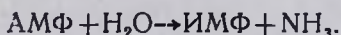


Ж. И. АКОПЯН

АМФ-АМИНОГИДРОЛАЗЫ

В статье систематизированы литературные данные, накопившиеся за последние годы по АМФ-аминогидролазам—аллостерическим ферментам, подверженным весьма сложной регуляции. Описаны факторы, играющие важную роль в регуляции активности фермента (нуклеотиды, бионеорганические ионы). Сделана попытка на основании данных литературы представить молекулярный механизм каталитического акта.

Основным ферментом, регулирующим содержание аденозин-5'-мо-нофосфорной кислоты в клетке, является аденилатдезаминаза (КФ 3.5.4.6, АМФ-аминогидролаза), осуществляющая гидролитическое расщепление адениловой кислоты до аммиака и инозиновой кислоты:



Интерес к этому ферменту не случаен, ибо работами последнего десятилетия показан, что уровень АМФ и ИМФ в организме играет большую роль в регуляции активности многих ферментов.

Распределение в тканях и клетках. Наибольшей активностью обладает фермент из скелетных мышц, и по сравнению с ней активность аденилатдезаминазы в мозге, миокарде, печени, селезенке, поджелудочной железе, крови составляет 1,5% [1]. Еще меньшая активность обнаружена в легких, почках, плаценте [2, 3] и совсем незначительная—в костном мозге [4]. В скелетных мышцах кролика основная ферментативная активность сосредоточена в микросомальной фракции, в остальных фракциях активность в 5—7 раз ниже и распределена примерно равномерно [5]. Аденилатдезаминаза в основном является растворимым ферментом, однако некоторая часть ее (примерно 10—12%) довольно прочно связана с мембранами, причем располагается на внешней поверхности мембран [6, 7]. Аденилатдезаминаза крови полностью сосредоточена в эритроцитах и представлена в двух формах: растворимой и связанной с мембранами [8, 9]. Однако, поскольку интактные эритроциты не обладают аденилатдезаминазной активностью, считается, что структурный фермент связан с внутренней поверхностью мембран эритроцитов. Активность структурно связанной аденилатдезаминазы составляет около 16% от общей аденилатдезаминазной активности эритроцитов [8—10]. В мозгу крысы наибольшей активностью обладает кора, а в белом веществе активность фермента чрезвычайно низка [11].

Определение активности фермента. Активность аденилатдезаминазы определяется различными методами по всем продуктам реакции. Субстрат и один из конечных продуктов реакции—ИМФ поглощают

свет в ультрафиолетовой области, с максимумами поглощения при 260 и 240 нм, соответственно. Поскольку дезаминирование 1 моля адениловой кислоты приводит к образованию 1 моля инозиновой кислоты, оптическая плотность в этом случае изменится на величину, равную разности коэффициента экстинкций. На этом принципе основан предложенный Калькаром [12] спектрофотометрический метод определения аденилатдеаминазной активности. В диапазоне длин волн 260—265 нм коэффициенты экстинкций АМФ и ИМФ отличаются более всего, и здесь чувствительность метода наибольшая. При 265 нм $E_{\text{АМФ}} - E_{\text{ИМФ}} = 8100$, а количество дезаминированной АМФ (образованной ИМФ) равно $\frac{D}{8100}$ моль/л. Скорость реакции, катализируемой аде-

нилатдеаминазой, можно определить и по второму продукту—нарастанию содержания аммиака в инкубационной среде по ходу реакции. Для определения активности фермента по концентрации аммиака в среде используют реактив Насслера [13, 14], фенол-гипохлоритный реагент [8, 15]. В ряде случаев используют и меченые субстраты—АМФ- 8-C^{14} или АМФ 32 [16]. Наконец, аденилатдеаминазную реакцию можно тестировать и методом потенциометрии [17]. Принцип этого метода заключается в том, что в процессе выделения аммиака в результате ферментативной реакции происходит защелачивание среды. Если реакцию проводить в растворе с небольшой буферной емкостью, то за ходом ее можно следить по изменению pH среды. В области $\text{pH} \leq 8,1$, где аммиак полностью ионизирован [18], сдвиг pH количественно соответствует активности фермента.

Очистка фермента. Аденилатдеаминаза—растворимый фермент, непрочный связанный с клеточными органеллами, что в значительной степени облегчает и предопределяет методы ее очистки из различных органов и тканей.

Первые методы не отличались особой избирательностью и не давали возможность получать препараты ферментов с высокой степенью очистки. По мере накопления новых сведений о свойствах ферментов удалось некоторые из них применить для очистки и сделать процесс выделения аденилатдеаминазы более специфическим. Первый такой оригинальный прием для выделения фермента был описан Смайли с сотр. [19]. Метод основан на избирательной адсорбции фермента из скелетных мышц кролика на фосфате целлюлозы. При элюции линейным градиентом KCl (0,5—1M) с катионообменника элюируется один белковый пик, соответствующий активности аденилатдеаминазы. Этим весьма простым методом можно получить препарат фермента с очисткой 240—260 раз, по сравнению с исходным мышечным экстрактом, с выходом общей активности около 35%.

