

М. А. ДАВТЯН, Т. Г. АРУТЮНЯН, М. А. ХАЧАТРЯН

ИЗОЭНЗИМНЫЙ СПЕКТР АРГИНАЗЫ ПРИ РАЗВИТИИ ТУТОВОГО ШЕЛКОПРЯДА *BOMBYX MORI L.*

Изучались изоэнзимный спектр аргиназы и его изменения в течение развития тутового шелкопряда.

Выявлены три изоэнзима аргиназы, количественное содержание и активность которых претерпевают большие изменения при развитии организма. Вероятно, изоэнзим аргиназы, который фильтруется с высокомолекулярными белками и четко представлен на стадии гусеницы, является уреотелическим, а другие два изоэнзима—неуреотелическими, не участвующими в механизме нейтрализации аммиака, но имеющими другие функции.

Предьдущими нашими исследованиями было показано, что на всех стадиях развития тутового шелкопряда обнаруживается аргиназная активность, а на стадии гусеницы она сочетается с активностями всех ферментов орнитинового цикла [9—11]. Было сделано заключение, что на стадии гусеницы, когда происходит активный обмен между организмом и окружающей средой, создаются необходимые условия для проявления и уреотелических свойств, хотя это насосоное в целом является урикетелическим организмом.

Согласно выдвинутому положению, в природе существуют по крайней мере две формы аргиназы (уреотелическая и неуреотелическая), одна из которых (неуреотелическая) имеет общебиологическое распространение, и функции ее, пока точно не установленные, не связаны с механизмом нейтрализации аммиака (с орнитиновым циклом); другая (уреотелическая) встречается лишь у уреотелических организмов и является последним звеном орнитинового цикла. В свете этих представлений в уреотелических организмах, наряду с уреотелической аргиназой, должен присутствовать и неуреотелический фермент. Очевидно, в механизме становления уреотелизма (например, при метаморфозе амфибий, когда аммонотелизм переходит в уреотелизм) решающим моментом является индукция уреотелической аргиназы, которая начинает функционировать независимо от уже функционирующего неуреотелического фермента [2—4, 13, 15]. Исходя из этого можно предположить, что и при метаморфозе тутового шелкопряда, когда при переходе в гусеничную стадию развития формируется орнитиновый цикл мочевинообразования, индуцируется уреотелическая аргиназа.

С целью выяснения этого вопроса в настоящей работе были изучены изоэнзимный спектр аргиназы и его изменения в течение развития тутового шелкопряда.

Материал и методика. Объектом исследований служил тутовый шелкопряд породы Арс-43 весенней и осенней выкормки 1974—75 гг. (шелководческая станция Института земледелия МСХ АрмССР). Гомогенизацию проводили в стеклянном гомогенизаторе типа Поттер-Эльведжема со стеклянным пестиком. Гомогенаты готовили на малсынатном буфере (0,005 М, рН 7,0), которые после двухкратного замораживания (лед+соль, 3:1) и оттаивания подвергались гомогенизации, после чего тепловой обработке (60°C, 10 мин) и снова гомогенизации. Гомогенаты центрифугировались при 25000 g 30 мин. Из полученной надосадочной жидкости 6 мл наносили на колонку с сефадексом G-200 (2,5×60 см), уравновешанную 0,02 М калий-фосфатным буфером при рН 7,4. Объем фракций—4 мл, скорость элюции—8 мл/час. Концентрацию белка во фракциях определяли по интенсивности поглощения света при 280 м μ . аргиназную активность—ранее описанным методом Арчибальда [12].

Результаты и обсуждение. Приведенные кривые показывают, что фильтрационное поведение белков и аргиназной активности меняется в зависимости от фаз развития тутового шелкопряда (рис. 1, 2). Если в покоящейся грене выявляются два четко разграниченных пика белка и два недостаточно четких пика аргиназной активности, то в развивающейся грене (3-й, 7-й дни развития) происходит ясное разграничение двух пиков аргиназной активности, совпадающих с пиками белковых фракций. Выявленные два пика аргиназной активности по величине почти не отличаются друг от друга, тогда как второй пик белка остается преобладающим над первым.

