

ФЕРМЕНТЫ ОРНИТИНОВОГО ЦИКЛА МАЛОРЕСНИЧНЫХ ИНФУЗОРИЙ

Г. А. СЕМЕРДЖЯН, А. С. ГЕВОРКЯН, М. А. ДАВТЯН

Изучалось наличие субстратов орнитинового цикла и мочевины в гомогенатах малоресничных инфузорий. Установлено, что гомогенаты малоресничных инфузорий содержат все ферменты орнитинового цикла и мочевины и обладают выраженной способностью синтезировать мочевину. При исследовании отдельных ферментов орнитинового цикла было установлено наличие у них всех пяти ферментов цикла.

Ключевые слова: инфузории, рубец.

Многочисленными литературными данными доказана роль инфузорий в процессе усвоения белков, углеводов и липидов кормов жвачных животных [6], однако механизмы усвоения изучены недостаточно.

В работе Пирсона и Смита [цит. по 6] впервые было показано, что в рубце происходит как синтез, так и разрушение белка, а также, что главным конечным продуктом расщепления различных белков является аммиак [11].

Данных, подтверждающих наличие внеклеточной протеолитической активности в содержимом рубца, не имеется. Следовательно, белок расщепляется под действием протеолитических ферментов микроорганизмов (бактерий, инфузорий) с образованием пептидов и аминокислот, которые в свою очередь подвергаются действию дезаминаз с образованием аммиака [12, 14].

Мало изучен обмен аминокислот у инфузорий. В работах ряда авторов показано, что при усвоении белков инфузории рода *Entodinium* не способны дезаминировать аминокислоты, тогда как инфузории рода *Ophryoscolex* обладают дезаминазной активностью [7, 12].

Процесс усвоения аммиака является одной из малоизученных сторон обмена азотсодержащих соединений у инфузорий. С этой точки зрения представляет определенный интерес изучение ферментов орнитинового цикла у инфузорий как одного из механизмов обезвреживания аммиака—конечного продукта азотистого обмена—и синтеза эссенциальной аминокислоты аргинина из CO_2 и аммиака. Изучение орнитинового цикла интересно и в том отношении, что синтезированная мочевина, являясь источником небелкового азота для синтеза инфузорного белка [9, 10], также усваивается животным организмом: стенки рубца обладают уреазной активностью.

В представленной работе нами изучались субстраты и отдельные ферментные этапы орнитинового цикла. Следует подчеркнуть, что свободноживущие аэробные инфузории в этом отношении более изучены. Доказано наличие ферментов биосинтеза аргинина из цитруллина и аспартата, а также аргиназы у аэробных инфузорий *Paramecium multicroonucleatum* [2].

Материал и методика. Малоресничные инфузории были получены методом Тер-Карапетяна, Арутюнян, Семержяна [5]. Гомогенизацию проводили в стеклянном гомогенизаторе типа Поттер-Элведжема. Аммиак определяли микродиффузионным методом Зеллингсона [13] в модификации Спэковой и сотр. [4]. Синтез цитруллина изучали в условиях, описанных Браунштейном и сотр. [1]. Цитруллин определяли колориметрическим методом Арчибальда [8]. В качестве дополнительного метода определения орнитинтранскарбамиллазной активности применялась реакция арсенлиза цитруллина. Аргининосукцинатсинтезная и аргининосукциная активности определяли по Клюге [3]. Экстрагируемые этанолом субстраты орнитинового цикла—орнитин, цитруллин, аргинин—и мочевины исследовали методом хроматографии на бумаге одномерным нисходящим способом. Для разделения использовали смесь бутанола, уксусной кислоты и воды (300:60:140). Проявителями служили для орнитина—раствор ванилина, для цитруллина и мочевины—*p*-диметиламино-бензальдегид, для аргинина—реактив Сакагучи.