Используя свойство растворимости, а также способность АТФ предохранять фермент от тепловой инактивации, Ловенштейн с сотр., предложили метод получения высокоочищенных препаратов аденилатдеаминазы из мозга телят [13], состоящий из нескольких этапов:

осаждения растворимого белка мозга, тепловой обработки в присутствии АТФ, хроматографии на колонке с ДЭАЭ-целлюлозой и гелевой фильтрации на сефарозе. После последнего этапа степень очистки достигает 180 раз, а выход фермента—21%. Аналогичный подход был применен и для выделения аденилатдезаминазы из печени крысы [14]. При этом достигалась очистка порядка 90 раз. Самую большую степень очистки удалось достигнуть при выделении аденилатдезаминазы из эритроцитов крови цыпленка [8]. Логично предположить, что наиболее эффективную очистку можно получить используя сочетание специфических подходов, т. е. защитный эффект АТФ и хроматографию на фосфоцеллюлозе, однако подобного сочетания в литературе мы не встречали.

Препараты очищенного фермента обладают завидной стабильностью. При концентрации белка 20 мкг/мл и температуре 3° аденилатдезаминазная активность сохраняется в течение недели [20]. Более концентрированные ферментные растворы (1 мг/мл) при хранении при —10° в течение месяца теряют лишь 30% активности [21], а при комнатной температуре активность фермента сохраняется в течение 6—8 дней [22]. Аденилатдезаминаза из мозга телят может быть сохранена без потери активности в течение двух месяцев в замороженном состоянии, при —20°. Прибавление к таким препаратам сахарозы, глицерина или альбумина сыворотки крови белка не удлиняет срок хранения [13].

Аденилатдезаминаза скелетных мышц кролика образует устойчивые комплексы с миозином [23—26]. Для отделения фермента применяли методические подходы: прогревание препаратов фермента, длительный диализ и др. [27—29]. Возможно, смысл комплекса фермента с миозином заключается в предохранении фермента от тепловой инактивации или воздействия ультрафиолетовых лучей [5].

Физико-химические свойства. Величины констант седиментации для всех исследованных ферментативных препаратов варьируют в диапазоне 9,5—12,5 S [13, 19, 22, 30—32]. Наибольший разброс данных констант седиментации, по-видимому, связан с тем обстоятельством, что исследования этого параметра проводились на ультрацентрифугах разных систем, а, как известно [33], значения этих констант, полученные, например, в ультрацентрифуге типа Сведберга, приблизительно на 10% выше значений, полученных в ультрацентрифуге системы Спинко. Молекулярный вес, вычисленный на основании величин константы седиментации и коэффициента диффузии, равен $3,2 \cdot 10^5$ [34] или $2,9 \cdot 10^5$ [35, 36].

При изучении физико-химических показателей фермента принципиальное значение имеет концентрация ионов калия в препаратах из скелетных мышц крысы [37]. Дело в том, что фермент, по крайней мере из мышечной ткани, состоит из четырех субъединиц, и для сохранения ее структуры в виде тетрамера необходимо присутствие в препаратах фермента минимум $0,5 \text{ M K}^+$.

Заметное снижение концентрации ионов калия приводит к диссоциации фермента на четыре мономера, с молекулярным весом 80,000 каждый [37, 38]. Процесс этот обратим в случае увеличения концентрации K^+ до 0,5 М. По этим свойствам аденилатдезаминаза напоминает формилтетрагидрофатсинтетазу, которая также диссоциирует на четыре мономера при значительном снижении концентрации ионов калия и реассоциирует в тетрамер в его присутствии [39].

Показано наличие трех различных изоферментов АМФ—аминогидролазы из экстрактов ткани сердца, мышц и почек. Для каждой ткани характерен свой изофермент: для мышц—тип А, для почек—В, для сердца—С. При изучении иммунологической характеристики были приготовлены антисыворотки к индивидуальным изоформам и исследовано взаимодействие антиген-антитело. Не обнаружено кросс-реактивности. Антисыворотка осаждала только соответствующий изофермент. Для всех изоформ предложена тетрамерная структура [40].

При электрофорезе в 5% полиакриламидном геле высокоочищенных препаратов из скелетных мышц кролика была обнаружена одна белковая полоса [19, 32]. Аналогичные результаты были получены при исследовании препаратов аденилатдезаминаз, выделенных из эритроцитов крови человека [10].

Высокоочищенные препараты фермента из эритроцитов крови цыпленка при электрофорезе в полиакриламидном геле обнаруживали три белковые полосы [8]. Очищенная в 100 раз, по сравнению с исходной надосадочной фракцией, и окрашенная амидочерным 10 Б, аденилатдезаминаза из печени крыс при электрофорезе в полиакриламидном геле визуально обнаруживала 8 полос, причем 6 из них двигались к катоду, 2—к аноду [14].

