ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՍՍՀ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԿԱԴԵՄԻԱ: ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ՀԱՆԴԵՍ
АКАДЕМИЯ НАУК АРМЯНСКОЙ ССР. БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ АРМЕНИИ
Հատոր XXXI № 2, 1978 Том XXXI

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 577.15.02

УЧАСТИЕ ОДНОВАЛЕНТНЫХ КАТИОНОВ В РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ЛИОФИЛИЗИРОВАННОЙ КРЕАТИНКИНАЗЫ

З. С. МКРТЧЯН, Ж. И. АКОПЯН

Установлено, что ионы одновалентных металлов принимают участие в регуляции активности кристаллического препарата креатинкиназы из скелетных мышц кролика.

Ранее нами была показана возможность афинной модификации активности креатинкиназы (АТФ:креатинфосфотрансфераза 2.7.3.2) скелетных мышц кролика алкилирующим гамма-производным АТФ [1]. В настоящем сообщении представлены новые экспериментальные данные о влиянии ряда неорганических одновалентных ионов металлов на активность этого фермента.

Материал и методика. Опыты были проведены на лиофилизированном препарате креатинкиназы, полученном из скелетных мышц кролика, фирмы «Реанал» (ВНР). Гомогенность препарата проверяли электрофоретически на полиакриламидном геле. Активность обратной реакции определяли по модифицированному методу Эннора и Розенберга [2], основанному на определении содержания образующегося креатина. Одновалентные ионы (Na^+, K^+, Li^+, Rb^+ и Cs^+) использовали в виде хлористых солей после перекристаллизации особо чистых коммерческих препаратов, а ионы аммония—в виде сернистой соли.

Результаты и обсуждение. В первой серии опытов была исследована степень связывания фермента катионами калия, лития и рубидия. На рис. 1 представлены данные о влиянии этих ионов на активность креатинкиназы скелетных мышц кролика. Видно, что степень связывания фермента катионами калия, лития и рубидия примерно однозначна и соответствует приблизительно 50% исходной величины. Рис. 2 отражает данные о влиянии второй группы одновалентных ионов на активность фермента, где тормозящее действие катионов натрия и цезия мало чем отличается от связывающего эффекта калия, лития и рубидия.

Однако при исследовании действия катионов аммония в тех же концентрациях и при тех же условиях опыта наблюдалось торможение ферментативной активности на 100%.

Эти результаты представляют особый интерес, так как экспериментальные данные о возможности связывания креатинкиназы одновалент-

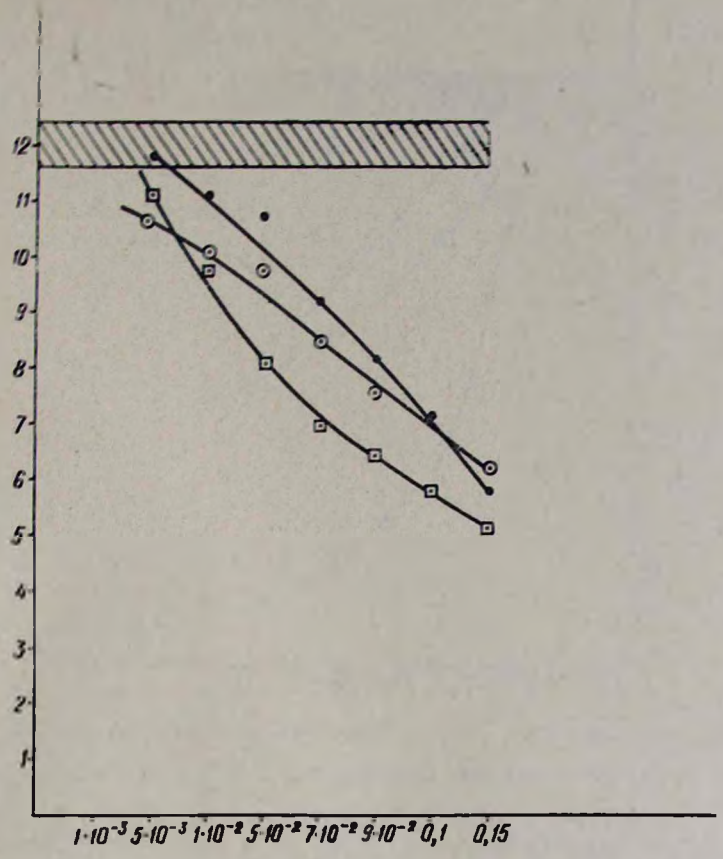

Рис. 1. Влияние одновалентных катионов K+, Li+ и Rb+ на креатинкиназную активность. По оси ординат—активность креатинкиназы $\frac{\text{мкмоль}}{\text{мг мин}}$; по оси абсцисс—молярные концентрации солей. Реакционная среда для определения активности содержала: $1 \cdot 10^{-6}$ М кристаллического фермента; $7{,}5 \cdot 10^{-3}$ М М $(CH_3COO)_2$; $1{,}26 \cdot 10^{-3}$ М АДФ; $2{,}3 \cdot 10^{-3}$ М КФ. ////// — исходная активность, ●—●—●— — K+, □—□—□— —Li+, ⊙—⊙—⊙ — Rb+.

