

ВЗАИМОСВЯЗЬ АРГИНАЗЫ И ФЕРМЕНТОВ БИОСИНТЕЗА ПРОЛИНА У ГУСЕНИЦ И КУКОЛОК ФАСОЛЕВОЙ ЗЕРНОВКИ *ACANTHOSCELIDES OBTECTUS* SAY.

А. Х. АГАДЖАНЫАН

Исследованы биосинтез пролина из различных предшественников, динамика активности аргиназы и ферментов биосинтеза пролина, ингибирование аргиназы аминокислотами, а также динамика свободных аминокислот у гусениц и куколок фасолевой зерновки. Установлена коррелятивная зависимость между активностью аргиназы и ферментов биосинтеза пролина. Эффективными ингибиторами для аргиназы гусениц являются орн, лиз и разветвленные аминокислоты.

*Ключевые слова:* фасолевая зерновка, аргиназа, пролин.

Аргиназа встречается как в печени уреотелических животных, так и внелечепочных тканях уреотелических и аммонотелических животных [4].

Различными исследованиями установлено, что аргинин и орнитин могут служить источником биосинтеза пролина и глутамата в лактирующей молочной железе [12], в жировом теле шелковичной моли [11], у тутового шелкопряда [1], жуков фасолевой зерновки [2], у *S. ruficornis* и *Ph. ricini* [8]. При этом у этих организмов активность аргиназы и орнитин-δ трансминазы не коррелирует с активностью ферментов цикла мочевины.

Рядом авторов четко выявлена взаимосвязь между аргиназой и ферментами биосинтеза пролина у большого числа организмов [1, 8, 11]. Изучено ингибирование аргиназы аминокислотами: в печени овцы [10] орнитин, лизин и пролин выступают как конкурентные ингибиторы аргиназы, валин представляет собой смешанный тип ингибитора. Особенно интересно ингибирование аргиназы пролином и α-аминоизомасляной кислотой. Пролин сильно ингибирует аргиназу молочной железы, почек, мозга [3], инфузорий [5], жуков фасолевой зерновки [2], опухолей молочной железы крыс [9] и слабо ингибирует аргиназу печени. α-Аминоизомасляная кислота ингибирует аргиназу молочной железы, почек крыс [3] и печени цыплят [7], но не ингибирует аргиназу печени крыс [3]. Предполагается, что перечисленные аминокислоты действуют на аргиназу, функционирующую в сторону биосинтеза пролина.

В настоящей работе мы изучали динамику аргиназы и ферментов биосинтеза пролина и их взаимосвязь.

*Материал и методика.* Объектом исследования служили гусеницы и куколки фасолевой зерновки *Acanthoscelides obtectus* Say. Продолжительность развития яиц при 28° длится 30 дней. При указанной температуре и 75%-ной влажности воздуха гусеничная стадия длится 30 дней [6].

Методы определения активности аргиназы и ферментов биосинтеза пролина нами описаны ранее [3]. Для извлечения свободных аминокислот гусеницы растворяли в ступке с 8-кратным количеством 75%-ного этанола. Образцы фиксировали на водяной бане при 80° в течение 20 мин. Экстракцию повторяли 4 раза. Определение свободных аминокислот производили методом бумажной хроматографии.

*Результаты и обсуждение.* Динамика свободных аминокислот у гусениц и куколок фасолевой зерновки приведена в табл. 1, из которой видно, что суммарное содержание свободных аминокислот в течение развития гусениц несколько уменьшается, а в конце гусеничной стадии вновь увеличивается; у куколок по сравнению с гусеничной стадией оно значительно выше. Особенно увеличивается содержание аргинина, глутамина, аланина, тирозина. Содержание же пролина значительно уменьшается. Интересно увеличение содержания глутамина. Этот амид появляется в конце гусеничной стадии и сохраняется на том же уровне у куколок. Последнее обстоятельство связано, очевидно, с переходом гусеничной стадии в куколичную и усилением гидролитических процессов, что и приводит к образованию глутамина. У куколок содержание аргинина почти в два раза выше по сравнению с гусеницами, содержание пролина во столько же раз ниже.

