

ՄԱՆԳԱՆԻ ՊԱՐՈՒՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆԸ ԽԱՂՈՂԱՌՈՒՅՍԻ
ՇԻՎԵՐՈՒՄ ԵՎ ՏԵՐԵՎՆԵՐՈՒՄ ԿԱԽՎԱԾ ՀԱՆՔԱՅԻՆ
ՍՆՈՒՅՄԱՆ ՌԵԺԻՄԻՑ ԵՎ ՀԱՐԿԻՑ

Ա. Ռ. ԱՖՐԻԿՅԱՆ

Հայաստանի պայմաններում լրիվ բացակայում են մակրոէլեմենտների համակցված ազդեցության տեղեկությունները միկրոէլեմենտների քանակի վրա, ըստ վեգետացիայի ֆազաների, հարկերի և խաղողաբույսի օրգանների: Ուսումնասիրված է վեգետացիայի ընթացքում խաղողաբույսի շիվերում և տերևներում մանգանի պարունակության վրա պարարտանյութերի ամենամյա ներգործման ազդեցությունը:

CHANGE OF MANGANESE CONTENT IN THE SHOOTS
AND LEAVES OF GRAPE DEPENDING ON REGIME
AND TIER OF MINERAL NUTRITION

A. B. AFRIKIAN

It has been found that simultaneous action of nitrogen, phosphorus and potassium stimulates more full assimilation of manganese by grape organs.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Метод. рекоменд. по проведению растительной диагностики питания виноград. куста. Ялта, 1974.
2. Карякин А. В., Грибовская И. Ф. Эмиссионный спектральный анализ объектов биосферы. М., 1979.
3. Априкян А. Б. Биолог. ж. Армении, 30, 3, 97, 1977.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 12, 1982

УДК 591.1.05

НЕКОТОРЫЕ КИНЕТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ИЗОФЕРМЕНТОВ
АРГИНАЗЫ ПОЧЕК В ЭМБРИОГЕНЕЗЕ КУР

Т. Г. АРУТЮНЯН, С. А. КАРАПЕТЯН, М. А. ДАВТЯН

Исследованы некоторые кинетические свойства (Km, Ki) изоферментов аргиназы почек в эмбриогенезе кур. Показано, что изоферменты аргиназы сильно различаются как по сродству к L-аргинину (для первого изофермента Km—167—200 мМ, а для второго—69 мМ), так и по взаимодействию с аминокислотами: L-пролин и ГАМК ингибируют изофермент I и не оказывают действия на II, а L-лизин и L-орнитин, наоборот, ингибируют II и не влияют на I изофермент.

Ключевые слова: изофермент аргиназы, почки, куры.

Почечная аргиназа, выявленная у многих как уреотелических, так и неуреотелических организмов, изучена недостаточно. Куры являются

ся урикотелическими организмами, их ткани обладают аргиназной активностью, наиболее выраженной у почек [1, 12].

В имеющейся литературе мало сведений относительно изоэнзимов аргиназы почек неуротелических организмов, особенно эмбрионов кур [23], которые в процессе эмбриогенеза претерпевают смену типов азотистого катаболизма [6, 8, 9, 11, 20].

В предыдущих наших работах показано, что ткани куриного эмбриона (печень, мозг) различаются спектром аргиназной активности: в то время как аргиназная активность печени при гельфильтрации экстрактов выявляется двумя выраженными пиками, один из которых с 18-го дня развития полностью исчезает, мозг обладает двумя формами аргиназной активности во все сроки эмбрионального развития.

Указанные изоэнзимы аргиназы печени и мозга отличались по сродству к L-аргину, характеру взаимодействия с аминокислотами-ингибиторами (L-лизин, L-орнитин, L-пролин, ГАМК) и молекулярному весу.

Целью данной работы являлось изучение некоторых кинетических свойств выявленных изоэнзимов (K_{pi} , K_i) аргиназы почек эмбрионов кур в процессе их развития.

