

КРАТКИЕ НАУЧНЫЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 615.5

Л. А. ПЕТРОСЯН, Р. С. БАБЛОЯН, М. А. ДАВТЯН

АДАПТИВНЫЕ СВОЙСТВА ИЗОФЕРМЕНТОВ АРГИНАЗ
ПЕЧЕНИ КРЫС

В предыдущих исследованиях нам удалось раскрыть два пика аргиназной активности при фракционировании экстракта печени крыс на колонках с сефадексом G-200 и КМ-целлюлозой. Было предположено, что один из пиков соответствует уреотелической аргиназе, а другой—неуреотелической [1]. Однако для окончательного решения природы обнаруженных активностей необходимо установить их связь с орнитинovým циклом. Доказано, что все ферменты этого цикла характеризуются общностью механизмов регуляции. Факторы, стимулирующие орнитинový цикл (голодание, высокобелковая диета, введение гидрокортизона и пр.), вызывают в равной мере активирование всех ферментов цикла. В частности показано, что при введении гидрокортизона или голодании у крыс резко активируется печеночная аргиназа [2, 4]. В этом разрезе представляло интерес изучение адаптационных свойств обнаруженных двух пиков аргиназ печени при введении гидрокортизона.

Для выяснения этого вопроса в новой серии опытов проводилась хроматография экстрактов печени крыс, которым предварительно был введен гидрокортизон (30 мг на 1 кг веса, внутримышечно, 4 раза через 24 часа). Параллельно в абсолютно идентичных условиях одновременно проводилась хроматография экстракта печени неактивных крыс. После перфузии печени физиологическим раствором готовился 20%-ный гомогенат на малинатовом буфере, pH 7,0 (0,005 М раствора малиновой кислоты, содержащего 0,005 М $MnCl_2$), который замораживался, оттаивался, подогревался до 60° 10 мин, центрифугировался при 50000 g 30 мин, и 3 мл прозрачного супернатанта пропускалось через колонку (колонка—1,5×35 см, уравновешенная против 0,005 М трис—HCl буфера при pH 7,0, элюция—градиентная этим же буфером с постоянным повышением молярности от 0 до 0,25 М KCl, скорость элюции—24 мл/час, объем фракции—4 мл). Для определения активности аргиназы к 0,5 мл ферментного раствора добавлялось 0,2 мл 0,02 М раствора $MnCl_2$ и 0,8 мл, 0,04 М глицинового буфера (pH 9,5), прединкубировался 15 мин в атмосфере воздуха при 37°, добавлялся 1 мл 0,7 М раствора L-аргинина (pH 9,5), после пятиминутной инкубации реакция приостанавливалась $HClO_4$ (5 мл 0,05 М раствором), центрифугировалась и в надосадочной жидкости определялась мочеви́на методом Арчибальда [3].

Как наглядно видно из рисунка, при хроматографии экстракта печени крыс обнаруживаются два пика аргиназной активности: первый элюируется 0,0—0,05 М KCl, а второй—0,20—0,25 М KCl, причем активность в последнем пике значительно выше.

Из приведенных кривых ясно, что под влиянием гидрокортизона активируется аргиназа большого пика. Активность его во фракции 29 с

1200 ед/мл доходит до 2200 ед/мл, т. е. активируется около 2 раз, тогда аргиназа маленького пика не подвергается активированию.

Итак, наблюдаемое активирование аргиназы печени крыс при введении гидрокортизона происходит за счет индукции одного изофермента, а не обоих. Активирование аргиназы большого пика подтверждает

