

КРАТКИЕ НАУЧНЫЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 531.3.577.15

Ж. Г. САРУХАНЯН, М. А. ДАВТЯН

НЕКОТОРЫЕ КИНЕТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА γ -ГУАНИДИНО-
БУТИРАТ-УРЕОГИДРОЛАЗНОЙ АКТИВНОСТИ В ПЕЧЕНИ КУР

Изучались некоторые кинетические свойства γ -гуанидинобутират-уреогидролазы печени кур: зависимость активности фермента от концентрации субстрата и вместе с тем сродство фермента к субстрату, а также влияние лизина и орнитина, являющихся ингибиторами аргиназы и γ -гуанидинобутират-уреогидролазы. Лизин и орнитин ингибируют γ -гуанидинобутират уреогидролазу конкурентно, однако лизин активность указанного выше фермента ингибирует намного слабее, чем аргиназы.

γ -гуанидинобутират-уреогидролазная активность была обнаружена в различных тканях ряда животных: кур, змей, ящериц [13], акулых рыб [4, 8], виноградной улитки [14], кролика [8, 15], у некоторых млекопитающих [13], бактерий [16], грибов [10].

В предыдущих наших работах была изучена внутриклеточная локализация фермента печени кур [1], а также произведена ее частичная очистка [2]. Было заключено, что в печени кур имеется несколько изоферментов γ -гуанидинобутират-уреогидролазы с различным молекулярным весом и зарядом молекулы, причем не исключалось существование изофермента, обладающего как аргиназной, так и γ -гуанидинобутират-уреогидролазной активностями, так как при применении различных способов очистки белков (высаливание сульфатом аммония, гель-фильтрация на сефадексе, хроматография на КМ-целлюлозе) в полученных фракциях почти всегда присутствуют обе активности вместе.

В данной серии экспериментов преследовалась цель изучить некоторые кинетические свойства γ -гуанидинобутират-уреогидролазы, а именно выявить зависимость активности фермента от концентрации субстрата и вместе с тем сродство фермента к субстрату и влияние лизина и орнитина, являющихся ингибиторами аргиназы и γ -гуанидинобутират-уреогидролазы [5, 10]. Эти исследования преследовали цель также внести ясность в спорный вопрос существования γ -гуанидинобутират-уреогидролазы, лишенной аргиназной активности. Следует упомянуть, что Барет и сотр. [5] приводят данные о наличии γ -гуанидинобутират-уреогидролазы в почках ската, основываясь на том факте, что орнитин в почечной ткани ската является для аргиназы конкурентным, а для γ -гуанидинобутират-уреогидролазы — неконкурентным ингибитором.

Методика. Нами получался высокоактивный препарат путем фракционирования печени кур на колонке с КМ-целлюлозой, как это подробно описано в предыдущей работе [2]. Активность аргиназы и γ -гуанидинобутират-уреогидролазы определяли уреаз-

ным методом [2]. K_m определяли графическим методом Лайнуивера-Бэрка, а также методом графического изображения зависимости v от pS ($= -\lg S$), что соответствует логарифмической форме уравнения Михаэлиса: $pS = pK_m + \lg \frac{V-v}{v}$. Константу ингибирования для аргиназы и γ -гуанидинобутират-уреогидролазы по отношению к орнитину и лизину определяли графическим методом Диксона [9].

K_m аргиназы печеночного препарата кур составляет $4,9 \cdot 10^{-3}$ М— $7,1 \cdot 10^{-3}$ М, причем данные двух методов определения почти совпадают. Полученные данные близки к значению K_m аргиназы печени чайки ($2,14 \cdot 10^{-3}$ М) [9]. Более высокие цифры [$100—200 \cdot 10^{-3}$ М] для аргиназы печени кур приводятся в работах Мора и сотр. [3]. Следует отметить, что последние исследования проводились на неочищенных препаратах (гомогенатах). K_m для γ -гуанидинобутират-уресгидролазы, как видно из наших данных, более высок— $4,2 \cdot 10^{-2}$ М— $5,9 \cdot 10^{-2}$ М. Таким образом, хотя в печени кур γ -гуанидинобутират-уреогидролазная активность значительно превышает активность аргиназы, сродство фермента к субстрату выше у аргиназы. Низкое сродство γ -гуанидинобутират-уреогидролазы к своему субстрату обнаружено также в отношении почек ската ($K_m = 1,25—1,6 \cdot 10^{-1}$ М) [7] и *Pseudomonas putida* [$3,2 \cdot 10^{-2}$ М] [10].