На стадии гусеницы (рис. 3, 4) наблюдается не только резкое разграничение пиков белковых фракций и аргиназной активности, но и обнаруживаются различия в активности их: первый пик активнее второго. Как отмечено выше, на этой стадии развития у тутового шелкопряда выявлено наличие и активирование всех ферментов орнитинового цикла. Следовательно, можно предположить, что один из пиков аргиназной активности функционирует в цикле мочевинообразования, т. е. является уреотелическим ферментом.

Интересным является исчезновение на стадии куколки (рис. 5) изофермента аргиназы, фильтрующегося с высокомолекулярными белками. На этой стадии развития выявляется в основном второй пик аргиназной активности. Очевидно, при переходе в куколочную стадию выпадает активность уреотелической аргиназы.

На 15-й день развития куколки, перед вылетом бабочки, выявляется новый пик аргиназной активности, фильтрующейся со свойственным для данной стадии развития большим пиком низкомолекулярных белков (рис. 6). На стадии бабочек вновь резко возрастает первый пик аргиназной активности, исчезает четкость контуров свойственного для куколочной стадии пика фермента, фильтрующегося с низкомолекулярными белками, и вырисовывается второй пик активности.

Таким образом, у тутового шелкопряда методом гельфильтрации проявляются 3 изоэнзима аргиназы, количественное соотношение и активность которых претерпевают большие изменения при развитии организма. Вероятно, изоэнзим аргиназы, который фильтруется с высокомолекулярными белками и четко представлен на стадии гусеницы, яв-

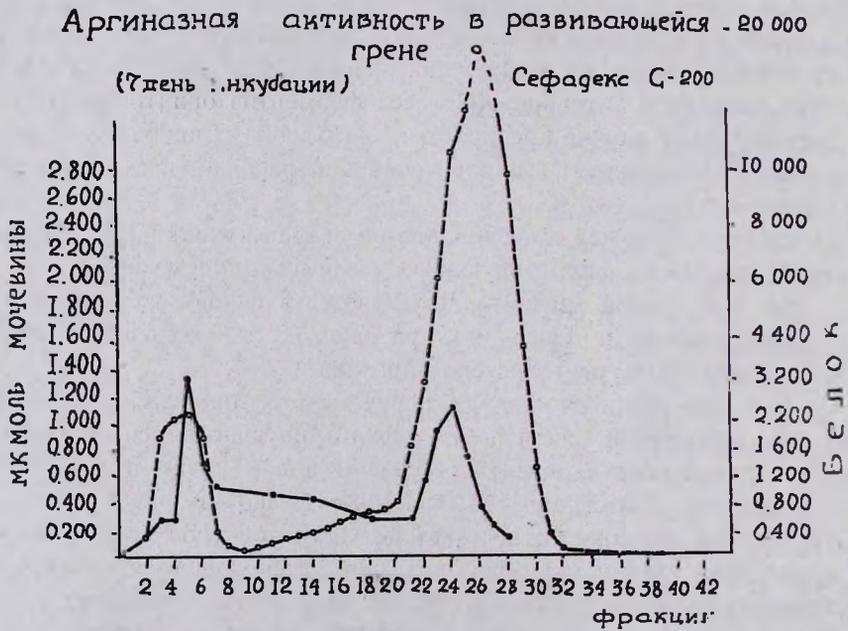
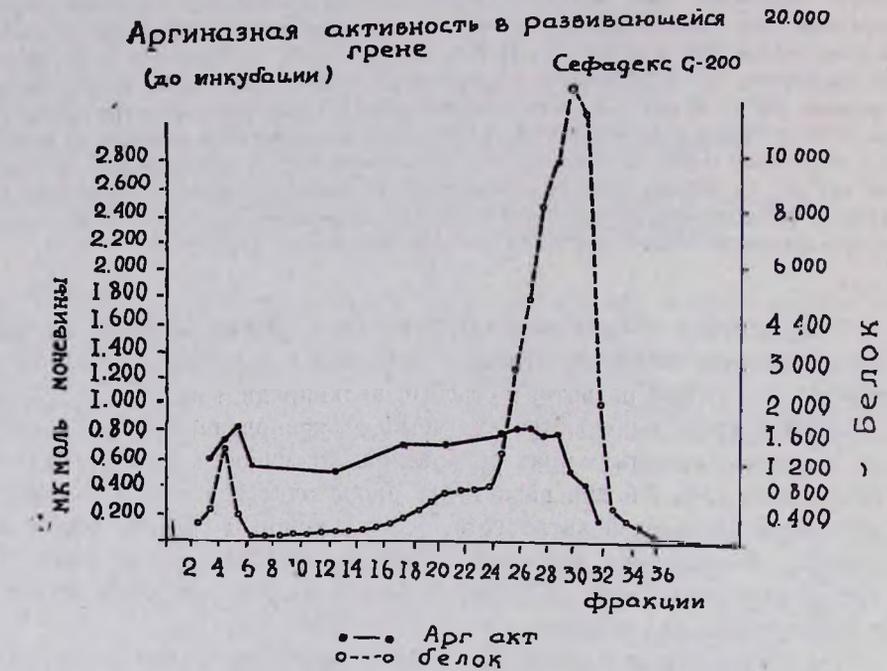