Таблица 1

Динамика свободных аминокислот у гусениц и куколок фасолевой зерновки, мкм на 1 г свежей ткани

	Дни гусениц			Куколки
	XXII	XXVII	XXX	
Цис	4,30	4,50	4,80	4,80
Лиз	2,13	3,27	3,50	3,44
Арг	4,75	3,81	4,93	7,85
Глу-NH <sub>2</sub>	—	—	2,36	2,80
Асп	3,20	2,13	3,10	4,86
Сер	3,05	1,59	1,99	2,14
Гли	1,49	1,39	1,60	1,80
Глу	1,11	3,41	4,17	4,91
Тре	1,26	1,02	0,90	1,15
Ала	2,88	2,67	2,22	3,55
Про	16,30	12,60	11,30	8,90
Тир	0,72	1,82	2,52	4,22
Валмет	1,84	1,17	1,93	2,29
Фен	следы	следы	следы	следы
Лей-илей	3,17	2,84	5,43	4,93
ИТОГО	44,90	37,75	45,95	52,84

Нами изучены также субстраты для биосинтеза пролина у гусениц фасолевой зерновки (табл. 2).

Полученные данные показывают, что субстратами для биосинтеза пролина у гусениц служат орнитин и цитруллин. Глутамат, как и у жуков, также служит источником для биосинтеза пролина у гусениц. По

Биосинтез пролина из различных предшественников у гусениц фасолевой зерновки, мкм на 1 г свежей ткани

Дни	Аминокислоты			
	L-орн	L-арг	L-цит	L-глу
XXVIII	197	0	46,5	17,5

нашим предварительным данным, у гусениц глутамат превращается в пирролин-5-карбоксилат.

По-видимому, расщепление цитруллина у гусениц, так же как и у жуков, происходит с помощью орнитинтранскарбамилазы и образовавшийся орнитин служит субстратом для биосинтеза пролина. Об орнитинтранскарбамилазной активности мы судили как по синтезу цитруллина, так и по арсенализу последнего.

Изменение аргиназной активности и ее ингибирование различными аминокислотами у гусениц и куколок фасолевой зерновки приведены в табл. 3 и на рис. 1.

Таблица 3

Динамика аргиназы у гусениц и куколок фасолевой зерновки, мкм на 1 г свежей ткани

Показатели	Дни гусениц				Куколки
	XXII	XXIV	XXVI	XXVIII	
Активность фермента	545	490	430	370	171

Полученные данные показывают, что активность аргиназы уменьшается в течение развития гусениц и приобретает минимальное значение у куколок.

При изучении ингибирования аргиназы аминокислотами (рис. 2) выяснилось, что у гусениц на 19-й и 22-й дни развития, так же как и у жуков, эффективными ингибиторами аргиназы являются орнитин, лизин и разветвленные аминокислоты — лейцин, валин и изолейцин, в конце гусеничной стадии многие аминокислоты (про,  $\alpha$ -АМК, ГАМК,  $\alpha$ -аминоизомасляная кислота, лей) не только не ингибируют, но даже стимулируют активность фермента. Вероятно, в процессе развития у гусениц меняются регуляторные свойства изоэнзимов аргиназы, что следует изучить в дальнейшем.

Интересным является факт ингибирования аргиназы  $\alpha$ -аминоизомасляной и  $\delta$ -аминовалериановой кислотами. Первая в метаболическом отношении инертна и, по нашему мнению, ингибирует аргиназу, функционирующую в сторону биосинтеза пролина. Так, ранее нами было установлено [10], что у крыс она ингибирует аргиназу молочной железы (где

орнитинный цикл отсутствует и аргиназа функционирует в сторону биосинтеза пролина и полиаминов) и не оказывает влияния на аргиназу печени и почек. У молодых гусениц пролин сильнее ингибирует аргиназу, чем у жуков. Этот факт нуждается в детальном исследовании на уровне отдельных изоэнзимов в течение развития гусениц.