ными катионами получены впервые. В литературе есть сведения относительно неконкурентного ингибирования АДФ и креатина ионами фосфора, хлора и сульфата. В наших опытах намеренно использовались только хлористые соли, чтобы на фоне одного и того же аниона выявить действие катионов [3, 4]. По-видимому, эти анионы, в первую очередь хлор, связываются с той группой активного центра фермента, которая акцептирует переносимую фосфорильную группу. По некоторым данным, ионы хлора являются неконкурентными ингибиторами креатинкиназы всех четырех субстратов реакции [5]. Примечателен также тот факт, что в отличие от действия двухвалентных катионов, в частности магния, марганца и кальция, которые являются мощными ак-

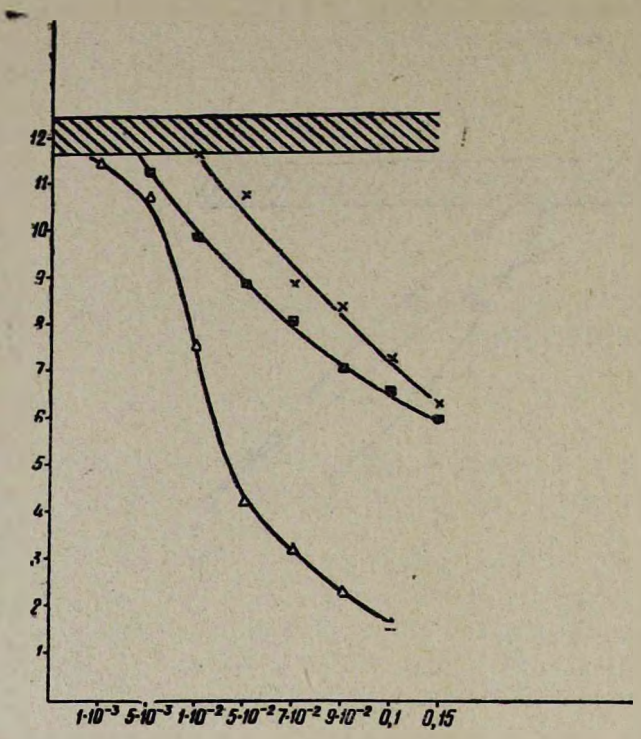

Рис. 2. Влияние Na+, NH_4^+ и Cs+ на кристаллическую креатинкиназу. По оси ординат—активность креатинкиназы $\frac{\text{мкмоль}}{\text{мг мин}}$; по оси абсцисс—молярные концентрации солей. Реакционная среда для определения ферментативной активности содержала: $1 \cdot 10^{-6}$ М кристаллического фермента; $7{,}5 \cdot 10^{-3}$ М М $(CH_3COO)_2$; $1{,}26 \cdot 10^{-3}$ М АДФ; $2{,}3 \cdot 10^{-3}$ М КФ. ////// — исходная активность, ×—×—× Na+, △—△—△— NH_4^+ ■—■—■— Cs+.

тиваторами ферментативной реакции, как прямой, так и обратной [6, 7], все исследованные нами ионы одновалентных металлов значительно тормозят активность фермента, а катионы аммония—на 100%. По-видимому, существует определенный антагонизм в регулирующем воздействии одно- и двухвалентных ионов.

Институт экспериментальной биологии АН АрмССР Поступило 24.VIII 1977 г.

ՄՈՆՈՎԱԼԵՆՏ ԿԱՏԻՈՆՆԵՐԻ ՄԱՍՆԱԿՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԲՅՈՒՐԵՂԱՅԻՆ ԿՐԵԱՏԻՆԿԻՆԱԶԻ ԿԱՐԳԱՎՈՐՄԱՆ ՄԵՋ

Ջ. Ս. ՄԿՐՏՉՅԱՆ, Ժ. Ի. ՀԱԿՈԲՅԱՆ

Ներկայացվում են փորձառական նոր տվյալներ կրեատինկինազի ակտիվության վրա՝ մոնովալենտ մետաղների իոնների ազդեցության վերաբերյալ։ Ցույց է տրվում այդ իոնների արգելակող ազդեցությունը բյուրեղային ֆերմենտի ակտիվության վրա։

ЛИТЕРАТУРА

1. *Газарянц М. Г., Мкртчян З. С., Нерсесова Л. С., Кнорре Д. Г., Акопян Ж. И.* ДАН АрмССР, 66, 4, 1978.
2. *Ennor A. H., Rosenberg H.* Biochem. J., 57, 203, 1954.
3. *Morrison J. F., O'Sullivan W. J.* Biochem. J., 94, 221, 235, 1965.
4. *Kumudavalli J., Moreland B. H., Watts D. C.* Biochem. J., 117, 573—583, 1970.
5. *Heyde E., Morrison J. F.* Biochim. Biophys. Acta, 212, 258—299, 1970.
6. *Четверикова Е. П.* Успехи биологической химии, 9, 107, 1969.
7. *Kuby S. A., Noltman E. A.* In. „The enzymes", 6, 515, 1962.