Рис. 1, 2.

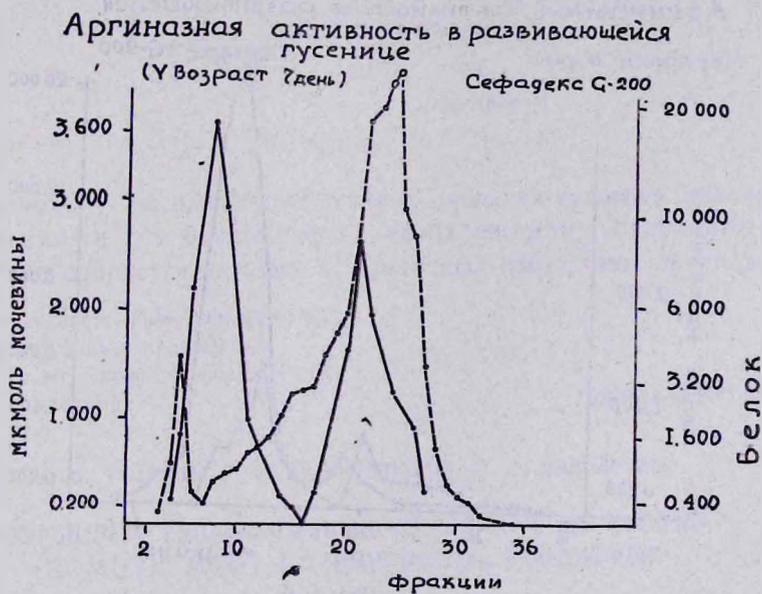


Рис. 3, 4.

ляется уреотелическим, а другие два изоэнзима—неуреотелическими, не участвующими в механизмах нейтрализации аммиака, но имеющими другие функции.

В связи с этим предполагается возможное участие неуреотелической аргиназы в обеспечении оптимального уровня в тканях некоторых