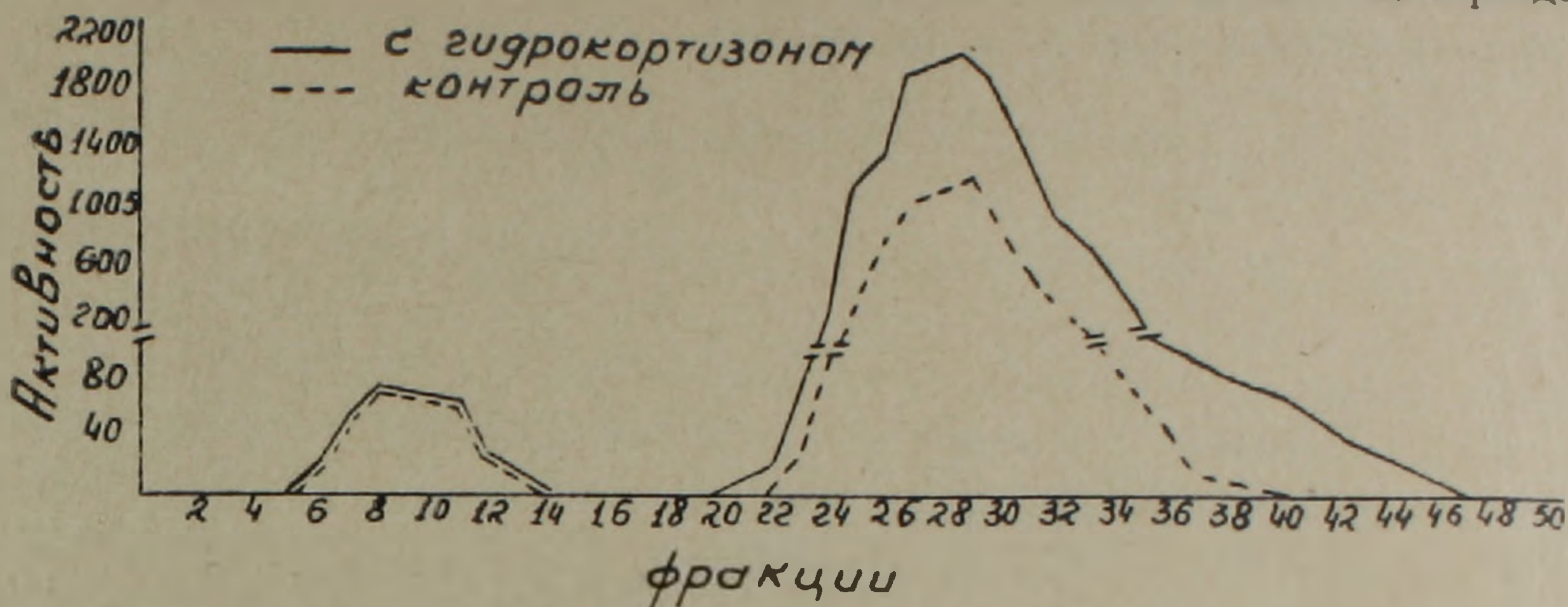


Рис. Хроматограмма аргиназы печеночного экстракта крыс на колонке с КМ-целлюлозой в норме и после введения гидрокортизона.

его уреотелическую природу, ибо при этом параллельно активируются и другие ферменты орнитинового цикла. Полученные данные являются также веским доказательством того, что обнаруженный маленький пик активности,— действительно, предполагаемая нами неуреотелическая аргиназа, функционально не связанная с орнитиновым циклом.

Институт биохимии
АН АрмССР

Поступило 18.VII 1973 г.

Լ. Հ. ՊԵՏՐՈՍՅԱՆ, Ռ. Ս. ԲԱՔԼՈՅԱՆ, Մ. Ա. ԴԱՎԹՅԱՆ

ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ԼՅԱՐԴԻ ԱՐԴԻՆԱԶԱՅԻ ԻԶՈՖԵՐՄԵՆՏՆԵՐԻ ԱԴԱՊՏԻՎ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ

Ա մ փ ո փ ու մ

Ուսումնասիրվել է հիդրոկորտիզոնի ներարկման ազդեցությունը սպիտակ առնետների լյարդի էքստրակտների քրոմատոգրաֆիայի միջոցով հայտնաբերվող արգինազայի ակտիվության երկու գագաթների վրա: Պարզվել է, որ հիդրոկորտիզոնի ներարկումից ակտիվությունը բարձրանում է միայն մեկ գագաթում, մինչդեռ փոքրում այն չի փոփոխվում: Գրականության մեջ եղած տվյալների համաձայն, հիդրոկորտիզոնի ներարկումից լյարդում ակտիվանում են օրնիտինային ցիկլի բոլոր ֆերմենտները:

Ստացված տվյալները հիմք են տալիս եզրակացնելու, որ արգինազային ակտիվության փոքր գագաթն ունի ոչ ուռնոտելիկ բնույթ, քանի որ այն չի ակտիվանում օրնիտինային ցիկլի բոլոր ֆերմենտների ակտիվացումը պայմանավորող հիդրոկորտիզոնի ներարկումից:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Давтян М. А., Бунятян Г. Х., Геворкян Д. М. и Петросян Л. А. Вопросы биохимии мозга, Изд. АН АрмССР, 6, 15, 1970.
2. Давтян М. А. и Петросян Л. А. Биологический журнал Армении, 23, 99, 1970.
3. Archibald R. M. J. Biol. Chem. 156, 121, 1944.
4. Grillo M. A. Clinica Chem. Acta. 10, 259, 1961.