

КРАТКИЕ НАУЧНЫЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 615.5

Э. Х. БАРСЕГЯН, Ф. Ц. НИКОГОСЯН, М. А. ДАВТЯН

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗОЭНЗИМОВ
АРГИНАЗЫ ПЕЧЕНИ ЛЯГУШЕК *RANA RIDIBUNDA*
В ОНТОГЕНЕЗЕ

Предыдущими нашими исследованиями было установлено, что при фракционировании экстрактов печени лягушек *Rana ridibunda* в раннем периоде, до метаморфоза (до 28-й стадии), проявляются 3 изоэнзима аргиназы, из которых II быстро исчезает, III, постепенно ослабевающая, в период метаморфоза полностью исчезает, а I изоэнзим, фильтрующийся с высокомолекулярными белками, сохраняется на всех стадиях и резко индуцируется при метаморфозе. Было сделано заключение, что при метаморфозе, когда происходит переход от аммонотелизма к уреотелизму, в механизме становления уреотелизма существенную роль играет индукция I изоэнзима [1]. С целью внесения ясности в вопрос о природе обнаруженных изоэнзимов аргиназы (уреотелический или неуреотелический) нами исследовались некоторые кинетические свойства их (K_m , K_i), степень активирования ионами двухвалентных металлов, молекулярный вес. При этом мы исходили из тех соображений, что, согласно ряду литературных данных, уреотелическая аргиназа по сравнению с неуреотелической имеет более низкие значения K_m и молекулярный вес порядка 120.000 [2].

Материал и методика. Классификацию этапов развития лягушек, определение ферментативной активности, фракционирование методом гель-фильтрации проводили по ранее описанному методу [1].

При фракционировании экстрактов печени методом ионообменной хроматографии использовали колонки с ДЭАЭ-целлюлозой (колонка 1,5×35 см, уравнивание и элюция—0,005 М трис-HCl-буфером, pH 7.4, скорость элюции—48 мл/час, объем фракции—4 мл). Величину K_m по отношению к L-аргинину определяли графическим методом по Лайнуверу и Берку, величины K_i —по методу Диксона [3].

Молекулярный вес изоферментов определяли методом гель-фильтрации на основании построенного элюционного графика белков с известными молекулярными весами.

Результаты и обсуждение. Полученные результаты (таблица) показывают, что K_m для аргиназы I до метаморфоза по отношению к L-аргинину равняется 6—10 мМ, что характерно для уреотелической аргиназы [2], тогда как для аргиназы III—70—100 мМ. Кроме того, аргиназа I конкурентно ингибируется орнитинном и лизином и значительно активируется ионами Mn, Co, Ni, а аргиназа III к указанным регуляторам индифферентна. Молекулярный вес I изоэнзима (100000—

Таблица

Сравнительная характеристика отдельных изоэнзимов аргиназы печени лягушек *R. ridibunda* в онтогенезе

Изоэнзимы	Молекулярный вес	K_m мМ	K_i для орнитина	K_i для лизина	Тип ингибирования	Порядок действия двухвалентных ионов
Аргиназа I (до метаморфоза)	100000—120000	6—10	$0,6 \cdot 10^{-2}$ М	$0,7 \cdot 10^{-2}$ М	конкурентное	Mn > Co > Ni, Fe — индифферентны Mg, Zn — угнетают активность
Аргиназа I (после метаморфоза)	100000—120000	30	$0,4 \cdot 10^{-2}$ М	$0,9 \cdot 10^{-2}$ М	конкурентное	Mn > Co > Ni, Fe — индифферентны Mg, Zn — угнетают активность
Аргиназа III (до метаморфоза)	45000—50000	70—100	не ингибируется	не ингибируется	—	Mn, Co, Ni, Fe — индифферентны Mg, Zn — угнетают активность

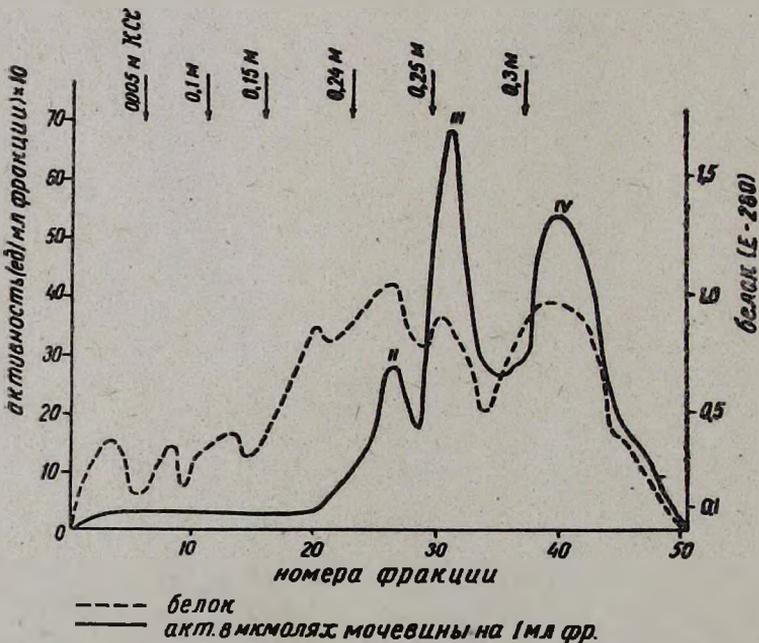


Рис. Фракционирование экстракта печени взрослых лягушек методом ионообменной хроматографии на колонке с ДЭАЭ—целлюлозой.