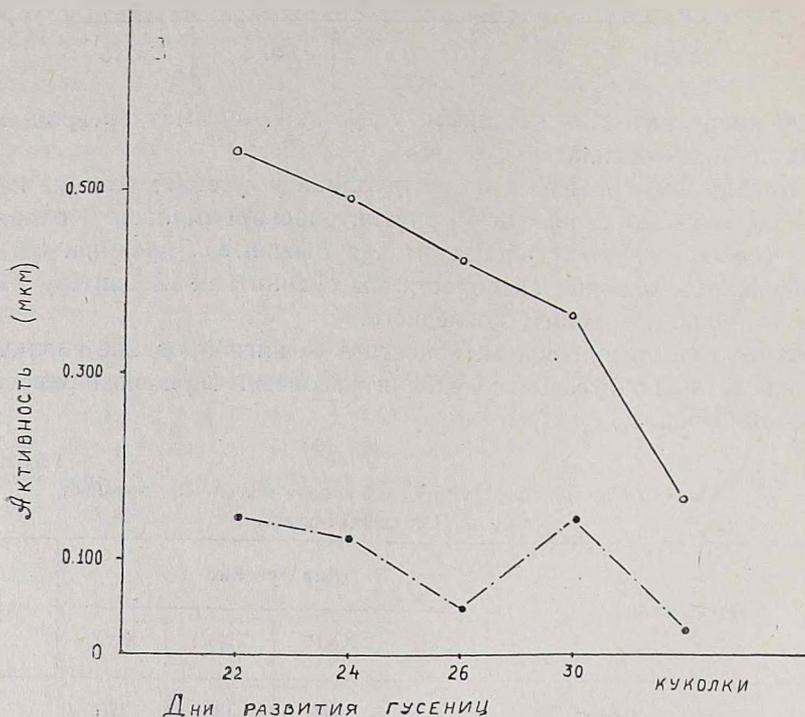


Рис. 1. Динамика аргиназы и ферментов биосинтеза пролина у гусениц и куколок фасольевой зерновки. ○ — активность аргиназы ● — активность ферментов биосинтеза пролина.

С целью выявления зависимости между активностями аргиназы и ферментов биосинтеза пролина мы изучали также динамику ферментов биосинтеза пролина у гусениц и куколок фасольевой зерновки (табл. 4).

Полученные данные показывают, что активность ферментов биосинтеза пролина в процессе развития гусениц и куколок постепенно уменьшается и в последние дни развития гусениц и у куколок приобретает минимальное значение. Таким образом, за исключением последнего дня, между динамикой аргиназы и ферментами биосинтеза пролина устанавливается коррелятивная зависимость. Высокая активность в последний, 30-й день, по-видимому, объясняется тем, что повышается потребность в пролине для образования кутикулярных структур, богатых им. Вероятно, для образования пролина, кроме орнитина (образующегося из аргинина), в этот процесс включаются и другие аминокислоты, в частности глутамат и цитруллин. Об этом свидетельствует также низкое содержание эндогенного пролина у куколок, не нуждающихся

ся в таком количестве пролина, так как они ведут довольно пассивный образ жизни.

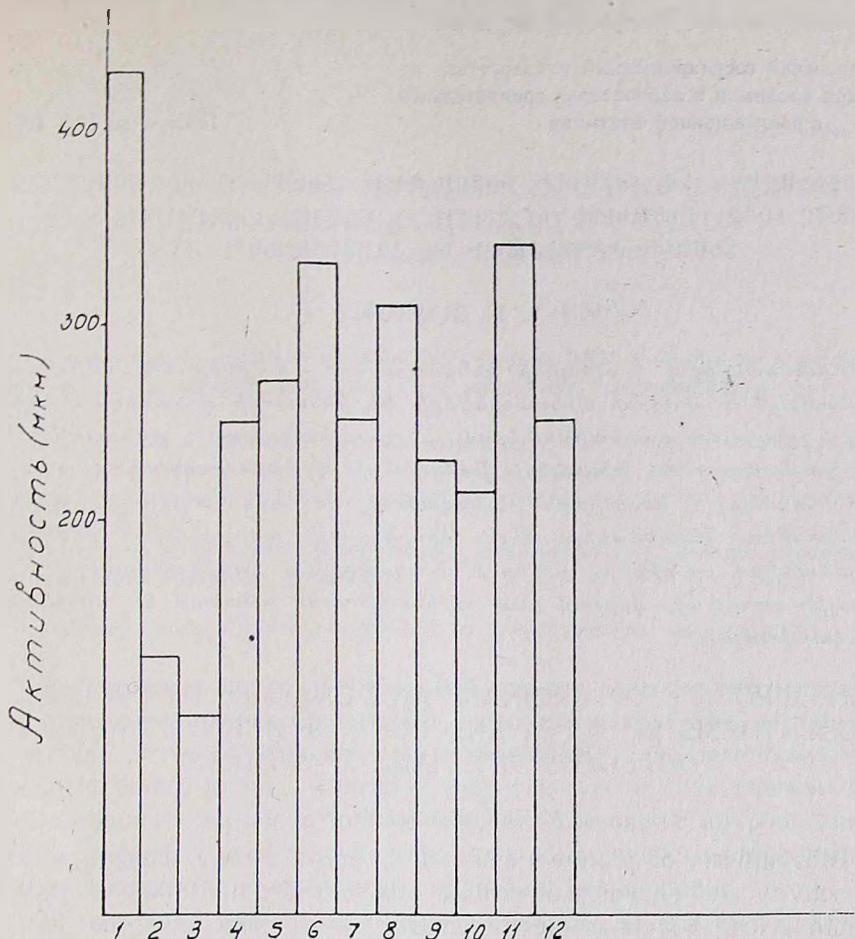


Рис. 2. Ингибирование аргиназы гусениц фасолевой зерновки аминокислотами (19-й день развития). 1. Без ингибитора; 2. L-орн; 3. L-лиз; 4. L-про; 5. L-АМК; 6. L-аминоизомаляновая кислота; 7. L-вал; 8. L-лей; 9. L-илей; 10. L-глу; 11. ГАМК; 12. δ-аминовалериановая кислота.