Максимум поглощения ферментных растворов в ультрафиолетовой части спектра наблюдали при длине волны 275 нм, изоэлектрическая точка находилась приблизительно при рН 5,6, ферментный препарат из скелетных мышц кролика содержал 16,5% азота [21, 32].

При исследовании стехиометрии реакций ферментативного дезаминирования адениловой кислоты было показано, что в результате дезаминирования 1 моля адениловой кислоты образуется 1 моль инозиновой кислоты, с освобождением 1 моля аммиака [21]. Величины константы Михаэлиса, вычисленные графически по методу двойных обратных величин, были равны 0,7—1,4 мМ для высокоочищенных препаратов из скелетных мышц кролика [41].

Методом двумерной тонкослойной хроматографии данзилированных аминокислот исследованы N-концевые группы препаратов аденилатдезаминазы скелетных мышц крысы и выявлено присутствие гистидина, тирозина, цистеиновой кислоты, а в эфирной фазе—лейцина и изолейцина [42].

Каталитические свойства. Высокоочищенные препараты аденилатдезаминаз из скелетных мышц кролика обладают узкой субстратной специфичностью. Фермент дезаминирует только адениловую (адено-

зин-5'-монофосфорную) кислоту и практически не атакует аденин, аденозин, цитозин, гуанозин, аденозин-2'-монофосфорную, аденозин-3'-монофосфорную кислоты, НАД, НАДФ [13, 43], аденозин-5'-дифосфорную, аденозин-5'-трифосфорную кислоты, 2-хлор-аденозин-5'-монофосфат, 2-метилтио-АМФ, 2-метил-АМФ, 2-этилтио-АМФ, 2-хлор-N⁶-метил-АМФ [44].

Такая же узкая специфичность характерна и для аденилатдеаминаз, выделенных из других биологических объектов: семян гороха [45], *Azotobacter vinelandii* [46]. Аденилатдеаминаза из скелетных мышц кролика обнаруживала способность катализировать деаминирование производных адениловой кислоты—аденозин-5'-фосфорамид, N⁶-метиладенозин-5'-монофосфат, аденозин-5'-моносультат, причем скорость деаминирования этих соединений составляла 73, 20 и 13%, соответственно от скорости деаминирования адениловой кислоты [47].

Суммирование литературных данных о субстратной специфичности высокоочищенных препаратов аденилатдеаминаз из различных органов и тканей позволяет сделать заключение: любое замещение в положениях 1, 2, 6, 7 основания или в положениях 2' и 3' остатка рибозы в молекуле субстрата приводило к тому, что образующиеся производные аденозин-5'-монофосфорной кислоты не подвергались деаминированию при их инкубации с препаратами аденилатдеаминаз [47, 48].

Роль металлов. Методом атомной спектрографии и путем титрования 8-оксихинолин-5-сульфонатом было установлено наличие 2 и 2,6—3,2 грамм атомов цинка на моль высокоочищенного препарата аденилатдеаминазы из скелетных мышц крыс и кролика соответственно [49, 50]. Внесение в инкубационную среду избытка цинка существенно не сказывалось на скорости реакции деаминирования адениловой кислоты [50]. Апофермент высокоочищенных препаратов аденилатдеаминаз из скелетных мышц кролика в значительно меньшей степени реактивировали Co^{++} , Mn^{++} и F^{++} [50].

Роль SH-групп. Некоторые соли ртути заметно тормозят аденилатдеаминазную активность, этот эффект легко снимается цистеином [21]. Было известно также, что реагенты, стабилизирующие тиоловые группы (меркаптоэтанол, глутатион, дититреитол), предохраняют препараты фермента от инактивации, как в процессе очистки, так и в ходе хранения при 4° [13].

Аденилатдеаминаза из мышц кролика содержит 32 остатка цистенна на $2,7 \cdot 10^5$ г белка, из них 6 сульфгидрильных групп являются быстореагирующими с п-хлормеркурийбензоатом [51]. Аналогичные результаты получены и для аденилатдеаминазы из грудных мышц цыпленка [52]. В этих работах показано также, что титрование шести наиболее реактивных SH-групп происходит без снижения скорости деаминирования адениловой кислоты [51, 52].

Напротив, инкубация аденилатдеаминазы из скелетных мышц кролика с 6,5-молярным эквивалентом п-хлормеркурийбензоата при-

водида примерно к двукратному увеличению ферментативной активности [22]. На основании анализа скорости реакции сульфгидрильных групп аденилатдезаминазы скелетных мышц крысы с реактивом Элмана (5,5'-дитиобис (2-нитробензойной кислотой)) выделены, по крайней мере, два главных класса SH-групп [34]. К первому классу принадлежит примерно 12 сульфгидрильных групп пассивного фермента, реагирующих с реактивом Элмана, связывание которых не влияет на скорость ферментативной реакции. Модификация N-этилмаленимидом или другими алкилирующими реагентами также не влияет на ферментативную активность [34]. Эти 12 SH-групп, по-видимому, не играют существенной роли в процессе реактивации апофермента ионами цинка. Фактически металл может быть обратимо удален из фермента, обработанного N-этиламидом, так же как и из пассивного, без потери дезаминазной активности. Анализ кинетических кривых дал основание допустить, что этот класс SH-групп, по-видимому, гетерогенен; около 4 SH-групп реагируют с реактивом Элмана гораздо быстрее, чем остальные [34].

