

Н. Г. АСЛАНЯН

ДАЛЬНЕЙШЕЕ ИЗУЧЕНИЕ d-ТРИПТОФАНПИРРОЛАЗЫ

Нами было установлено, что в почках белых крыс, а также морских свинок, существует ферментная система, окисляющая d-триптофан в кинуренин [1]. Следует отметить, что кроме d-аминокислотных оксидаз, катализирующих окислительное дезаминирование d-аминокислот и имеющих защитное значение для высших животных, наличие d-триптофанпирролазы в почечной ткани является редким явлением, биологическое значение которого трудно объяснить.

Изучая активность указанного фермента в почках крыс, а также сравнивая его с печеночной l-триптофанпирролазой, окисляющей, как известно, l-триптофан в кинуренин, было показано [1], что d-триптофанпирролаза во многом отличается от печеночного фермента. Необходимо отметить, что, согласно работам Ямамато Шозо [4], в кишечнике кролика также обнаружена d-триптофанпирролаза, однако в отличие от фермента, найденного нами в почечной ткани крыс, она своими свойствами схожа с l-триптофанпирролазой печени и является также железопорфириновым ферментом.

С целью изучения природы почечной d-триптофанпирролазы в сравнении с l-триптофанпирролазой печени нами проведен ряд исследований.

Методика исследований. Опыты ставили на гомогенатах почечной ткани белых крыс, кур, свиней, коров, овец. Активность d-триптофанпирролазы определяли методом Нокса [2] с некоторой модификацией (буфер для d-триптофанпирролазы pH 8). В качестве субстрата использовали dl-триптофан. Диализ почечного гомогената крыс проводили против H_2O в течение 24 час. в холодных условиях. Активность фермента выражали в мкмоль кинуренина на г свежей ткани.

Результаты исследований и их обсуждение. Полученные данные показывают (табл. 1), что после диализа почечного гомогената против H_2O в течение 24 часов при постоянном вращении активность d-триптофанпирролазы почечного фермента падает. Если в контрольном гомогенате (недиализированный) активность фермента составляет 1,61 мкмоль кинуренина на г ткани, то после диализа она понижается, доходя до 0,60 мкмоль. Можно предположить, что фермент нуждается в наличии кофактора, очевидно, удаляющегося при диализе из ферментного раствора, или инактивируется в этих условиях ввиду выхода солей, которые могут стабилизировать его. Как выяснилось в дальнейшем, ни фла-

Таблица 1

Активность d-триптофанпирролазы в почках крыс, мкмоль кинуренина на г ткани

Норма	Диализированный гомогенат	Диализированный гомогенат+лиофилизат	Диализированный гомогенат+супернатант
1.61	0.60	0.64	0.62

Средние данные 7 опытов.

випадениндинуклеотит (кофактор d-аминокислотных оксидаз), ни фокопиридоксаль (кофактор трансаминаз) не изменяют в заметной степени активность d-триптофанпирролазы, что свидетельствует о том, что последние не могут служить кофактором изучаемого фермента. Поскольку вышеназванные реагенты не являются кофакторами d-триптофанпирролазы, предполагается существование кофактора другой природы, переходящего в диализат.

Далее мы добавляли на диализированный гомогенат надосадочную жидкость, полученную при осаждении (2N HCl), последующем центрифугировании и нейтрализации почечного гомогената, т. е. части фермента, пропадающей при диализе. Активность d-триптофанпирролазы не восстанавливалась. Как видно из табл. 1, активность его после добавления супернатанта составляет 0,62 мкмоль, т. е. почти столько же, сколько в просто диализированном гомогенате. Возможно, низкомолекулярные вещества, удаляющиеся при диализе почечного гомогената и необходимые для полного проявления d-триптофанпирролазной активности, являются кислотолabileнными соединениями. Чтобы исключить последнее, к диализированному почечному гомогенату добавлялся диализат, собранный нами при многократном диализе и пролиофилизированный в аппарате КФ-30. Однако и в этих условиях d-триптофанпирролаза не восстанавливает своих нативных свойств.

В последующих экспериментах нами определялась константа Михаэлиса для l и d-триптофанпирролаз. Как показали исследования, эти два фермента имеют разное значение K_m : печеночная l-триптофанпирролаза— $0,43 \cdot 10^{-3}$ М, тогда как почечная— $1,82 \cdot 10^{-3}$ М.