Результаты и обсуждение. В первой серии опытов изучали наличие субстратов орнитинового цикла и мочевины в гомогенатах малоресничных инфузорий.

Данные табл. 1 показывают, что гомогенаты малоресничных инфузорий содержат все субстраты орнитинового цикла (орнитин, цитрул-

Таблица 1
Содержание субстратов орнитинового цикла у малоресничных инфузорий, мкМ мочевины/1 г свежей биомассы

№№ опытов	Орнитин	Цитруллин	Аргинин	Мочевина
1	3,5	3,4	1,7	7,5
2	3,1	3,3	1,6	9,6
3	2,6	3,7	1,9	6,1
4	2,5	3,3	2,1	8,4
5	3,7	3,1	2,0	7,2
6	2,7	3,0	1,9	6,2
7	3,0	2,7	1,9	5,8
8	2,9	3,4	1,8	7,9
9	2,8	3,2	2,0	6,1
$M \pm m$	$3,0 \pm 0,042$	$3,2 \pm 0,028$	$1,9 \pm 0,017$	$7,2 \pm 0,291$

лин, аргинин) и мочевины, но сравнительно больше мочевины и цитруллина. Надо отметить, что у уреотелических животных количество этих веществ не превышает приведенные величины. Это наводит на мысль о существовании орнитинового цикла у малоресничных инфузорий.

Наши исследования показали (табл. 2), что гомогенаты инфузорий обладают выраженной способностью синтезировать мочевины из

Таблица 2
Синтез мочевины в гомогенатах малоресничных инфузорий, 1 г свежей ткани

Мочевина, мкМ

1	2	3	4	5	6	7	M±m
9,5	8,5	8,0	9,7	9,9	9,5	9,0	9,2±0,092

CO₂, аммиака и орнитина в присутствии АТФ, ионов магния и энергетического субстрата (фумарата). При этом в течение 1 ч синтезируется в среднем 9,1 мкМ мочевины на 1 г свежей биомассы.

При исследовании ферментов орнитинового цикла было установлено наличие у исследуемых инфузорий всех пяти ферментов цикла (табл. 3).

Таблица 3
Ферменты орнитинового цикла, мкМ мочевины на 1 г свежей ткани

№№ опытов	Арсенолиз цитруллина	Карбамилфосфатсинтетазная и орнитинтранскарбамилазная активность	Аргининосукцинатсинтетазная и аргининосукцинизная активность	Аргиназная активность
1	3,5	0,206	7,5	5,6
2	3,2	0,262	6,8	5,8
3	3,2	0,241	7,4	6,3
4	3,5	0,205	6,7	6,4
5	3,5	0,270	7,5	6,0
6	3,2	0,250	6,8	6,3
7	3,5	0,245	7,2	6,5
M±m	3,4±0,022	0,240±0,003	7,1±0,047	6,2±0,045

Как видно из приведенных данных, слабой активностью отличается процесс биосинтеза цитруллина, катализируемый карбамилфосфатсинтетазой и орнитинтранскарбамилазой. Очевидно, в данном случае процесс биосинтеза цитруллина лимитируется карбамилфосфатсинтетазой, ибо орнитинтранскарбамилазная активность, определяемая методом арсенолиза цитруллина, выражена значительно. Представляет интерес высокая активность процесса биосинтеза аргинина из цитруллина и аспартата, катализируемого аргининосукцинатсинтетазой и аргининосукцинизной. Между тем, согласно литературным данным, в других объектах лимитирующим звеном орнитинового цикла является именно этот этап, который по своей активности значительно уступает другим ферментным этапам, особенно аргиназной. В изучаемых нами инфузориях, как видно из данных табл. 3, представлена и аргиназа, однако активность последней несколько уступает активности предыдущих двух ферментов.