Второй класс включает 20 сульфгидрильных групп, которые в пассивном ферменте не реагируют с реактивом Элмана, но могут быть связаны 5,5'-дитиобис (2-нитробензойной кислотой) в условиях удаления из фермента прочно связанного цинка или после денатурации ферментного белка. По мнению авторов, эти 20 тиоловых групп необходимы для восстановления и поддержания структуры фермента [34]. Дополнительные SH-группы, условно включенные во второй класс, могут быть обнаружены в апоферменте после связывания более реакционноспособных тиоловых групп (12 SH-групп первого класса), что видно из следующего: пока не прореагируют 12 тиоловых групп первого класса, не наблюдается уменьшения способности ионов цинка реактивировать апофермент. Эти данные позволили авторам также допустить, что удаление ионов металла вызывает модификацию структуры белка, что в свою очередь обнажает сульфгидрильные группы второго класса и делает их доступным для тестирования. Из сказанного становится очевидным, что присутствие ионов цинка существенно отражается на стабилизации аденилатдезаминазы скелетных мышц крысы [34], это очень напоминает роль цинка в поддержании молекулярной архитектуры ферментных белков в других металлсодержащих ферментах [53].

Ингибиторы. Исследование ингибиторной специфичности фермента показало, что цистеин, аскорбиновая кислота, гидрохинон, перекись водорода, феррицианид не оказывают практически никакого воздействия на активность аденилатдезаминазы мышечной ткани. Арсенит натрия, азид, цианид, гидроксилламин, йодацетат, а также продукты реакции (аммиак и инозиновая кислота) не влияли на активность очищенного фермента из мозга собаки [54]. Заметное тормозящее воздействие на аденилатдезаминазу мозга оказывают ионы фтора, 3-β-Д-рибофуранозиладенин-5'-фосфат [2, 13], а также некоторые

производные бензофурана [55]. Структурные аналоги субстрата—аденозин-2¹(3¹)-монофосфат, аденозин-3¹-монофосфат, аденозин-3¹(5¹)-монофосфат, 3-β-D-рибосуфранозиладенозин-5¹-монофосфат—заметно тормозят аденилатдеаминазную активность печени крысы и скелетных мышц кролика [14, 50].

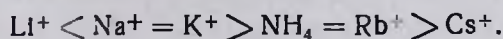
Специфические ингибиторы моноаминоксидазы—трансамин, паргиллин, а также изониазид, гидроксиламин, т. е. реагенты, тормозящие активность диаминоксидазы, не оказывают никакого воздействия ни на аденилатдеаминазную активность скелетной мышцы кролика, ни на индуцированную аденилатдеаминазную активность в препаратах «трансформированной» моноаминоксидазы. Заметный тормозящий эффект оказывают на ферментные препараты алкилирующие и меркантидирующие реагенты в относительно низких концентрациях [56, 57].

Таблица 1

Действие ингибиторов на препараты аденилатдеаминазы
и «трансформированной» моноаминоксидазы

Ингибиторы	Концентрация, мМ	Скорость реакции нмоль—NH ₃ /мг белка/мин	
		«трансформированная» MAO	деаминаза
N-метил-N-бензилпропиламин-HCL (паргиллин)	0,1	94±4	143±3
транс-2-фенилциклопропиламин-1/2 H ₂ SO ₄ (трансамин)	0,001	92±5	152±3
гидразид изоникотиновой кислоты (изониазид)	0,1	21±1,3	139±4
гидроксиламин-HCL	0,1	30±3	148±2
n-хмб	0,01	48±3	96±2
N-этилмаленимид	0,1	51±6	82±3
—		109±3	157±7

Молекулярные механизмы регуляции аденилатдеаминазной активности. Влияние ионов одновалентных металлов на активность аденилатдеаминазы скелетных мышц носит аллостерический характер [41], и по эффективности воздействия на аденилатдеаминазу эти ионы можно расположить в следующем ряду:



Для аденилатдеаминазы мозга показано [13], что активность фермента регулируется АТФ, которая повышает кажущееся сродство фермента к субстрату без изменения максимальной скорости реакции. Ионы некоторых щелочных металлов, в частности ионы лития, также обладают подобным эффектом. Кажущееся сродство фермента к АТФ возрастает при увеличении концентрации субстрата или ионов лития. Для объяснения кинетических свойств регулируемых ферментов были предложены различные модели [58—61]. Эти модели имеют в виду

либо изменение уровня агрегации субъединиц, их расположение, изменение конформации, либо различные комбинации этих феноменов. Результаты исследований Ловенштейна и сотр. [13], полученные при изучении каталитических свойств аденилатдезаминазы мозга теленка под воздействием ионов щелочных металлов и АТФ, трактуются авторами как частный случай указанных моделей.

