

УДК 577.15

## РОЛЬ N-АЦЕТИЛНЕЙРАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ В ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФАТАЗЫ

Г. Т. АДУНЦ, Л. В. САРКИСЯН, В. О. БАРСЕГЯН, Г. Г. АДУНЦ

Показано, что нейраминная кислота, входящая в структуру молекулы щелочной фосфатазы, не является регулятором каталитической деятельности последней.

Гликопротеиды играют важную роль в организме: с одной стороны, они имеют предохраняющую функцию, с другой—ограничивают процессы всасывания. В обмене гликопротеидов участвует N-ацетилнейраминидаза, которая, отщепляя от гликопротеида N-ацетилнейраминную кислоту, лишает его защитных функций, активируя при этом мембранную проницаемость и повышая процессы всасывания [1].

В настоящее время исследователи располагают данными, свидетельствующими о принадлежности фосфомоноэстераз к гликопротеидам. Одновременно известно, что активность фосфомоноэстераз коррелирует с количеством N-ацетилнейраминной кислоты [2, 3].

Согласно данным ряда авторов, щелочная фосфатаза и N-ацетилнейраминная кислота локализованы в основном в лизосомах и, поскольку щелочная фосфатаза является гликопротеидом, она может служить вторым субстратом для N-ацетилнейраминной кислоты [4—6].

Несмотря на имеющиеся данные о количественных сдвигах N-ацетилнейраминной кислоты в организме, до сих пор нет ясного представления о ее роли в деятельности щелочной фосфатазы. В этом отношении представляет определенный интерес изучение действия различных количеств N-ацетилнейраминной кислоты и N-ацетилнейраминиллактозы на активность щелочной фосфатазы.

*Материал и методика.* Опыты поставлены на гомогенатах, микросомальной фракции, отрезках тонких кишок белых крыс, а также на очищенном ферменте щелочной фосфатазы, выделенной из тонкого кишечника телят (фирма «Calbiochem»). Конечная концентрация N-ацетилнейраминной кислоты и N-ацетилнейраминиллактозы в реакционной смеси варьировала в пределах  $10^{-3}$ — $10^{-6}$  М. Активность щелочной фосфатазы определяли по методу Шлыгина и Михлина [7]. В качестве субстрата использовали пара-нитрофенилфосфат (рН 10,5). Инкубацию проводили в течение 15 мин при 37°. Об активности фермента судили по количеству отщепившегося фенола на г свежей ткани в течение времени инкубации.

Полученный гомогенат и микросомальную фракцию делили на две части: в первой сразу же определяли активность фермента под действием различных концентраций N-ацетилнейраминной кислоты и N-ацетилнейраминиллактозы, во второй—после хранения их в течение суток при 4° в присутствии тех же соединений.

**Результаты и обсуждение.** На рис. 1, 2 приведены сравнительные данные об активности щелочной фосфатазы свежего и храненного гомогенатов и микросомальной фракции под действием N-ацетилнейраминовой кислоты и N-ацетилнейрамиллактозы. Нашими предыдущими исследованиями было показано, что при хранении (в течение 24, 48 и 72 час.) гомогената почек белых крыс активность фермента увеличивается [8, 9].

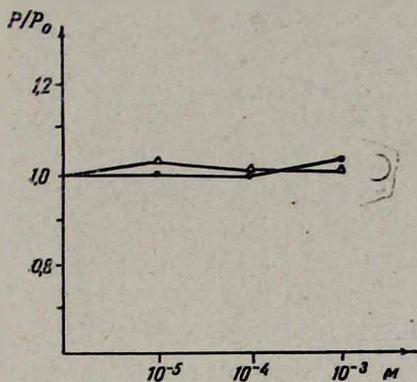


Рис. 1.

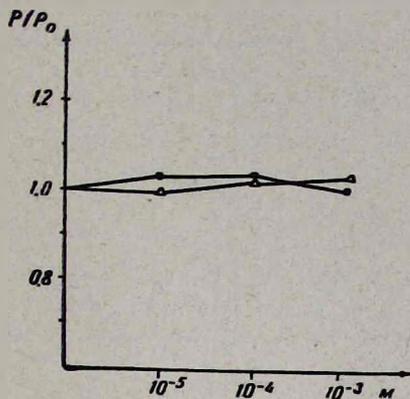


Рис. 2.