Материал и методика. Объектом служил куриный эмбрион породы «Леггорн». Почки исследовались в разные дни (на 11, 15, 18, 21-й) эмбриогенеза. Гомогенизацию проводили в стеклянном гомогенизаторе типа Поттер-Эльведжема с тефлоновым пестиком. Гомогенат (20%) готовили на 0,02 М калий-фосфатном буфере (рН 7,4). Разделение белков проводили на колонке с сефадексом G-100, уравновешенной 0,02 М калий-фосфатным буфером. Объем нанесенного на колонку супернатанта гомогената, как и собираемых фракций, составлял 4 мл. Концентрацию белка определяли по интенсивности поглощения света при 280 нм: далее в отобранных пробах определяли аргиназную активность методом Рагнер [21] с последующим определением мочевины по Арчибальду [14]. Из кинетических свойств выявленных молекулярных форм аргиназы определены константы Михаэлиса (K_{pi}) для L-аргина и константы ингибирования (K_i) для аминокислот-ингибиторов. Величину K_{pi} (инкубационная среда: глициновый буфер 0,05 М, рН 9,5; $MnCl_2$ —5 мкмоль; объект—1 мл; L-аргинин—10—600 мкмоль; общий объем—3 мл) определяли методом Лайнуивера-Берка [7], K_i —графическим методом Диксона [7]. Инкубационная среда та же. L-аргинин для обоих изоферментов применяли в концентрациях 300 и 500 мкмоль. В качестве ингибиторов аргиназы применяли L-лизин, L-орнитин, L-пролин, ГАМК в количестве 1—20 мкмоль на пробу.

Результаты и обсуждение. Гельфильтрация экстрактов почек показала наличие одного пика аргиназной активности, совпадающего с высокомолекулярной белковой фракцией; второй изофермент низкомолекулярной природы проявляется на самых поздних стадиях эмбриогенеза.

Как видно из таблицы, изоферменты аргиназы сильно отличаются по сродству к L-аргину. Первый изоэнзим аргиназы почек обладает низким сродством (K_{pi} —167—200 мМ) во все сроки развития эмбриона, в то время как второй, проявляющийся у цыплят,—высоким (69 мМ).

Интересно, что проявление второго изофермента почек совпадает с исчезновением второго изофермента печени, причем по сродству к субстрату эти изоферменты имеют сходные значения—69 и 54 мМ соответственно.

Лизин и орнитин, как известно, являются специфическими ингибиторами аргиназы различного происхождения [4, 15—17]. Кроме того,

имеются данные и о том, что ГАМК и пролин также оказывают ингибирующее влияние на аргиназу печени и почек крысы, печени овцы, молочной железы мышей, инфузорий, тутового шелкопряда, печени и мозга куриного эмбриона [1, 5, 10, 18, 19].

Установлено, что изоэнзимы почек резко различаются по взаимодействию с аминокислотами—L-лизином, L-орнитином, L-пролином и ГАМК. L-пролин и ГАМК ингибируют I изоэнзим почек, а на II не оказывают действия. L-лизин и L-орнитин, наоборот, ингибируют II и не влияют на I (см. таблицу).

Таблица

Значения K_m , K_i изоферментов аргиназы почек в эмбриогенезе кур

Дни развития	$K_m \cdot 10^{-2} M$	I пик				$K_m \cdot 10^{-2} M$	II пик			
		$K_i \cdot 10^{-3} M$					$K_i \cdot 10^{-3} M$			
		L-орн	L-лиз	L-про	ГАМК		L-орн	L-лиз	L-про	ГАМК
11	16,7	0	0	7,3	9,1	—	—	—	—	—
15	18,1	0	0	7,8	8,8	—	—	—	—	—
18	18,0	0	0	7,5	9,2	—	—	—	—	—
Цыплята 1 дня	20,0	0	0	7,7	9,6	6,9	3,2	5,0	0	0

