

КРАТКИЕ НАУЧНЫЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 577.152:547 963.2

Г. К. ПАРСАДАНЯН

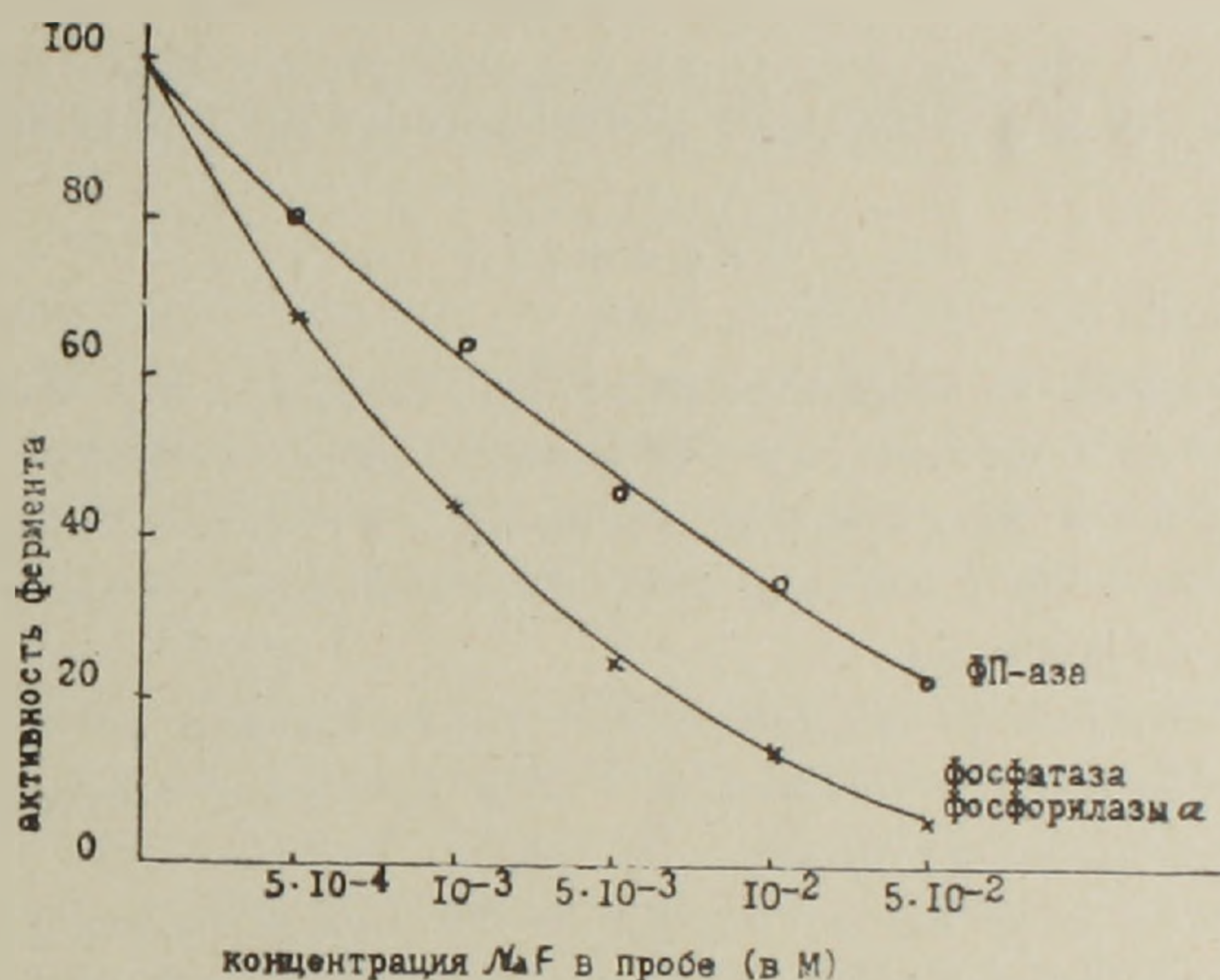
СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ФОСФАТАЗ
СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЫ

Ряд ферментов существует в двух формах, которые могут переходить одна в другую вследствие реакций фосфорилирования и дефосфорилирования. К ним можно отнести фосфорилазу, киназу фосфорилазы, гликогенсинтетазу, пируватдегидрогеназу и др. [9]. Эти процессы катализируются протеинкиназами и фосфопротеинфосфатазами (ФП-азами). Накопились данные, свидетельствующие о наличии множественных форм протеинкиназ и ФП-аз в одной и той же клетке [4], а также об относительно широкой субстратной специфичности ФП-азы. Так, гистон-фосфатаза, открытая Майслером и Ланганом [5], оказалась идентичной ферменту, дефосфорилирующему гликогенсинтетазу D и киназу фосфорилазы [9]. В свою очередь фосфатаза фосфорилазы α способна, помимо своего основного субстрата, дефосфорилировать также ингибиторный компонент белка тропонина [1]. Назрела необходимость выяснить, не являются ли эти две фосфатазы одним и тем же ферментом. С этой целью в настоящей работе сделана попытка сравнить некоторые свойства ФП-азы и фосфатазы фосфорилазы α .

В качестве источника фермента использовалась сердечная мышца кур. ФП-азная активность в пробах определялась по Файнштейну и Фольку [2]. Фосфатазу фосфорилазы α готовили по Де Вульффу и др. [8]. О дефосфорилировании фосфорилазы судили по падению ее активности.