Рис. 1. Активность щелочной фосфатазы свежего и храненного гомогенатов тонких кишок белых крыс под действием N-ацетилнейраминовой кислоты.

Рис. 2. Активность щелочной фосфатазы свежего и храненного гомогенатов тонких кишок белых крыс под действием N-ацетилнейрамиллактозы.

● — свежий гомогенат; Δ — храненный гомогенат.

Полученные результаты показали, что в концентрациях  $10^{-3}$  —  $10^{-5}$  М эти соединения не оказывают существенного влияния на активность щелочной фосфатазы как в свежих, так и «постаревших» гомогенатах и микросомальной фракции.

В последующих экспериментах мы задались целью выяснить действие испытанных нами веществ на очищенный фермент щелочной фосфатазы.

Полученные данные свидетельствуют о том, что N-ацетилнейраминовая кислота и N-ацетилнейрамиллактоза не вызывают каких-либо сдвигов в отношении щелочной фосфатазы. Аналогичные результаты были получены относительно щелочной фосфатазы отрезка 12-перстной кишки (рис. 3, а, б).

В литературе имеются сведения о том [10], что в присутствии АТФ происходит присоединение остатка сиаловой кислоты к молекуле щелочной фосфатазы. Для выяснения роли АТФ в механизме участия N-ацетилнейраминовой кислоты и N-ацетилнейрамиллактозы в регуляции активности изучаемого фермента в последующих опытах в реакционную смесь мы добавляли и АТФ в концентрациях  $10^{-4}$  М, предынкубируя пробы в течение 24 час. при температуре  $4^{\circ}$ . Однако полу-

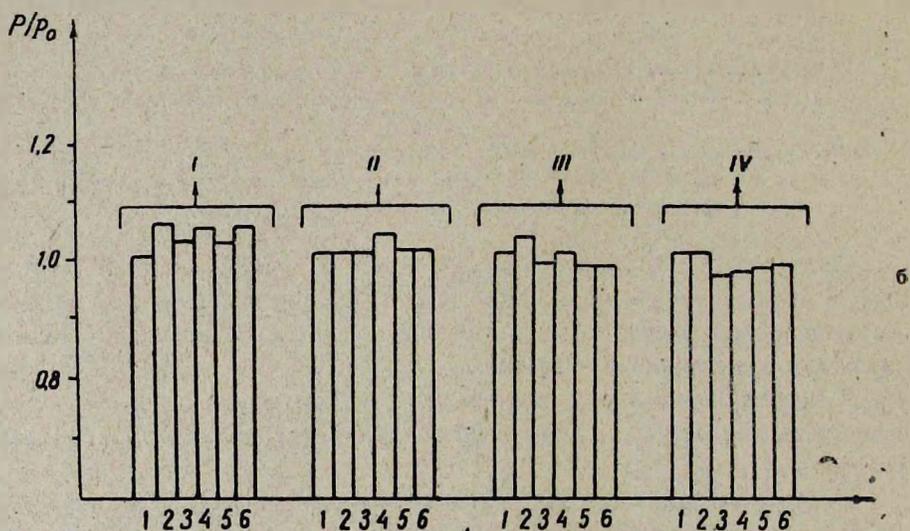
$P/P_0$ 

Рис. 3а, б. Действие некоторых реагентов на активность щелочной фосфатазы микросомальной фракции, гомогенатов, цельной ткани тонких кишок белых крыс и очищенного фермента. За—свежие пробы, Зб—храненные в течение 24 час. I—очищенный фермент, II—микросомальная фракция, III—гомогенат, IV—цельная ткань. 1—норма, 2—N-ацетилнейраминиллактоза,  $10^{-4}$  М, 3—N-ацетилнейраминиллактоза,  $10^{-4}$  М+АТФ  $10^{-4}$  М, 4—АТФ  $10^{-4}$  М, 5—N-ацетилнейраминовая кислота,  $10^{-4}$  М, 6—АТФ  $10^{-4}$  М+N-ацетилнейраминовая кислота,  $10^{-4}$  М.

ченные данные показали, что и в этом случае активность фермента не претерпевает никаких существенных изменений по сравнению с нормой.

Известно, что в микросомальной фракции печени крысы из цитидин-монофосфата N-ацетилнейраминовой кислоты при обработке нейраминидазой происходит активный перенос остатка нейраминовой кислоты на щелочную фосфатазу. Удаление остатка нейраминовой кислоты не меняет кинетическую характеристику щелочной фосфатазы. Эти результаты наводят на мысль о том, что нейраминовая кислота, по-видимому, не является регулятором каталитической деятельности щелочной фосфатазы [11, 12].