120000) также характерен для уреотелической аргиназы [2]. Молекулярный вес аргиназы III составляет 45000—50000.

Таким образом, по своим физико-химическим свойствам индуцируемая при метаморфозе аргиназа I сходна с уреотелическим ферментом. Следует, однако, отметить, что обнаруживаемая после метаморфоза индуцированная аргиназа I по отмеченным свойствам несколько отличается от того же изоэнзима до метаморфоза. В этом отношении особенно примечательно повышение значения K_m от 6—10 мМ до метаморфоза до 30 мМ после метаморфоза. Можно предположить, что аргиназа I является гетерогенной, состоящей из различных аргиназ с одинаковым молекулярным весом, количественное соотношение которых меняется при метаморфозе. С целью проверки этого предположения нами проводилось ионообменное хроматографирование аргиназы I (после метаморфоза) на колонке с ДЭАЭ—целлюлозой.

Результаты экспериментов показали, что, действительно, аргиназа I является не гомогенной и состоит из 3 пиков активности, причем до метаморфоза соотношения активностей этих изоэнзимов значительно различаются (рис. 1). После метаморфоза заметному активированию подвергаются II и особенно III пик. По-видимому, II и III изоферменты имеют непосредственное отношение к механизму становления уреотелизма.

Ереванский государственный университет,
кафедра биохимии

Поступило 27.VI 1977 г.

Է. Խ. ԲԱՐՍԵՂՅԱՆ, Յ. Յ. ՆԿՈՂՈՍՅԱՆ, Մ. Ա. ԴԱՎԹՅԱՆ

RANA RIDIBUNDA ԳՈՐՏԻ ԼՅԱՐԴԻ ԱՐԳԻՆԱԶԱՅԻ ԻՉՈՅՆԻՄՄԵՆՏՆԵՐԻ
ՀԱՄԵՄԱՏԱԿԱՆ ՌԻՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ ՕՆՏՈԳԵՆԵԶԻ ԸՆԹԱՑՔՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ս լ մ

Հետազոտվել է հել-ֆիլտրացիայի մեթոդով ստացվող *R. ridibunda* գորտի լյարդի էքստրակտների արգինազայի իզոֆերմենտների մի շարք ֆիզիկա-քիմիական հատկությունները (K_m , K_i ; M_n իոններով ակտիվացման աստիճանը, մոլեկուլյար կշիռը) օնտոգենեզի ընթացքում: Պարզվել է, որ հետազոտվող իզոֆերմենտները էսպես տարբերվում են նշված հատկություններով: Արգինազայի I իզոֆերմենտը, որը ինդուկցիայի է ենթարկվում մետամորֆոզի ընթացքում, III իզոֆերմենտի համեմատությամբ, որը մետամորֆոզի ընթացքում անհայտանում է, ունի K_m -ի ավելի ցածր արժեքներ (6—10 մМ), մոլեկուլյար կշիռը 100—120000 է և մրցակցային արգելակման է ենթարկվում օրնիթինի և լիզինի ազդեցությամբ, ինչպես նաև ակտիվանում է Mn , Co , Ni երկվալենտ իոններով: Նշված հատկություններով I իզոֆերմենտը նման է գրականության մեջ նկարագրված ուրեոթելիկ արգինազային:

ԴէԱէ ցելլուլոզով քրոմատոգրաֆիայի եղանակով ֆրակցիոնացմամբ ցույց է տրվել, որ արգինազայի I իզոֆերմենտը հետերոգեն է և կազմված է

ենթեք զազաթներին, որոնցից վերջին երկուսը առանձնապես են ակտիվացման ենթարկվում մետամորֆոզի ընթացքում: Հավանաբար, այդ ակտիվութունները ուղղակի են առնչվում ուրեթեյիզմի մեխանիզմի ձևավորման հետ մետամորֆոզի ընթացքում:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Բարսեղյան Յ. Խ., Նիկոգոսյան Փ. Ս., Դավթյան Մ. Ա. Биологический журнал Армении, 30, 6, 1977.
2. Mora J., Martuscelli J., Ortiz-Pineda J. Soberon G. Biochem. J. 96, 28—35, 1965.
3. Диксон М., Уэбб Э. Ферменты, М., 1966.