Изоэнзимы аргиназы почек отличаются и по характеру ингибирования указанными аминокислотами (рис. 1—3). L-лизин и L-орнитин ингибируют II изоэнзим конкурентным механизмом. Подобным меха-

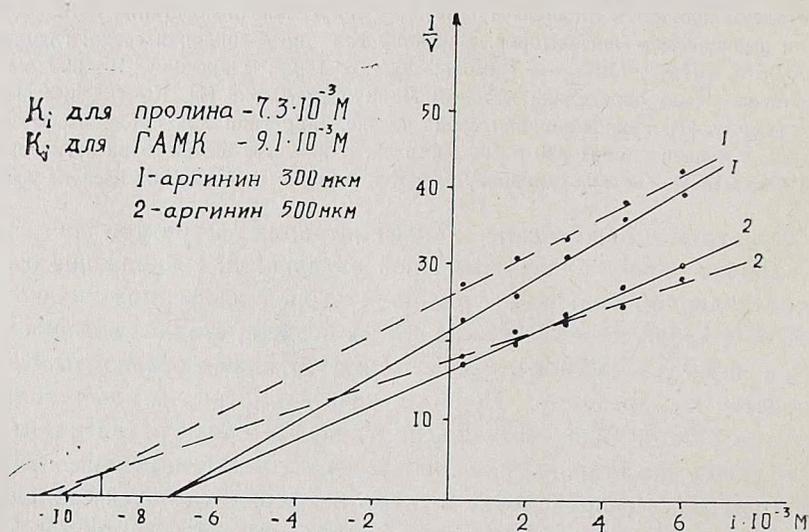


Рис. 1. Ингибирующее влияние (K_i) пролина (---) и ГАМК (—) на аргиназу почек эмбрионов кур (I пик, 11-й день развития).

низмом ГАМК ингибирует I изоэнзим, тогда как ингибирование последнего L-пролином носит неконкурентный характер.

Графическим методом Диксона (табл.) нами были определены также K_i изоферментов аргиназы почек при воздействии указанных ами-

нокислот. Приведенные в таблице данные по K_i для испытанных аминокислот находятся в пределах известных в литературе аргиназ различных организмов: значения K_i для орнитина $1,5-2,0 \cdot 10^{-3}$ М [16], для

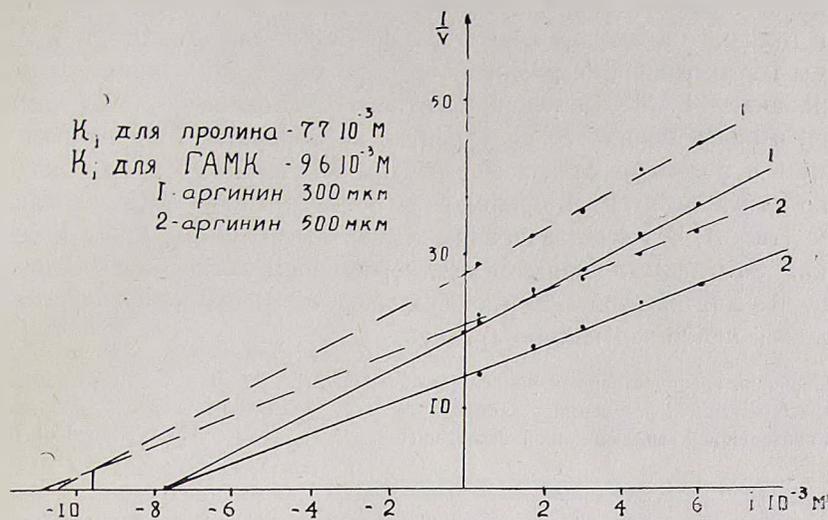


Рис. 2. Ингибирующее влияние (K_i) пролина (---) и ГАМК (—) на аргиназу почек эмбрионов кур (I пик, цыплята 1 дня).