Анализ кривых сигмоидального типа, указывающих на наличие кооперативного взаимодействия между различными субъединицами фермента с субстратом, дал основание допустить возможность наличия по крайней мере четырех активных центров, способных связать субстрат [13]. Правильность интерпретации полученных результатов может быть проверена лишь после выяснения молекулярной архитектуры фермента, ибо известно, что подобные теоретические допущения не всегда реализуются в эксперименте, как это имело место, например, в случае с изоцитратдегидрогеназой из *Neurospora* [62].

Рассмотрение каталитических и физико-химических свойств аденилатдезаминазы мозговой ткани позволило допустить возможность существования этого фермента в виде двух форм [13].

Первая форма—неактивная, в которой активные центры фермента не доступны для субстрата, вторая—активная форма, в которой активные центры свободно воспринимают субстрат. Активная форма фермента может быть стабилизирована тремя путями: субстратом, активатором или ионами щелочных металлов. В соответствии с этой моделью аденилатдезаминаза преимущественно находится в неактивной форме, если концентрация субстрата меньше 5 мМ и в инкубационной среде отсутствуют ионы щелочных металлов или АТФ. При повышении концентрации субстрата или наличии АТФ или ионов щелочных металлов равновесие смещается от неактивной формы к активной, насыщение активных центров АМФ предотвращает возврат к неактивной форме [13]. Эта простая модель, по мнению авторов, показывает, как может происходить кооперативное взаимодействие, хотя и не исключает другие пути для достижения подобного эффекта. Согласно этой модели, молекула АТФ соединяется со специфическим активным участком в каждой молекуле субъединицы фермента, и тем самым стабилизируется активное расположение субъединиц. Внесение в инкубационную среду АТФ не оказывает никакого эффекта на рН оптимум, что указывает на то, что при присоединении к ферменту АТФ не затрагивает заряженные участки активных центров [13]. Эффект ионов щелочных металлов объясняется нарушением ионных взаимосвязей между субъединицами, находящимися в неактивной форме. Специфичность эффекта ионов щелочных металлов является необычной. Наибольший активирующий эффект на аденилатдезаминазу мозговой ткани оказывают ионы лития, что, по мнению авторов, может быть результатом наибольшего соответствия этого иона отрицательно заряженным участкам фермента [13]. Ионы натрия и калия активируют фермент в два раза меньше, чем ионы лития, а ионы аммония не оказыва-

ют практически никакого воздействия на ферментативную активность [13]. В отличие от АТФ ионы лития не предохраняют фермент от тепловой инактивации, а ионы лития в концентрации до 0,2 М не препятствуют протекторному эффекту АТФ [13].

Эти данные Ловенштейна и соотр. не согласуются с ранее полученными результатами изучения влияния АТФ и ионов щелочных металлов на аденилатдезаминазу из мозга кролика [63].

Препараты аденилатдезаминазы, выделенные из мозговой ткани кролика, в значительной степени активируются АТФ в концентрации 2 мМ, однако концентрация нуклеотида не оказывает активирующего воздействия на фермент, если концентрация субстрата достаточно высокая—5 мМ. Для фермента из мозга кролика в отличие от препаратов фермента из мозга теленка [13] ионы натрия являются наилучшими активаторами аденилатдезаминазы в присутствии в инкубационной среде АТФ и не оказывают сколько-нибудь заметного влияния в его отсутствие [63]. Это несоответствие полученных данных является, по-видимому, либо результатом различной степени очистки ферментативных препаратов, либо допустимым отклонением для различных видов животных.

Интересные взаимоотношения обнаружены при исследовании активности аденилатдезаминаз из ферментных элементов крови различных видов животных в зависимости от наличия или отсутствия в инкубационной среде ионов металлов или нуклеотид трифосфатов.

Показано, что аденилатдезаминаза, выделенная из эритроцитов крови цыпленка, активируется или АТФ, или ионами щелочных металлов [8], в то время как препараты фермента, полученные из эритроцитов крови человека, не активируются в присутствии только АТФ [64]. Ионы натрия активируют аденилатдезаминазу из эритроцитов крови человека и в отсутствие АТФ, однако ионы других щелочных металлов эффективны только в присутствии АТФ [64]. Ионы щелочных металлов не оказывают никакого воздействия на активность аденилатдезаминаз, полученных из эритроцитов крови кошек и собак ни в присутствии, ни в отсутствие АТФ [64]. В отличие от препаратов фермента, полученных из других биологических объектов, ГТФ является заметным активатором аденилатдезаминазы из эритроцитов крови цыпленка [8].

