

ИЗОФЕРМЕНТЫ АРГИНАЗЫ ПЕЧЕНИ ЛЯГУШЕК  
RANA RIDIBUNDA

Э. Х. БАРСЕГЯН, Ф. Ц. НИКОГОСЯН, М. Б. МЕСРОПЯН

При повторном фракционировании изофермента I аргиназы печени лягушек *R. ridibunda*, фильтрующегося с высокомолекулярными белками, методом ионообменной хроматографии обнаружены 3 изофермента аргиназы (IA, IB, IC), отличающиеся некоторыми кинетическими свойствами, что служит доказательством наличия различных механизмов регуляции активности двух форм аргиназы.

Предыдущими нашими исследованиями установлено, что в процессе развития лягушек *R. ridibunda* изоферментный спектр аргиназы как в количественном, так и в качественном отношении подвергается существенным изменениям. Одни изоферменты активируются (возможно, индуцируются), другие инактивируются (возможно, репрессируются). Особенно интересно резкое активирование при метаморфозе изофермента I, фильтрующегося при гель-фильтрации на сефадексе G-200 с высокомолекулярными белками [1].

В свете положения о существовании в природе двух молекулярных форм аргиназы (уреотелической и неуреотелической) [3] допускается, что до метаморфоза у амфибий проявляется неуреотелический фермент и при метаморфозе индуцируется уреотелическая аргиназа, которая начинает функционировать наряду с возможно существующей неуреотелической аргиназой, и, дополняя ферменты биосинтеза аргинина, обуславливает возникновение орнитинового цикла. Было выдвинуто предположение, что аргиназа I, обнаруживаемая после метаморфоза, либо полностью состоит из уреотелического фермента, либо содержит также неуреотелические изоферменты, не разделяющиеся гель-фильтрацией. Данные ионообменной хроматографии показали, что действительно аргиназа I является не гомогенной и имеет 3 пика активности (IA, IB, IC). После метаморфоза заметно активировались изоферменты IB и IC [12].

С целью выяснения природы обнаруженных изоферментов аргиназы и их участия в механизме становления уреотелизма нами исследовались некоторые их кинетические свойства ( $K_m$ , степень ингибирования L-лизином и L-орнитином).

*Материал и методика.* Классификацию этапов развития лягушек, фракционирование экстрактов печени методом гель-фильтрации и методом ионообменной хроматографии проводили по ранее описанным [1, 2].

Ферментативную активность определяли путем инкубирования ферментного препарата при 37° в течение 60 мин в глициновом буфере (0,05 М, рН 9,5) в присутствии

L-аргинина (50 мкмоль) и  $MnCl_2$  (5 мкмоль). Количество образовавшейся мочевины устанавливали методом Арчибальда, в модификации Мооре и Кауфмана [5], а величину  $K_m$  по отношению к L-аргинуину—графическим методом по Лайнуверу и Берку [4].

Конкурентные ингибиторы аргиназы—L-лизин и L-орнитин применялись в концентрации 60 мкмоль на пробу.

**Результаты и обсуждение.** Исследовалось влияние концентрации субстрата (L-аргинина) на активность отдельных изоферментов. Кривые, приведенные на рис. 1, 2, показывают зависимость скорости арги-

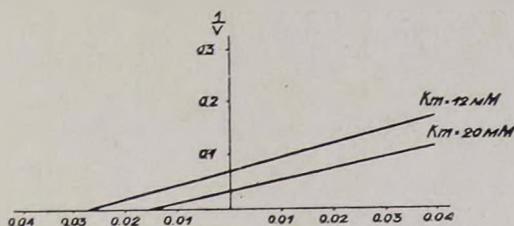


Рис. 1. Влияние концентрации субстрата на активность изоферментов IB и IC.

назой реакции от концентрации субстрата и позволяют определить значения  $K_m$  для каждого изофермента. Значения  $K_m$  по отношению к L-аргинуину для IB и IC равны 20 мМ и 12 мМ соответственно. Эти величины близки значениям  $K_m$  для уреотелических позвоночных по Мора [6]. Сродство к аргинуину изофермента IA значительно меньше, величина  $K_m$  здесь равна 110 мМ (рис. 2).

