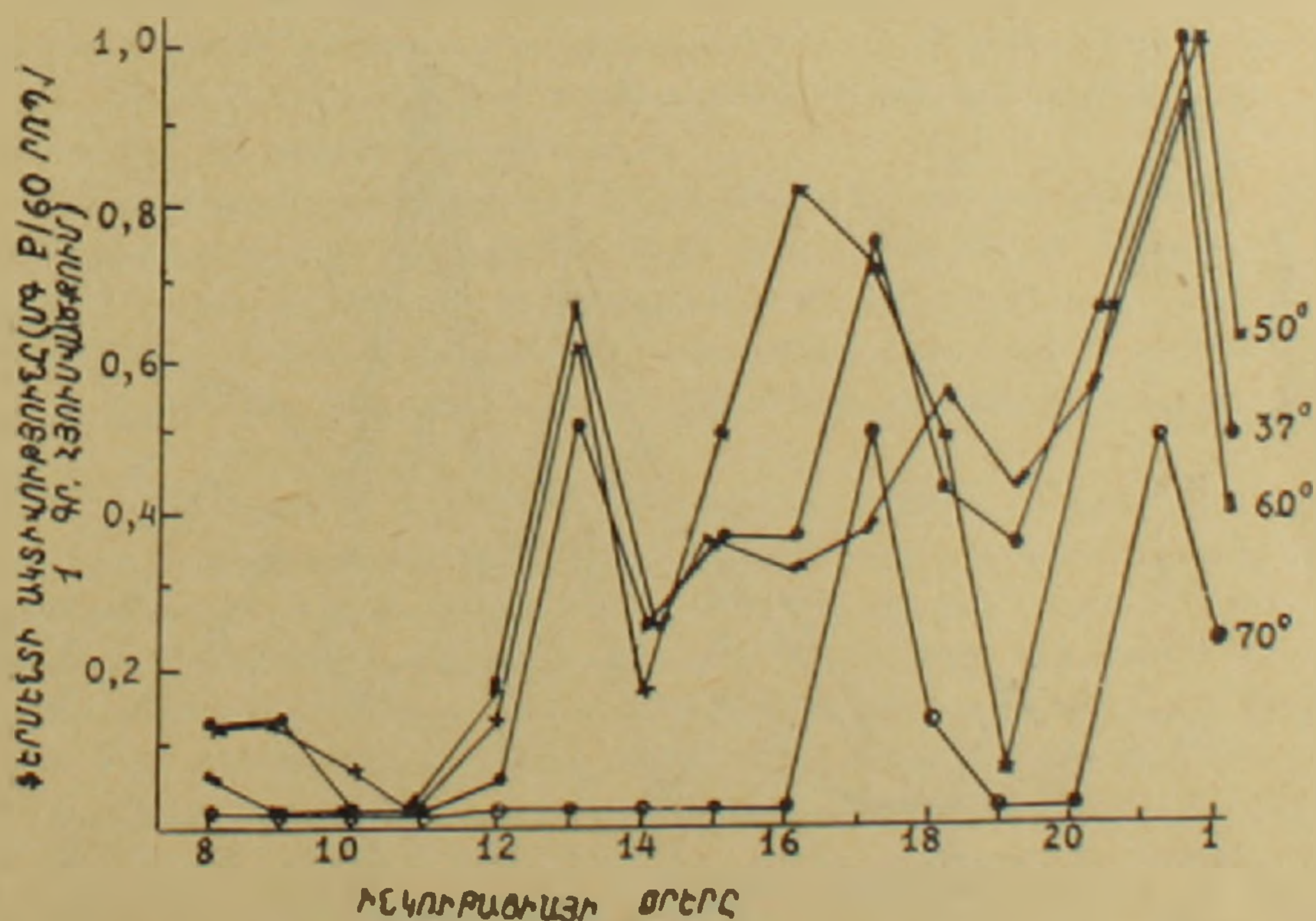
Ատացված արդյունքները և նրանց բնութագրումը