На рисунке показано действие возрастающих концентраций фторида натрия на активность обоих ферментов в бесклеточном экстракте (полученном при центрифугировании гомогената сердечной мышцы при 6 тыс. g в течение 10 мин). Исходя из полученных данных, можно заключить, что как ФП-аза, так и фосфатаза фосфорилазы α теряют свою активность при действии возрастающих концентраций NaF, причем эффект этот несколько резче проявляется в отношении фосфатазы фосфорилазы α . Однако в свойствах этих двух ферментов имеются и более существенные различия. Так, при пропускании тканевого экстракта через колонку с Сефадексом Г-25 для освобождения его от низкомолекулярных компонентов ФП-азная активность в нем полностью исчезает, тогда как активность фосфатазы фосфорилазы сохраняется. Далее характерным

этапом очистки препарата фосфатазы фосфорилазы является осаждение ее при pH 5,2 уксусной кислотой. Как показали наши исследования, экстракт ткани до обработки уксусной кислотой проявляет обе фосфатазные активности, однако после подкисления до pH 5,2 фосфатаза фосфорилазы α концентрируется в осадке, тогда как ФП-азная активность остается в надосадочной жидкости. Указанные различия позволяют предполагать наличие двух разных фосфатаз, одна из которых дефосфорилирует фосфорилазу α , а другая отщепляет фосфор от фосфопротеинов



Действие ионов F^- на активность фосфатазы фосфорилазы α и фосфопротеинфосфатазы сердца кур (% от исходной активности).

(казеина). Возможно, что ФП-аза воздействует лишь на такие фосфатные связи, которые возникают при фосфорилировании белков цикло-АМФ зависимой протеникиназой. Как известно, такая киназа осуществляет фосфорилирование казеина, гистонов и некоторых других белков [3, 7, 9]. Переход же фосфорилазы b в a требует наличия отдельной киназы фосфорилазы. Действие этой киназы весьма специфично: V_{max} при использовании в качестве субстрата фосфорилазы b превышает в 15 раз V_{max} реакции фосфорилирования Т1 (ингибиторный компонент тропонина), а последняя, в свою очередь, в 150 раз интенсивнее фосфорилирования казеина тем же ферментом [6].

Нами изучались некоторые особенности взаимодействия ФП-азы с различными субстратами. Выяснилось, что «степень сродства» ФП-азы с казеином и фосфогистонами неодинакова. Так, когда в качестве субстрата использовался казеин, K_m составляла $2,4 \times 10^{-4}$ М (в расчете на ортофосфат). В отношении же фосфорилированного гистона F_{2b} величина K_m оказалась на порядок ниже: 2×10^{-5} М. (Меченная P^{32} фракция гистона F_{2b} была получена нами совместно с д-ром Анной Фараго в Институте биохимии Будапештского Медицинского Университета).

Дальнейшие исследования на более очищенных препаратах ФП-азы позволят окончательно заключить, один ли это фермент, обладающий широкой специфичностью, или группа ФП-аз, каждая из которых дефосфорилирует определенные фосфопротены.

Институт биохимии
АН АрмССР

Поступило 20.XII 1973 г.

Հ. Կ. ՓԱՐՍԱԴԱՆՅԱՆ

ՍՐՏԱՄԿԱՆԻ ՈՐՈՇ ՖՈՍՖԱՏԱԶՆԵՐԻ ՀԱՄԱՄԱՏԱԿԱՆ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Ուսումնասիրվել են հավի սրտամկանի ֆոսֆորիլազա a-ի ֆոսֆատազայի և ֆոսֆուպրոտեին ֆոսֆատազայի (ՖՊ-ազայի) որոշ հատկություններ:

Դիտվել է երկու ֆերմենտների ակտիվության ընկճում NaF-ի ներկայությամբ: Բացահայտվել է նաև այդ երկու ֆերմենտների հատկությունների ըզգալի տարբերությունները:

Ի տարբերություն ֆոսֆորիլազա a-ի ֆոսֆատազայի ՖՊ-ազայի ակտիվությունը անհետանում է Սեֆադեկս G 25-ի սյունակով անցկացնելուց կամ pH 5,2-ով նստեցնելուց հետո:

Հաստատված է, որ K_m -ի մեծությունը ՖՊ-ազայի համար կադեինի ներկայությամբ կազմում է $2,4 \cdot 10^{-4}$ M, այն ժամանակ, երբ հիստոն F_{2b} ներկայությամբ այն հավասար է $2 \cdot 10^{-5}$ M:

Քննարկվում է տարբեր ֆոսֆատազների գոյության հնարավորությունը, կախված դեֆոսֆորիլացմանը նախորդող համապատասխան կինազների կողմից սպիտակուլների ֆոսֆորիլացման պրոցեսների առանձնահատկություններից:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. England P. J., Still J. T., Krebs E. G. J. Biol. Chem., 247, 5275, 1972.
2. Feinstein R. N., Folk M. E. J. Biol. Chem., 177, 339, 1949.
3. Langan T. A. Science, 162, 579, 1968.
4. Maeno Hiroo, Greengard P. J. Biol. Chem., 247, 3269, 1972.
5. Meisler M. H., Langan T. A. J. Biol. Chem., 244, 4961, 1972.
6. Still J. T., Brostrom Gh. O., Krebs E. G. J. Biol. Chem., 247, 5272, 1972.
7. Walsh D. A., Perkins J. P., Krebs E. G. J. Biol. Chem., 243, 3763, 1968.
8. De Wulf H., Stalmans W., Hers H.—G. Europ. J. Biochem., 15, 1, 1970.
9. Zieve F. E., Gllnsmann W. H. Biochim. Biophys. Res. Commun., 50, 872, 1973.