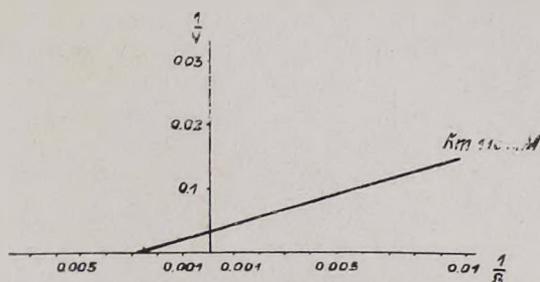


Рис. 2. Влияние концентрации субстрата на активность изофермента IA.

Изучалось также влияние аминокислот (L-лизина и L-орнитина) на активность отдельных изоферментов. Эти аминокислоты значительно ингибируют активность изоферментов IB и IC (табл.).

Таблица

Влияние L-лизина и L-орнитина на активность изоферментов аргиназы печени лягушек

Ингибитор	Ингибирование активности в % от контроля без аминокислот		
	IA	IB	IC
L-лизин	не ингибируется	86	94
L-орнитин	не ингибируется	58	58

Ингибирующее действие указанных аминокислот на активность изофермента IA не обнаружено. Полученные данные служат доказательством наличия различных механизмов регуляции активности двух форм аргиназы. Обнаруженные в процессе онтогенеза лягушек *R. ridibunda* изоферменты аргиназы печени различаются по своим свойствам и регуляторным возможностям. После метаморфоза заметно активируются изоферменты IB и IC. По-видимому, они имеют непосредственное отношение к механизму становления уреотелизма.

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

Поступило 2.VII 1979 г.

## RANA RIDIBUNDA ԳՈՐՏԻ ԼՅԱՐԻԻ ԱՐԳԻՆԱԶԱՅԻ ԻՉՈՖԵՐՄԵՆՏՆԵՐԸ

Է. Խ. ԲԱՐՍԵԳՅԱՆ, Ֆ. Յ. ՆԿՈԳՈՍԻԱՆ, Մ. Բ. ՄԵՍՐՈՊԻԱՆ

Իոնափոխանակային քրոմատոգրաֆիայի մեթոդով գորտի լյարդում հայտնաբերվել են երեք իզոֆերմենտներ, որոնք տարբերվում են որոշ կինետիկ հատկություններով՝  $K_m$ -ի արժեքով, լիզին և օրնիթին ամինաթթուներով արգելակվելու տարբեր աստիճանով.  $K_m$ -ի արժեքը IB և IC իզոֆերմենտների համար համապատասխանաբար հավասար է 20 մՄ և 12 մՄ, IA իզոֆերմենտի խնամակցությունը L-արգինինի նկատմամբ ավելի ցածր է ( $K_m = 110$  մՄ): L-լիզինը և L-օրնիթինը զգալիորեն արգելակում են IB և IC իզոֆերմենտների ակտիվությունը: Վերոհիշյալ ամինաթթուների արգելակիչ ազդեցությունը IA իզոֆերմենտի վրա չի հայտնաբերված:

Ստացված տվյալները վկայում են գորտի լյարդում արգինազայի երկու ձևերի կարգավորման տարբեր մեխանիզմների մասին:

## FROG (RANA RIDIBUNDA) LIVER ARGINASE ISOENZYMES

E. Ch. BARSEGHIAN, Ph. Ts. NIKOGOSIAN, M. B. MESROPIAN

During the repeated fractionating of frog (*R. ridibunda*) liver arginase isoenzyme 1 filtered with highmolecular proteins by the method of ionexchangeable chromatography 3 arginase isoenzymes (IA, IB, IC) differing by some kinetic properties have been found out. Received data serve as a proof of presence of different regulation mechanisms of 2 forms arginase activity.

## Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Барсегян Э. Х., Никогосян Ф. Ц., Давтян М. А. Биолог. ж. Армении, 30, 6, 1977.
2. Барсегян Э. Х., Никогосян Ф. Ц., Давтян М. А. Биолог. ж. Армении, 30, 12, 1977.
3. Давтян М. А. Биохимия, 35, 412, 1970.
4. Диксон М., Уэбб Э. Ферменты, М., 1966.
5. Moore R. B., Kaufman N. J. Anal. Biochem., 33, 2, 263, 1970.
6. Mora J., Martuscelli J., Otrir-Pineda J., Soberon G. Biochem. J. 96, 28, 1965.