Բերված կորերում ամփոփված են գեղնուցային պարկի և սաղմնային հյուսվածքի, թթու տրիմետաֆոսֆատազայի ակտիվության փոփոխության կապը, կախված ֆերմենտի մասնակի ինակտիվացման ջերմաստիճանից և սաղմի զարգացման տարրեր էտապներից: Նկ. 1-ում պատկերված է թթու տրիմետաֆոսֆատազայի ակտիվության փոփոխությունը սաղմի գեղնուցային պարկում: Սաղմի զարգացման ընթացքում գեղնուցային պարկում ֆերմենտի ակտիվությունը տատանվում է 2—7 մգ-ի սահմաններում:

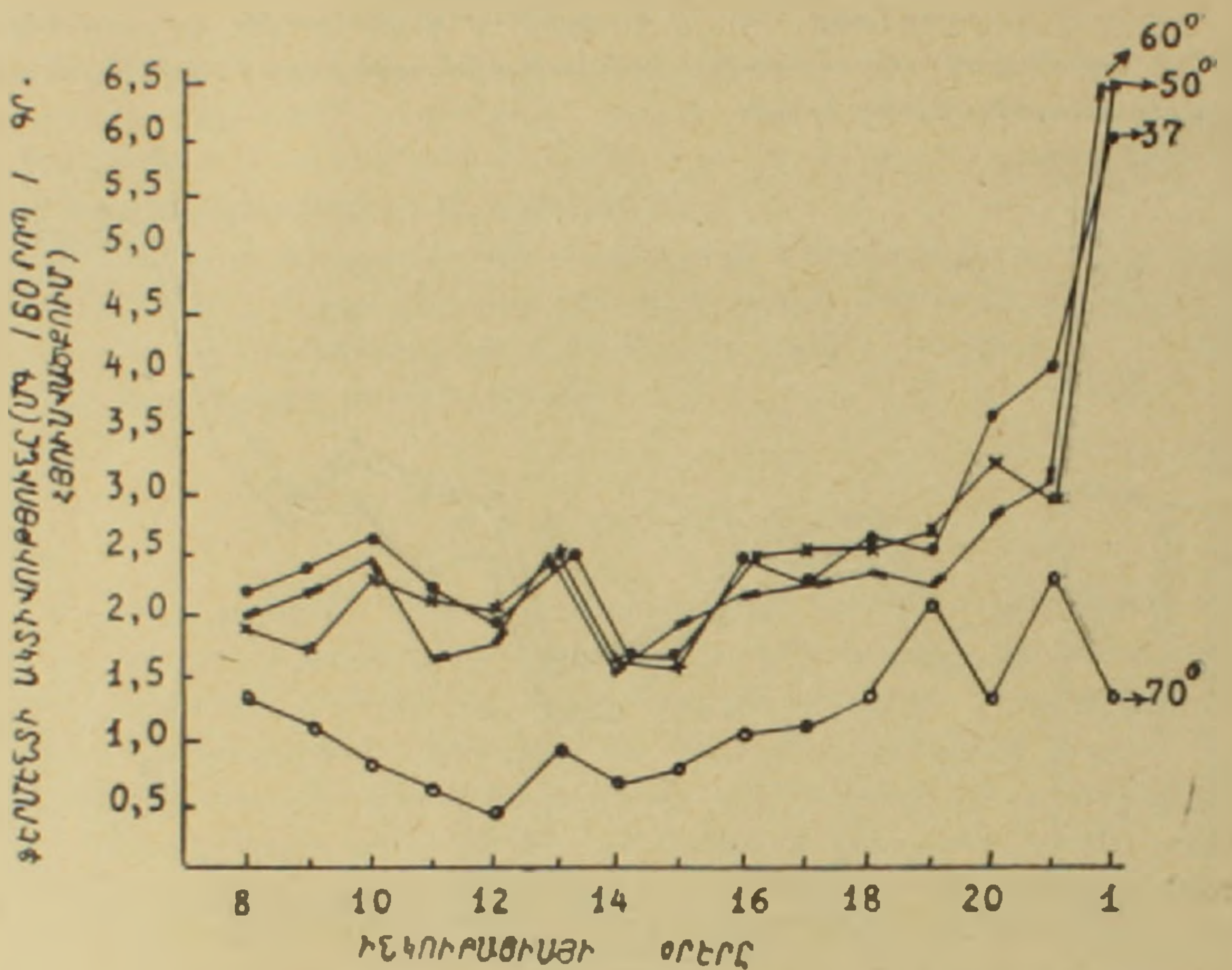
Ուսումնասիրվող դարգացմանը (նկ. 1) զուգընթաց ղեղնուցային պարկում նկատվում է տրիմետաֆոսֆատազայի ակտիվության բարձրացում, այն հասնում է իր մաքսիմումին 21-րդ օրում:



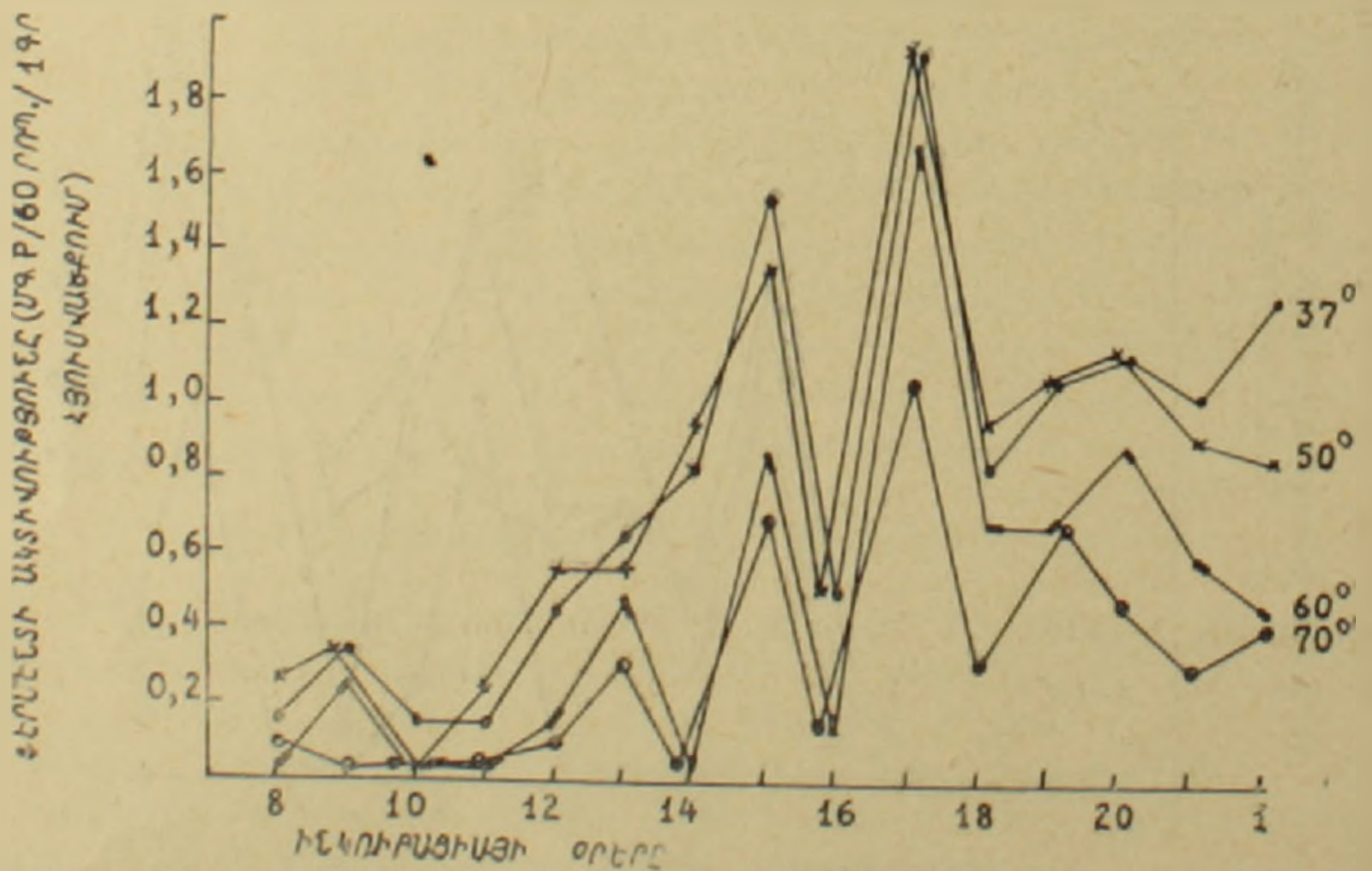
Նկ. 1 Թթու տրիմետաֆոսֆատազայի ակտիվության ղեղնամիկան հավի սաղմի ղեղնուցային պարկում՝ սաղմի դարգացման տարրեր էտապներում:



Նկ. 2 Թթու տրիմետաֆոսֆատազայի ակտիվության ղեղնամիկան հավի սաղմի ղեղնուցային պարկում՝ սաղմի դարգացման տարրեր էտապներում:



Նկ. 3 Թթու տեսության ֆոսֆատազայի ալակոլոլթյան դինամիկան հալի սաղմի զեղնուցային պարկուճի սաղմի դարգացման տարբեր էտապներում:



Նկ. 4 Թթու տեսության ֆոսֆատազայի ալակոլոլթյան դինամիկան հալի սաղմի հյուսվածքում՝ սաղմի դարգացման տարբեր էտապներում:

Ֆերմենտի ջերմային մշակման դեպքում տարբեր աստիճանների տակ (50° , 60°) չի նկատվում նրա ակտիվութեան անկում: Միայն այն դեպքում, երբ ֆերմենտը ջերմային մշակման է ենթարկվում 10 րոպե 70° -ում, նա կորցնում է իր կատալիտիկ հատկութիւնը:

Սաղմնային հյուսվածքի տրիմետաֆոսֆատապակի ակտիվութեան արդյունքները ցուցադրված են նկ. 2-ում: Ֆերմենտի ակտիվութիւնը սաղմի հյուսվածքում հանդես է գալիս նվազ չափով, այն ստատանվում է $0,2-0,8$ մգ-ի սահմաններում: Սաղմի դարգացման ընթացքում նկատվում է ֆերմենտի ակտիվութեան բարձրացում, որը հասնում է իր մաքսիմումին սաղմի դարգացման 21-րդ օրը: Երբ համեմատում ենք իրար հետ տրիմետաֆոսֆատապակի ակտիվութեան փոփոխութիւնը գեղնուցային պարկում և սաղմի հյուսվածքում, ապա նկատում ենք, որ գեղնուցային պարկում տրիմետաֆոսֆատապակի 7 անգամ ավելի ինտենսիվ է գործում, քան սաղմնային հյուսվածքում:

Երբ հոմոգենատը ենթարկում ենք մասնակի ջերմային ինակտիվացիայի (50° , 60° և 70°), նկատում ենք, որ 50 և 60 աստիճանների տակ մշակված հոմոգենատը չի կորցնում իր ֆերմենտատիվ ակտիվութիւնը, իսկ 70° -ի տակ մշակված հոմոգենատը ամբողջապես ենթարկվում է ինակտիվացիայի: Սաղմի, գեղնուցային պարկի տետրամետաֆոսֆատապակի ակտիվութեան ուսումնասիրութիւնից պարզվել է, որ ֆերմենտի ակտիվութիւնը սաղմի դարգացման ընթացքում ստատանվում է 2-ից $6,5$ մգ-ի սահմաններում (կոր 3): Միաժամանակ պարզվել է, որ սաղմի դարգացման 8-րդ օրվանից մինչև 19-րդ օրը ֆերմենտի ակտիվութեան հետ որեւէ էական փոփոխութիւն չի կատարվում, միայն 19-րդ օրից հետո մեծանում է ֆերմենտի ակտիվութիւնը և այն հասնում է իր մաքսիմումին 21-րդ օրը: Ինչ վերաբերում է հոմոգենատի ջերմային մասնակի ինակտիվացիային, ապա այն ակնհայտ կերպով երևում է կորից, որ 50 և 60 աստիճանների տակ մշակված հոմոգենատը չի կորցնում իր ֆերմենտատիվ հատկութիւնը, 70° -ի տակ մշակված հոմոգենատը գրեթե ամբողջութեամբ կորցնում է իր ֆերմենտատիվ հատկութիւնը: Նկ. 4-ում պատկերված է տետրամետաֆոսֆատապակի ակտիվութեան փոփոխութիւնը սաղմի հյուսվածքում:

Տետրամետաֆոսֆատապակի ակտիվութիւնը որոշ փոփոխութիւններ է ենթարկում սաղմի դարգացման ընթացքում: Ֆերմենտի ակտիվութիւնը հանդես է գալիս ավելի ուշ՝ 11-րդ օրը, իսկ 15-րդ օրում տալիս է առաջին մաքսիմումը: Երկրորդ մաքսիմումը համընկնում է սաղմի դարգացման 17-րդ օրվան, որից հետո նկատվում է ֆերմենտի ակտիվութեան բարձրացում (կոր 4):

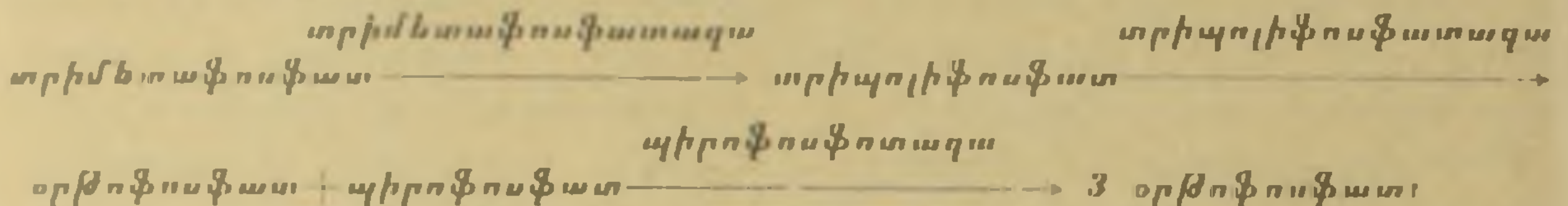
Հատկանշական է այն հանգամանքը, որ մինչև սաղմի դարգացման 18-րդ օրը տարբեր ջերմաստիճանների (50° , 60°) տակ մշակված հոմոգենատի ֆերմենտի ակտիվութեան ինտենսիվութեան մեջ էական տարբերութիւն չի նկատվում: Ֆերմենտի ակտիվութեան ինտենսիվութեան փոփոխութիւնները տարբեր ջերմաստիճանների տակ մշակված նմուշներում նկատվում է սաղմի դարգացման 19, 20, 21-րդ օրերին և հատկապես մեկ օրական ճախի մոտ:

Եթե սաղմնային հյուսվածքի տետրամետաֆոսֆատապակի մինչև սաղմի դարգացման 10-րդ օրը հանդես է գալիս որպես ջերմակայուն, ապա 19-րդ օրից հետո նա իրեն ցուցաբերում է որպես ոչ ջերմակայուն, այլ երևույթը ցայտուն կերպով արտահայտվում է մեկ օրական ճախի մոտ:

Ջերմային մշակման ենթարկված նմուշներում (50° , 60° , 70°) ջերմաստիճանի հետ համապատասխան ֆերմենտի ակտիվությունը իջնում է, այս ամպլյաները համընկնում են մեր նախկին աշխատության տվյալներին: [9]:

Ասադի զսրգացման ընթացքում, սաղմնային հյուսվածքում և դեղնուցային պարկում չի հայտնարերվել հիմնային պոլիֆոսֆատազային ակտիվություն: Ինկուբացիայի ընթացքում նմուշներ ենք վերցրել նաև զարգացող սաղմի դեղնուցից՝ տրի-և տետրամետաֆոսֆատազայի ակտիվության որոշման համար: Պարզվել է, որ դեղնուցը զուրկ է ինչպես տրիմետաֆոսֆատազայի, այնպես էլ տետրամետաֆոսֆատազայի ակտիվությունից:

Տրիմետաֆոսֆատազայի ներգործության տակ տրիմետաֆոսֆատը քայքայվում է ոչ միանգամից, այլ աստիճանաբար, լուրջ քանջվում անցում ճեղքվում է մեկ մոլեկուլ օրթոֆոսֆորաթթու: Այդ պրոցեսը՝ ըստ Բերդի [10] ընթանում է հետևյալ կերպ՝



Ըստ երևույթին տետրամետաֆոսֆատի ֆերմենտատիվ քայքայումը ևս ընթանում է այդ նախապարհով:

Ե Ջ Ր Ա Կ Ա Ց Ո Ի Թ Ց Ո Ի Ն

Հավի սաղմը և դեղնուցային պարկը ոժտված են թթու տրի-և տետրամետաֆոսֆատազային ակտիվությամբ: Ֆերմենտի ակտիվությունը սաղմի զարգացմանը զուգընթաց մեծանում է: Թթու տրիմետաֆոսֆատազան դեղնուցային պարկում հասնում է իր մաքսիմումին սաղմի զարգացման 21-րդ օրը, իսկ թթու տետրամետաֆոսֆատազան՝ մեկ օրական ճաթի մոտ: Ասադի հյուսվածքն ոժտված է սնահամեմատ ավելի թույլ ֆերմենտատիվ ակտիվությամբ, քան դեղնուցային պարկը: Ասադնային հյուսվածքում թթու տրի-և տետրամետաֆոսֆատազայի ակտիվացում է նկատվում սաղմի զսրգացման ընթացքում: Թթու տրիմետաֆոսֆատազայի ակտիվությունը հասնում է իր մաքսիմումին սաղմի զսրգացման 21-րդ օրը, իսկ թթու տետրամետաֆոսֆատազայի ակտիվությունը՝ 17-րդ օրը: Տրի-և տետրամետաֆոսֆատազան սաղմի զարգացման ընթացքում հանդես են գալիս որպես ջերմակալուն ֆերմենտներ: Մեկ օրական ճաթի մոտ թթու տետրամետաֆոսֆատազան ձեռք է բերում ջերմության նկատմամբ ընտրողական հատկություն:

Ասադի զարգացման ընթացքում, դեղնուցային պարկում, սաղմնային հյուսվածքում, չի հայտնարերված հիմնային տրի-և տետրամետաֆոսֆատազային ակտիվություն: Ինչուցը բոլորովին զուրկ է պոլիֆոսֆատազային ակտիվությունից:

Հայկական ՍՍՌ ԳԱ Բիոքիմիայի
սեկտոր

Ստացվել է 3. 11 1961 թ.

Г. Т. АДУНЦ, И. Г. АСЛАНЯН

ОБ АКТИВНОСТИ НЕОРГАНИЧЕСКИХ ПОЛИФОСФАТАЗ

Р е з ю м е

Целью настоящей работы явилось изучение активности неорганических кислых полифосфатаз: тримета-и тетраметафосфатаза в тканях и в желточном мешке развивающегося куриного эмбриона на разных этапах его развития.

Проведенные исследования показали, что развивающийся куриный эмбрион и желточный мешок проявляют определенную полифосфатазную активность, тогда как желток этой активностью не обладает. Полифосфатазы желточного мешка по сравнению с таковыми тканей зародыша обладают более высокой активностью. Активность полифосфатаз повышается с развитием эмбриона. Триметафосфатазная активность в желточном мешке достигает своего максимума на 20 день развития эмбриона, а тетраметафосфатазная — у вылупившихся однедневных цыплят. В зародышевой же ткани триметафосфатазная активность достигает своего максимума на 21 день развития эмбриона, тогда как тетрафосфатазная — на 17 день.

Три и тетраметафосфатазы куриного эмбриона проявили себя термоустойчивыми ферментами. У однедневных цыплят тетраметафосфатаза проявляет дифференциальное отношение к температуре, становясь термолабильной.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Thilo E. Angew. Chem., 67, 141, 1955.
2. Thilo E. Naturwiss., 46, 367, 1959.
3. Kossel A. Arch. Anat. Path. Physiol. Abt. 157, (цит. по Ферману) 1893.
4. Wazer J. J. Am. Chem. Soc., 78, 428, 1956.
5. Ферман Д. Л. Укр. биохим. журнал 32, 3, 1960.
6. Бунятян Г. А. Адунц Г. Т. Вопросы биохимии, т. I, Ереван, 1960.
7. Berg G. J. Histochem. Cytochem., 8, 92, 1960.
8. Балаховский С. Балаховский И. Методы химического анализа крови. М., 1953.
9. Адунц Г. Т. Тезисы биохимической конференции Прибалтийских республик и Белоруссии, посвященной 20-летию Латвийской, Литовской, Эстонской ССР. 15—19 ноябрь, 1960.
10. Berg G. J. Histochem. Cytochem., 8, 85, 1960.