В следующей серии исследований изучалась активность l- и d-триптофанпирролаз у крыс, содержащихся при различном пищевом рационе. Как видно из табл. 2, 60% казеиновая и частичная белковая диета повышают активность l-триптофанпирролазы, в то время как при углеводной диете активность ее не изменяется. Углеводная диета несколько повышает активность d-триптофанпирролазы, а при белковой диете заметных изменений не отмечается. Повышение активности l-триптофанпирролазы при белковой диете указывает на адаптацию, включающую синтез специфического белка. Известно, что l-триптофанпирролаза—адаптивный фермент [3], тогда как d-триптофанпирролаза адаптивными свойствами не обладает [1], чем и объясняется повышение активности l-триптофанпирролазы в печени при белковой диете. При голодании активно-

Таблица 2

Активность L- и D-триптофанпирролаз у крыс при различной диете,
мкмоль кинуренина на г ткани

П е ч е н ь			
сытые крысы	голодные 24 часа	казеиновая диета 60%	углеводная
1,75	4,2	4,62	1,77
П о ч к и			
1,75	1,70	1,6	2,2

Средние данные 9 опытов.

ность L-триптофанпирролазы также резко повышается, между тем как в почках мы не наблюдаем аналогичной картины. Эти различные эффекты свидетельствуют о наличии механизмов, контролирующих специфику ферментов.

Таблица 3

Активность D-триптофанпирролазы в почках разных животных,
мкмоль кинуренина на г ткани

Животные	Норма	p-ХМБ, 10^{-3} М	Моноiodук- сусная к-та, 10^{-3} М	Цистин, 10^{-3} М	Цистени, 10^{-3} М	Глутаттон, 10^{-3} М
Свинья	0,96	0	0,50	1,07	1,63	1,75
Корова	0,60	0	0,40	1,71	1,19	1,29
Курица	1,04	0	0,57	1,39	1,17	1,9
Собака	1	0	0,80	1,1	1,91	1,90
Крыса	1,50	0	0,80	1,40	1,91	1,90

Средние данные 10 опытов.

В следующей серии наших экспериментов определялась активность триптофанпирролазы в почках разных животных. Как видно из табл. 3, наивысшей D-триптофанпирролазной активностью обладают крысы, у всех остальных животных она намного ниже. Однако по своим некоторым свойствам D-триптофанпирролаза в почках указанных животных сходна: p-ХМБ, моноiodуксусная кислота понижают активность фермента; цистенин, глутаттон — повышают. Предполагается, что D-триптофанпирролаза этих животных также не содержит металла, как и аналогичный фермент почек крыс.

Институт биохимии
АН АрмССР

Поступило 14.VII 1970 г.

Բ. Հ. ԱՍԼԱՆՅԱՆ

d-ՏՐԻՊՏՈՖԱՆՊԻՐՐՈԼԱԶԻ ՀԵՏԱԳԱՆՈՒԹԱՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ

Ա մ փ ո փ ու մ

Հոգվածում ցույց է տրված, որ d-տրիպտոֆանպիրրոլազայի ակտիվությունն զգալիորեն նվազում է սոսնձների երիկամների համոզենատներում դիալիզի ժամանակ: Ֆլավինազենինդինուկլեոտիդի և պիրիդոկսալֆոսֆատի հավելումը չի բարձրացնում ֆերմենտի ակտիվությունը: Որաշված են Միխաելիսի կոնստանտները լյարդի և երիկամի տրիպտոֆանպիրրոլազաների համար: Այդ ֆերմենտների ակտիվությունն ուսումնասիրվել է տարբեր սննդային սպցիոնի ժամանակ:

d-տրիպտոֆանպիրրոլազայի ակտիվությունն ուսումնասիրվել է տարբեր կենդանիների երիկամներում տիպային նյութերի ազդեցության ներքո:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Аслиян Н. Г. ДАН АрмССР, т. XLIII, 4, 1966.
2. Knox W. E. Methods in enzymology, v. 2, 243, 1955.
3. Knox W. E. Science, 113, 237, 1951.
4. Yamamoto Shozo „Tryptophan metabolism“, v. 1 Osaka Sekai hoken. tsushinsha Ltd., 1964.