Важную роль играют нуклеотиды и в регуляции катаболизма адениловой кислоты в сердечной мышце [64—67]. В этой ткани возможны два основных пути распада адениловой кислоты. Первый—путь превращений, который реализуется в отсутствие нуклеотид фосфатов, катализируется аденилатфосфатазой, отщепляющей от адениловой кислоты остаток фосфорной кислоты с образованием аденозина. Скорость этой реакции превышает примерно в 16 раз скорость деаминаирования адениловой кислоты [65]. Второй путь связан с наличием АТФ. В присутствии избытка АТФ адениловая кислота катаболизируется путем деаминаирования. Скорость образования инозиновой кислоты в таких

пробах в три раза превышает скорость дефосфорилирования с образованием аденозина [65]. Аденозин расширяет коронарные сосуды и участвует в ауторегуляции коронарного кровообращения [66].

Внутриклеточная концентрация АТФ в сердечной мышце в норме равна примерно 11 мМ [68]. При ряде патологических состояний, сопровождающихся гипоксией, уровень содержания АТФ в мышце сердца снижается на 20% [69]. Этого вполне достаточно, чтобы в катаболизме адениловой кислоты начал преобладать путь образования аденозина, а не инозиновой кислоты. Увеличение концентрации аденозина приводит к изменениям условий коронарного кровотока. Следует отметить, что уровень аденозиндеаминазной активности в сердечной мышце постоянен и не изменяется при различных патологических состояниях [70].

Удивительными оказались результаты сравнения аденилатдеаминазной активности с активностью глутаминатдегидрогеназы в различных органах и тканях [71]. Аденилатдеаминаза и глутаматдегидрогеназа катализируют реакции, в результате которых освобождаются аммиак от аденилата и глутамата, соответственно. Оба фермента активируются аденилсвыми нуклеотидами и тормозятся гуаниловыми нуклеотидами. Близки или совпадают свойства этих ферментов и в отношении ионов металлов [71]. Принципиально разнятся они в отношении к ортофосфату. Если ортофосфат тормозит активность аденилатдеаминазы [15, 52], то глутаматдегидрогеназа заметно активируется [72]. Интересно также, что существует обратная зависимость между активностью этих ферментов: в тех органах, где наблюдается максимальная активность аденилатдеаминазы, глутаматдегидрогеназная активность минимальна и наоборот [71].

По-видимому, существует определенная взаимосвязь между АМФ-аминогидролазой и моноаминоксидазой в печеночной ткани. Обработка окислителями или реагентами, разобщающими тканевое дыхание, и окислительное фосфорилирование высокоочищенных препаратов митохондриальной моноаминоксидазы приводит к резкому падению исходной активности и индуцированию отсутствующей в нативном ферменте аденилатдеаминазной активности [73, 74].

Модификация каталитических свойств препаратов моноаминоксидазы обратима под воздействием восстановителей. АМФ-аминогидролазная активность, индуцируемая в обработанной моноаминоксидазе, существенно отличается по ряду каталитических и физико-химических свойств от истинной АМФ-аминогидролазы [57, 74—76].

О возможной взаимосвязи между моноаминоксидазой и аденилатдеаминазой говорят данные о стимулировании парентеральным введением серотонина структурно связанной АМФ-деаминазы митохондрий печени крысы, свойства которой существенно отличались от растворимого фермента [77].

Предварительные данные позволяют допустить наличие связи между АМФ-аминогидролазой и глутаминазной активностью скелетных

Таблица 2

Модификация высокочищенных препаратов моноаминоксидазы.
содержание тиоловых групп

Обработка фермента	Скорость реакции, нмоль NH_2 /мг белка/мин		Содержание тиоловых групп, по Элману
	активность по тирамину	активность по АМФ	
—	1141 $\pm$ 23	0	8
Окисленная олеиновая кислота	120 $\pm$ 12	118 $\pm$ 3	3
Окисленный глутатион	536 $\pm$ 31	129 $\pm$ 5	4
Диштрофенол	201 $\pm$ 7	70 $\pm$ 3	4
n-дихлорэтиламин-фенилуксусная кислота	216 $\pm$ 18	86 $\pm$ 2	4
Ротенон	383 $\pm$ 10	80 $\pm$ 7	—

мышц кролика [78]. Установлено образование фермент-ферментного комплекса между АМФ-аминогидролазой и гексокиназой при участии типовых групп гексокиназы, получены интересные результаты, свидетельствующие о наличии на поверхности аденилатдеаминаз отдельных контактных участков для АТФ, гексокиназы, глюкозо-6-фосфата [79, 80].

Представленный материал не позволяет однозначно трактовать функциональную значимость аденилатдеаминаз, очевидно, что дальнейшее изучение этого фермента на молекулярном уровне представляет большой общеприродный интерес.

Институт экспериментальной биологии АН АрмССР

Поступило 15.VIII 1977 г.