Таблица 4  
Динамика ферментов биосинтеза пролина у гусениц и куколок фасолевой зерновки, мкм на 1 г свежей ткани

Показатели	Дни гусениц				Куколки
	XXII	XXIV	XXVI	XXX	
Активность фермента	137,6	125	46,0	138	32,8
Содержание эндогенного пролина	42,4	44,4	43,0	48,1	29,2

Таким образом, нами выявлена коррелятивная зависимость между активностями аргиназы и ферментами биосинтеза пролина в процессе развития гусениц фасолевой зерновки.

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

Поступило 17.X 1980 г.

ԱՐԳԻՆԱԶԱՅԻ ԵՎ ՊՐՈԼԻՆԻ ԲԻՈՍԻՆԹԵԶԻ ՖԵՐՄԵՆՏՆԵՐԻ ՓՈԽԱՂԱՐՁ  
ԿԱՊԸ ԼՈՐՈՒ ԸՆԴԱԿԵՐԻ ACANTHOSCELIDES OBTECTUS SAY  
ՏԵՍԱԿԻ ԹՐԹՈՒՐՆԵՐԻ ԵՎ ՀԱՐՍՆՅԱԿՆԵՐԻ ՄՈՏ

Ա. Խ. ԱԳԱԶՅԱՆ

Ուսումնասիրվել է պրոլինի կենսասինթեզը տարբեր նախանյութերից, արգինազայի և պրոլինի կենսասինթեզի ֆերմենտների շինամիկան, արգինազայի ընկճումը ամինաթթուներով, ինչպես նաև ազատ ամինաթթուների փոփոխությունը լոբու ընդակերի թրթուրների և հարսնյակների մոտ:

Սահմանվել է կոռելյատիվ կախվածություն արգինազայի և պրոլինի կենսասինթեզի ֆերմենտների միջև: Արգինազայի արդյունավետ ընկճողներ են համարվում օրնիթինը, լիզինը և ճյուղավորված ամինաթթուները: Թրթուրային ստադիայի վերջում շատ ամինաթթուներ խթանում են արգինազայի ակտիվությունը:

RECIPROCITY OF ARGINASE AND ENZYMES OF PROLINE  
BIOSYNTHESIS IN LARVA AND PUPA OF ACANTHOSCELIDES  
OBTECTUS SAY HARICOF-BEETLES

A. Kh. AGADJANIAN

Biosynthesis of proline from various predecessors, changes of arginase activity and enzymes of proline biosynthesis, inhibition of arginase by aminoacids as well as the dynamics of free aminoacids in haricof-beetle larva and pupa have been studied. A correlation between the activity of arginase and enzymes of proline biosynthesis has been established. The effective inhibitors for arginase of beetles are ornithine and bronched aminoacids.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Агаджанян А. Х., Давтян М. А. Биолог. ж. Армении, 28, 5, 1974.
2. Агаджанян А. Х., Арутюнян Л. М., Гукасян Дж. Г. Биолог. ж. Армении, 33, 5, 1980.
3. Агаджанян А. Х., Арутюнян Л. М. Биолог. ж. Армении, 32, 12, 1979.
4. Бунцатян Г. Х., Давтян М. А. Биохимия, 35, 2, 412, 1970.
5. Заробян Т. Я., Агаджанян А. Х., Давтян М. А. Биолог. ж. Армении, 29, 10, 1976.
6. Щеголев В. Н. Сельскохозяйственная энтомология. М., 1960.
7. Austic R. E. J. Nutr., 103, 939, 1973.
8. Pant R., Kumar S. Biochem. J., 174, 341, 1978.
9. Rao K. K. V., Pal S. R., Vapat C. V. Br. J. Cancer, 30, 129, 1974.
10. Rao K. K. V., Reddy S. R. R., Swami K. S. Int. J. Biochem., 4, 62, 1973
11. Reddy S. R. R., Campbell J. W. Biochem. J., 115, 495, 1969.
12. Yip M. C., Knox W. E. Biochem. J., 127, 823, 1972.