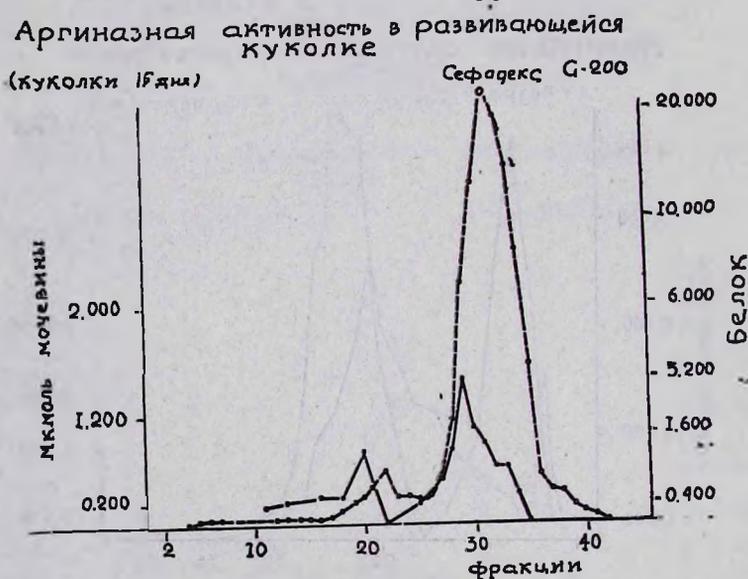
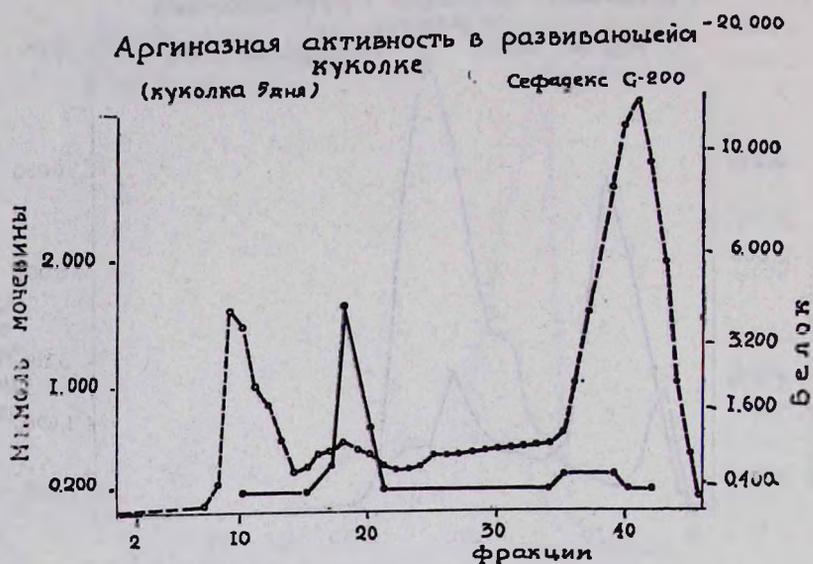


Рис. 5, 6.

биологически важных соединений (мочевина, цитруллин, аргинина, однозамещенных гуанидиновых соединений), участие в биосинтезе гистонов (путем лимитирования содержания аргинина в ядрах клеток) [5—8, 10], в механизме биосинтеза пролина (что обеспечивает процесс необходимым предшественником—орнитинном) [1].

Аргиназная активность в развивающейся куколке
(Бабочки 1 жм) Серадекс G-200

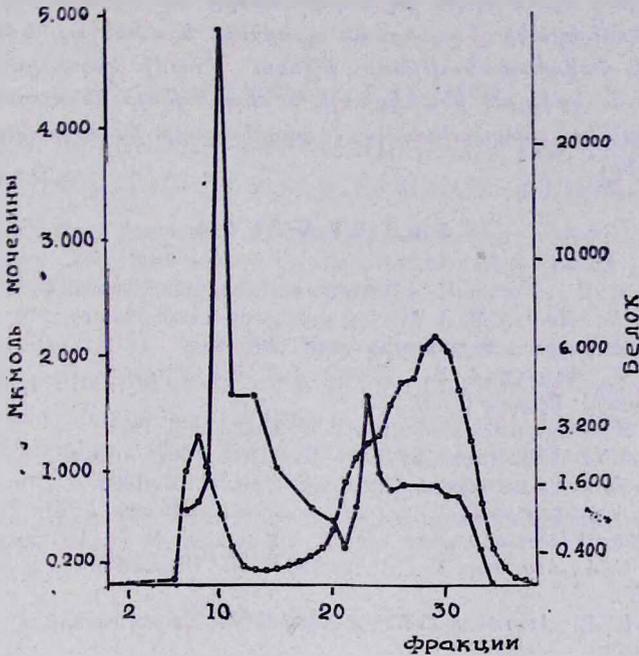


Рис. 7.

По-видимому, на различных стадиях развития тутового шелкопряда, в зависимости от биологической необходимости, индукцией или репрессией регулируется активность различных изоэнзимов аргиназы.