Суммируя литературные и полученные нами данные, можно заключить, что несмотря на то, что нейраминовая кислота входит в структуру молекулы щелочной фосфатазы, она не играет какой-либо роли в кинетической характеристике изучаемого фермента. Однако, нам кажется, не исключается возможность, что N-ацетилнейраминовая кислота повышает проницаемость клеточной мембраны и тем самым способствует беспрерывному потоку субстрата к ферменту, обеспечивая деятельность последнего. Следовательно, создается цепь N-ацетилнейраминидаза—щелочная фосфатаза—N-ацетилнейраминовая кислота, концентрации которых коррелируют между собой.

Институт биохимии АН АрмССР

Поступило 4.VII 1977 г.

### N-ԱՑԵՏԻԼՆԵՅՐԱՄԻՆԱԹՔՎԻ ԴԵՐՐԸ ՀԻՄՆԱՅԻՆ ՖՈՍՖԱՏԱԶԱՅԻ ԳՈՐԾՈՒՆԵՈՒԹՅԱՆ ՄԵԶ

Գ. Թ. ԱԴՈՒՆՑ, Լ. Վ. ՍԱՐԳՍՅԱՆ, Վ. Ո. ԲԱՐՍԵԳՅԱՆ, Գ. Գ. ԱԴՈՒՆՑ

Ուսումնասիրվել է հիմնային ֆոսֆատազայի ակտիվությունը սպիտակ առնետների բարակ աղիների համազենատներում և նրանց առանձին կտորներում, ինչպես նաև՝ բարակ աղիներից անջատված մաքուր ֆերմենտում N-ացետիլնեյրամինաթթվի ազդեցության ներքո:

N-ացետիլնեյրամինաթթուն հանդիսանում է ֆոսֆոմոնոէսթերազների կառուցվածքի բաղադրիչ մասը: Տարբեր օրգաններից անջատված ֆոսֆոմոնոէսթերազները տարբեր չափով են պարունակում N-ացետիլնեյրամինաթթու, որով և պայմանավորվում է նրա իզոենզիմային սպեկտրը:

Ուսումնասիրությունից պարզվել է, որ N-ացետիլնեյրամինաթթուն և N-ացետիլնեյրամինիլլակտոզան փոփոխություն չեն մտցնում հիմնային ֆոսֆատազայի կատալիտիկ բնույթի մեջ:

### THE ROLE OF N-ACETYLNEURAMINIC ACID IN THE ACTIVITY OF ALKALINE PHOSPHATASE

G. T. ADUNTS, L. V. SARKISIAN, V. O. BARSEGHIAN, G. G. ADUNTS

It has been shown that neuraminic acid, that enters the [alkaline phosphatase structure, is not the regulator of catalytic activity of the latter.

## Л И Т Е Р А Т У Р А

1. *Gottschalk A.* The Chemistry and Biology of Sialic Acids and Related Substances, Cambridge, 1960.
2. *Ghosh K, Cox P., Winzler R. J.* Biochim. Biophys. Acta, 343, 3, 638—640, 1974.
3. *Sakoyama Y.* Phys. Chem. Biol., 20, 2, 107—110, 1976.
4. *Tettamanti Y., Zambotti V.* Enzymologia, 35, 61, 1968.
5. *Leibovitz L., Gatt S.* Biochim. Biophys. Acta, 152, 136, 1968.
6. *Mahadevan S., Nduaguba J. C., Tappel A. L.* J. Biol. chem., 242, 4409, 1967.
7. *Шлыгин Г. К., Михлин С. Я.* Вопросы мед. химии, 1, 461, 1955.
8. *Адуң Г. Т.* Вопросы биохимии мозга, Ереван, 2, 139, 1961.
9. *Адуң Г. Т., Саркисян Л. В.* Изв. АН АрмССР, 15, 7, 1962.
10. *Yamakawa T., Yokoyama S., Handa N.* J. Biochem., 53, 28, 1963.
11. *Robinson J., Pilrco J.* Nature, 204, 4957, 472—473, 1964.
12. *Saraswathi S., Bahawat B.* Biochim. Biophys. Acta, 212, 1, 170—172, 1970.