Согласно полученным данным, лизин и орнитин являются конкурентными ингибиторами как для аргиназы, так и для γ -гуанидинобутират-уреогидролазы печени кур. Однако лизин ингибирует активность γ -гуанидинобутират-уреогидролазы намного слабее, чем активность аргиназы (K_i 0,235 М и 0,075 М соответственно). K_i для аргиназы в отношении орнитина составляет 0,025—0,045 М, а для γ -гуанидинобутират-уреогидролазы—0,070—0,090 М. Аналогичные данные в отношении печеночной аргиназы птиц в литературе отсутствуют.

В исследованиях Барета и сотр. показано, что лизин и орнитин, как и в наших опытах, ингибируют не только аргиназу, но и γ -гуанидинобутират-уреогидролазу печени ската. Однако в отличие от наших экспериментов, где орнитин является конкурентным ингибитором для обоих ферментов, γ -гуанидинобутират-уреогидролаза печени ската ингибируется орнитином неконкурентно [14].

Совокупность полученных нами данных убеждает в том, что активности аргиназы и γ -гуанидинобутират-уреогидролазы в печени кур близки не только по своей внутриклеточной локализации, размером и зарядом молекул, как это было показано в предыдущих наших работах, но также по некоторым регуляторным свойствам. Выражена разница между этими двумя активностями в отношении сродства (K_m), к своим специфическим субстратам, а также в степени ингибирования этих активностей лизином, орнитином.

Փ. Գ. ՍԱՐԴԻՆԱՆՅԱՆ, Մ. Ա. ԴԱՎԹՅԱՆ

Կ-ԳՈՒԱՆԻԴԻՆՈՐՈՒՏԻՐԱՏ-ՈՒՐԵՆՆԻԴՐՈԼԱԶԱՅԻՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՈՐՈՇ
ԿԻՆԵՏԻԿ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ ՀԱՎԵՐԻ ԼՅԱՐԴՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Աշխատանքի նպատակն է հավելի լյարդի Կ-գուանիդինորուտիրատ-ուրեոհիդրոլազային որոշ կինետիկ հատկությունների ուսումնասիրումը, այսինքն՝ սուբստրատի կոնցենտրացիայից ֆերմենտի ակտիվության կախվածության դրսևորումը, ինչպես նաև արգինազայի և Կ-գուանիդինորուտիրատ-ուրեոհիդրոլազայի ինհիբիտոր հանդիսացող լիզինի և օրնիտինի ազդեցությունը:

K_m որոշվել է լայնովիվրը-Քերկի գրաֆիկ մեթոդով, իսկ K_i Դիկսոնի մեթոդով:

Հավելի լյարդի արգինազայի համար K_m L-արգինինի նկատմամբ կազմում է $4,9 \cdot 10^{-3}$ M ÷ $7,1 \cdot 10^{-3}$ M, իսկ K_m Կ-գուանիդինորուտիրատի նկատմամբ $4,2 \cdot 10^{-2}$ M ÷ $5,9 \cdot 10^{-2}$ M: Լիզինը և օրնիտինը կոնկուրենտային արգելակման են ենթարկում Կ-գուանիդինորուտիրատ-ուրեոհիդրոլազայի ակտիվությունը, սակայն լեզինը արգելակում է Կ-գուանիդինորուտիրատ-ուրեոհիդրոլազայի ակտիվությունը շատ ավելի քիչ, քան արգինազայինը (K_i 0,235 M և 0,075 M համապատասխանաբար):

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Саруханян Ж. Г., Петросян Л. А., Баблоян Р. С., Давтян М. А. Биологический журнал Армении, 26, 2, 1973.
2. Саруханян Ж. Г., Давтян М. А. Биологический журнал Армении, 26, 3, 1973.
3. Akamatsu Kobayashi. J. Biochem (Japan), 38, 1961.
4. Baret R. et al. C. R. Soc. Biol. 158, 10, 1965.
5. Baret R. et al. C. R. Soc. Biol. 10, 58, 1964.
6. Baret R. et al. C. R. Soc. Biol. 4, 159, 4, 1964.
7. Baret R. et al. C. R. Soc. Biol. 4, 158, 1965.
8. Baret R. et al. C. R. Soc. Biol. 10, 160, 1965.
9. Brown G. W. Arch. Bioch. Bioph. 114, 1966.
10. Chi-Su a Rodwell V. W. J. Biol. Chem. 14, 247, 1972.
11. Dixon M. Biochem. J. 55, 1953.
12. Hutser a Downns. Biol. Chem. 157, 1945.
13. Mora J. et al. Biochem. J. 56, 1965.
14. Poremska Z. et al. Acta Biochem. Pol. 15, 2, 1968.
15. Sono M. J. Biochem. (Japan), 33, 1941.
16. Thoai N. V. et al. Biochem. Bioph. Acta 63, 128, 1962.
17. Thoai N. V. et al. Biochem. Bioph. Acta 115, 73, 1966.