ժ. Ի. ՀԱՆՈՐԱՆ

ԱՄՖ-ԱՄԻՆԱՀԻԴՐՈՒԱԶՆԵՐԸ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Հոդվածում դասակարգված են վերջին տարիներս գրականության մեջ
Էղած բարդ կարգավորման ենթարկվող ԱՄՖ-ամինահիդրոլազներ-ալլոստե-
րիկ ֆերմենտների վերաբերյալ տվյալները: Նկարագրվում են այն գործոն-
ները, որոնք էական դեր են կատարում ֆերմենտների ակտիվության կարգա-
վորման մեջ (նուկլեոտիդներ, կենսաոչորգանական իոններ): Մասնագիտա-
կան գրականության տվյալների հիման վրա փորձ է արվում ներկայացնել
կատալիտիկ գործողության մոլեկուլյար մեխանիզմը:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Rett A. E. Anal. Biochem., 1, 151, 1970.
2. Фердман Д. Л. Укр. биохим. журнал, 25, 399, 1953.
3. Makarewicz W., Mackowiak E, Acta Biochem. Pol., 18, 135, 1971.
4. Рыкина Т. И. Биохимия, 24, 556, 1959.
5. Фердман Д. Л., Нечипоренко З. Ю. Укр. биохим. журнал, 42, 155, 1970.

6. Manery I. F., Riordan I. R., Boegman R. I. *Federat. Proc.*, 26, 591, 1967.
7. Dunkley C. R., Manery I. F., Dryner E. E. *J. Cell. Comp. Physiol.*, 68, 26, 1975.
8. Kawamura Y. *J. Biochem.*, 72, 21, 1972.
9. Rao S. N., Hara L., Askari A. *Biochim. Biophys. Acta*, 151, 651, 1968.
10. Askari A., Franklin J. I. *Biochim. Biophys. Acta*, 110, 162, 1965.
11. Klyge H., Wleczorek V., Bräutlich H. *Acta Biol. Med. Germ.*, 21, 139, 1968.
12. Kalckar H. M. *J. Biol. Chem.*, 167, 429, 1947.
13. Setlow B. and Lowenstein J. M. *J. Biol. Chem.*, 242, 617, 1957.
14. Smith L. D. and Ktzer D. E. *Biochim. Biophys. Acta*, 191, 415, 1969.
15. Lee J. and Wang M. *J. Biol. Chem.*, 243, 2260, 1968.
16. Ktzer D. E., Smith L. D. and Howell B. A. *Biochem. Pharmacol.*, 19, 1263, 1970.
17. Пеккель В. А., Акопян Ж. И. *Вопр. мед. химии*, 21, 113, 1975.
18. Бейтс Р. *Определение pH. Теория и практика*, 179, Л., 1972.
19. Smiley K. L., Berry A. J. and Suelter C. H. *J. Biol. Chem.*, 242, 5202, 1967.
20. Lee Y. *J. Biol. Chem.*, 227, 987, 1957.
21. Lee Y. *J. Biol. Chem.*, 227, 999, 1957.
22. Tomosawa Y. and Wofenden R. *Biochemistry*, 9, 3400, 1970.
23. Нечипоренко Э. Ю., Фердман Д. Л. *ДАН СССР*, 92, 803, 1953.
24. Нечипоренко Э. Ю. *Укр. биохим. журн.*, 25, 62, 1950.
25. Gergely J. *Federat. Proc.*, 10, 188, 1951.
26. Humphrey G. F. and Webster H. L. *Australian J. Exp. Biol. and Med. Sci.*, 29, 17, 1951.
27. Энгельгард В. А., Любимова М. Н., Венкстерн Т. В., Тимофеева М. Ю. и Бобская У. Б. *ДАН СССР*, 85, 397, 1952.
28. Lee Y. *Federat. Proc.*, 15, 298, 1956.
29. Locker R. H. *Biochim. Biophys. Acta*, 20, 514, 1956.
30. Boosman A., Sammons D. and Chilson O. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 45, 1025, 1971.
31. Ellis K. J., Kuntz K. and Starlevant J. M. *J. Biol. Chem.*, 243, 6531, 1971.
32. Lee Y. *J. Biol. Chem.*, 227, 933, 1957.
33. Maehly A. C., in S. P. Colowick, N. O. Kaplan (Eds.). *Methods in Enzymology*, vol. 2, p. 808, Academic Press, Inc., N. Y., 1955.
34. Ronca-Testoni S., Raggl A. and Ronca G. *Biochim. Biophys. Acta*, 198, 101, 1970.
35. Ogasawara N., Yoshino M. and Kawamura Y. *Biochim. Biophys. Acta*, 253, 680, 1972.
36. Raggl A., Ranlert M., Ronca G. and Ronca C. A. *Biochim. Biophys. Acta*, 271, 102, 1972.
37. Ashman L. K. and Atwell J. L. *Biochim. Biophys. Acta*, 258, 618, 1972.
38. O'Driscoll D., Roring N., Ross C. S. *Biochem. Soc. Trans.*, 4, 928, 1976.
39. Mackenzie R. E. and Rabinovitz J. E. *J. Biol. Chem.*, 246, 3731, 1971.
40. Ogasawara N., Goto H., Watanabe T. *Biochim. et Biophys. Acta*, 403, 530, 1975.
41. Smiley K. L., Berry J. A., Suelter C. H. *J. Biol. Chem.*, 242, 1980, 1967.
42. Ronca-Testoni S., Ronca G. *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 48, 13, 1972.
43. Ronca-Testoni S., Ranlert M., Raggl A., Ronca G. *Ital. J. Biochem.*, 19, 262, 1970.
44. Maguire M. H., Atkinson M. R., Tonkes P. G. *Europ. J. Biochem.*, 34, 527, 1973.
45. Turner D. H., Turner J. F. *Biochem.*, 79, 143, 1961.
46. Hurwitz J., Heppel L., Horecker B. J. *J. Biol. Chem.*, 226, 525, 1957.
47. Zielke C. L. and Suelter C. H. *J. Biol. Chem.*, 246, 1313, 1971.
48. Doré M., Terrine C. C. r. *Acad. Sci.*, D 275, 1503, 1972.
49. Raggl A., Ranlert M., Taponeco G., Ronca-Testoni S., Ronca G. and Rossi C. A. *Fed. Eur. Biochem. Soc. Lett.*, 10, 101, 1970.
50. Zielke C. L., Suelter C. H. *J. Biol. Chem.*, 246, 2179, 1971.
51. Wofenden R., Tomosawa Y. and Bamman B. *Biochemistry*, 7, 3965, 1968.
52. Sammons D. W., Henry H. and Chilson O. P. *J. Biol. Chem.*, 245, 2109,