Суммируя полученные данные, можно заключить, что у изучаемых инфузорий содержатся все субстраты орнитинового цикла и мочевины,

а также активности всех пяти ферментов этого цикла. На основании этих данных можно сделать предположение о функционировании орнитинового цикла у инфузорий. Однако для окончательного вывода необходимы дальнейшие исследования, ибо нельзя исключить раздельное функционирование отдельных ферментных этапов орнитинового цикла. В частности, можно допустить функционирование аргининосукцинат-синтетазы и аргининосукциназы, представленных с высокой активностью, с целью обеспечения биосинтеза аргинина из кормового цитруллина. Тем более что изучаемые инфузории содержат цитруллин в значительных концентрациях, тогда как в уреотелических организмах он содержится в виде следов. Так или иначе, на основании проведенных нами исследований в анаэробных инфузориях *Ophryoscolex caudatus* обнаружены активности всех пяти ферментов орнитинового цикла.

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

Поступило 11.IV 1980 г.

ՍԱԿԱՎԱԹԱՐԹԻՉ ԻՆՖՈՒՉՈՐԻԱՆԵՐԻ ՕՐՆԻԹԻՆԱՅԻՆ ՑԻԿԼԻ ՖԵՐՄԵՆՏՆԵՐԸ

Զ. Հ. ՍԵՄԵՐՋՅԱՆ, Ա. Ս. ԳԵՎՈՐԳՅԱՆ, Մ. Ա. ԴԱՎԹՅԱՆ

Սակավաթարթիչ ինֆուզորիաների համոգենատներում ուսումնասիրվել է օրնիթինային ցիկլի սուբստրատների՝ օրնիթինի, ցիտրուլինի, արգինինի և միզանյութի պարունակությունը: Հաստատվել է, որ սակավաթարթիչ ինֆուզորիաների համոգենատներում պարունակվում են օրնիթինային ցիկլի բոլոր սուբստրատները և միզանյութը: Ինֆուզոր համոգենատները ընդունակ են սինթեզելու միզանյութ: Հետազոտվող ինֆուզորիաներում հայտնաբերվել են օրնիթինային ցիկլի բոլոր հինգ ֆերմենտները:

THE ORNITHINE CYCLE ENZYMES IN OLIGOTRICHA

G. A. SEMERDJAN, A. S. GEWORKYAN, M. A. DAVTYAN

Urea and ornithine cycle substrates have been found in homogenates of Oligotricha. It has been shown that they have an ability to form urea. Under estimation of ornithine cycle enzymes a presence of all the five cycle enzymes in studied infusoria has been found.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Браунштейн А. Е., Северина Н. С., Бабская Ю. Е. Биохимия. 21, 738, 1956.
2. Зорабян Т. Я. Автореф. канд. дисс., Ереван, 1977.
3. Клюге В. И. ДАН СССР, 109, 5, 1956.
4. Силакова А. И., Труш Г. Н., Являкова А. Вопросы мед. химии. 8, 588, 1962.
5. Тер-Қарапетян М. А., Арутюнян Т. Г., Семерджян Г. А. Биолог. ж. Армении, 23,

- 1, 1970.
6. Эпписон Е. Ф., Люис Обмен веществ в рубце, М., 1962.
7. Abou Akkada A. R. In Physiology of digestion in the ruminants London, Butterworths, 1965.
8. Archibald R. M. J. Biol. Chem., 156, 121, 1944.
9. Harmeyer J. Zentrable Veterinarmed Reine A., 12, 1, 1965.
10. Harmeyer J. Zentrable Veterinarmed Reine B., 12, 7, 1965.
11. Loosli J. K., Williams H. H., Thomas W. E., Ferris F. H., Majnard L. A. Science, 110, 5, 2849, 1949.
12. Mah R. D. Doctoral thesis. Univ of California, Davis, Calif, 1962.
13. Selingson D. and Selingson N. J. Lab. and Clin. Med., 38, 324, 1951.
14. Williams P. P., Davis R. E., Doetsch R. W. and Gutierrez J. Applied Microbiology, 9, 5, 1961.