Ереванский государственный университет,
кафедра биохимии и проблемная
лаборатория сравнительной и эволюционной
биохимии

Поступило 29.I 1976 г.

Մ. Ա. ԴԱՎԹՅԱՆ, Տ. Գ. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ, Մ. Հ. ԽԱՉԱՏՐՅԱՆ

ԱՐԳԻՆԱԶԱՅԻ ԻՉՈԷՆԶԻՄԱՅԻՆ ՍՊԵԿՏՐԸ ԹԹԵՆՈՒ ՇԵՐԱՄԻ
(BOMBYX MORI L.) ԶԱՐԳԱՑՄԱՆ ԸՆԹԱՑՔՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ո մ

Ուսումնասիրվել է արգինազայի իզոէնզիմային սպեկտրը և նրա կրած փոփոխությունները թթենու շերամի զարգացման ընթացքում:

Սեֆադեքս G-200-ով մզվածքները հելֆիլտրացիայի ենթարկելով հայտնաբերվել են արգինազայի երեք իզոֆերմենտներ, որոնց ակտիվությունը և քանակական հարաբերությունը շերամի զարգացման ընթացքում կրում է նշանակալի փոփոխություններ: Թթենու շերամի զարգացման թրթուրային

ստադիայում հայտնաբերված (այստեղ հայտնաբերվել են նաև օրնիտինա-
յին ցիկլի մյուս բոլոր ֆերմենտները) բարձրամոլեկուլյար սպիտակուցների
հետ ֆիտրվող արգինազայի իզոֆերմենտը, հավանաբար, համարվում է
ուրեոթեիկ, իսկ մյուս երկու իզոֆերմենտները՝ ոչ ուրեոթեիկ, որոնք չեն
մասնակցում ամոնիակի շեղոթացման պրոցեսին և ունեն այլ ֆունկցիաներ:

Ամենայն հավանականությամբ, թթենու շերամի դարգացման տարբեր
ստադիաներում, կախված ինդուկցիայի և ռեպրեսիայի կենսաբանական ան-
հրաժեշտությունից, կարգավորվում է արգինազայի տարբեր իզոէնզիմների
ակտիվությունը:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Агаджанян А. Х., Давтян М. А. Биологический журнал Армении, 27, 5, 1974.
2. Бунятыан Г. Х., Давтян М. А. Мат-лы междунар. симп. 1965 г., с. 78. Л., 1967.
3. Давтян М. А. Вопросы биохимии мозга, 4, 237, 1967.
4. Давтян М. А., Бунятыан Г. Х., Геворкян Д. М., Петросян Л. А. Вопросы био-
химии мозга. Ереван, 6, 15, 1970.
5. Давтян М. А. Вопросы биохимии мозга. Ереван, 1, 105, 1964.
6. Давтян М. А. Тез. V Всесоюзн. конф. по нейрохимии, 134, Тбилиси, 1968.
7. Давтян М. А. Вопросы биохимии мозга. Ереван, 4, 237, 1968.
8. Давтян М. А., Бунятыан Г. Х., Геворкян Д. М., Баблоян Р. С., Петросян Л. А.
Тез. второго Всесоюзн. съезда биохимиков (секция № 7), 4, Ташкент, 1969.
9. Карапетян С. А., Арутюнян Т. Г., Давтян М. А. Биологический журнал Армении,
26, 7, 1973.
10. Карапетян С. А., Арутюнян Т. Г., Давтян М. А. Биологический журнал Армении,
26, 12, 1973.
11. Խաչատրյան Մ. Ա., Արությունյան Դ. Գ., Դավթյան Մ. Ա. Биологический журнал Армении,
28, 12, 1975.
12. Archibald R. M. J. Biol. Chem., 156, 121, 1944.
13. Buniatian H. Ch., Davtian M. A. J. Neurochem., 13, 743, 1966.
14. Davtian M. A., Buniatian H. Ch. Abstracts of Inter. Neurochem. conference,
Oxford, p. 12, 1965.
15. Davtian M. A. Abstracts of III Inter. meeting of the Inter. Society for. Neuro-
chem., Budapest, p. 72, 1971.