53. *Vallee B. L. and Wacker W. E. in Neurath H. The Proteins, 5, Academic Press, 1970, p. 33.*
54. *Weil-Malherbe H., Green R. Biochem. Soc., 61, 218, 1955.*
55. *Terno N., Tern S. J. Japan Biochem. Soc., 42, 286, 1970.*
56. *Akopyan Z. I., Kulygina A. A., Terseman I. I. and Gorkin V. Z. Biochim. Biophys. Acta, 289, 44, 1972.*
57. *Akopyan Z. I., Stesina L. N. and Gorkin V. Z. J. Biol. Chem., 246, 4610, 1971.*
58. *Gehart J. C. and Pardee A. B. J. Biol. Chem., 237, 891, 1962.*
59. *Monod J., Changeux J. and Jacob F. J. Mol. Biol., 6, 306, 1963.*
60. *Monod J., Wyman J. and Changeux J. J. Mol. Biol., 12, 88, 1965.*
61. *Koshland D. E., Nemeihy G. and Filmer D. Biochemistry, 5, 365, 1963.*
62. *Sanwal B. D. and Cook R. A. Biochemistry, 5, 896, 1966.*
63. *Askari A. Nature, 202, 185, 1964.*
64. *Baer H. P., Drummond G. I., Duncan E. L. Mol. Pharmacol., 2, 67, 1966.*
65. *Burger R. and Lowenstein J. M. J. Biol. Chem., 242, 5281, 1967.*
66. *Nakatsu K., Drummond G. I. Amer. J. Physiol., 223, 1119, 1972.*
67. *Chung L., Bridger W. FEBS Lett., 64, 338, 1976.*
68. *Williamson J. R. J. Biol. Chem., 240, 2308, 1965.*
69. *Williamson J. R. Biol. Chem., 241, 5206, 1966.*
70. *Gerlach E., Deuticke B., Dreisbach R. Naturwissenschaften, 50, 228, 1963.*
71. *Lowenstein J. M. Physiol Rev., 52, 332, 1972.*
72. *Prisco G., Strecker J. H. Europ. J. Biochem., 5, 507, 1969.*
73. *Акопян Ж. И., Горкин В. З. Успехи совр. биол., 76, 54, 1973.*
74. *Горкин В. З., Акопян Ж. И. Радиационная биохимия, под ред. Е. Ф. Романцева, М., 164, 1975.*
75. *Akopyan Z. I., Veryovkina I. V., Levyant M. I. et al. Inter. J. Prot. Res., 3, 111, 1971.*
76. *Mohammed M., Abdel Samed, Akopyan Z. I., Veryovkina I. V. et al. Biochem-Pharmacol., 20, 2571, 1971.*
77. *Гриднева Л. И., Суборов Н. П., Горкин В. З. Вспр. мед. химии, 22, 245, 1976.*
78. *Akopyan Z. I., Terzeman I. I., Abstr. 9th Intern. Biochem. Congr., 20, 43, Stockholm, 1973.*
79. *Buntattan H. Ch., Haroutunian A. V. J. Neurochem., 18, 859, 1971.*
80. *Haroutunian A. V., Buntattan H. Ch. J. Neurochem., 22, 183, 1974.*