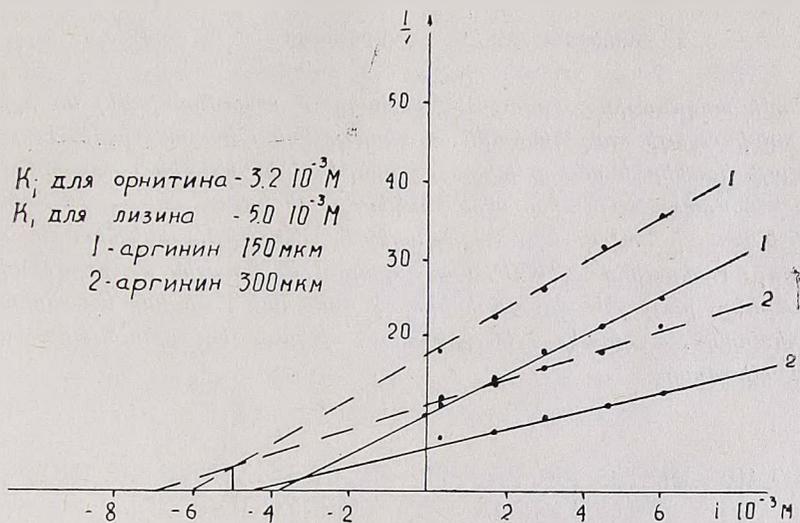


Рис. 3. Ингибирующее влияние (K_i) орнитина (---) и лизина (—) на аргиназу почек эмбрионов кур (II пик, цыплята 1 дня).

лизина $2,5-6,3 \cdot 10^{-3}$ М [22], для ГАМК близки соответствующим значениям аргиназы печени крыс ($10,0 \cdot 10^{-3}$ М) [13], а для L-пролина K_i —величине аргиназы аэробных инфузорий ($8,6 \cdot 10^{-3}$ М) [10] и значительно ниже аргиназы почек крыс ($35,0 \cdot 10^{-3}$ М) [3].

Итак, в почках однодневных цыплят выявлены два изоэнзима аргиназы, отличающихся друг от друга молекулярным весом, средством к аргинину и регуляторными механизмами.

Сопоставляя результаты кинетических исследований аргиназ почек с данными относительно печени и мозга в эмбриогенезе кур, можно отметить, что изоферменты I мозга, печени и почек куриного эмбриона одинаково ингибируются L-пролином и ГАМК, в то время как L-орнитин и L-лизин никакого воздействия на них не оказывают [1, 2]. Изоэнзимы I этих тканей не различаются и по характеру конкурентного ингибирования ГАМК и неконкурентного—L-пролином. Изоэнзимы II печени и почек одинаково конкурентно ингибируются L-орнитином и L-лизином, а в отличие от них II изоэнзим мозга, как и первый, неконкурентно ингибируется L-пролином и конкурентно—ГАМК. Выявлено также (табл.), что и по значениям K_i изоэнзимы почек, мозга и печени близки. Эти данные являются подтверждением нашего предположения о том, что для каждой ткани и периода развития эмбриона кур характерен свой набор изоэнзимов аргиназ.

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

Поступило 8.VI 1981 г.

ՀԱՎԻ ՍԱՂՄՆԱՅԻՆ ԶԱՐԳԱՅՄԱՆ ԸՆԹԱՅՔՈՒՄ ԵՐԻԿԱՄՆԵՐԻ
ԱՐԳԻՆԱԶԱՅԻ ԻԶՈՅՆԻՄՆԵՐԻ ՈՐՈՇ ԿԻՆԵՏԻԿ ՀԱՏՎՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ

Տ. Գ. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ, Ս. Ա. ԿԱՐԱՊԵՏՅԱՆ, Մ. Ա. ԴԱՎԹՅԱՆ

Հավի սաղմնային զարգացման ընթացքում ուսումնասիրվել են երիկամների արգինազայի որոշ կինետիկ հատկություններ: Բացահայտվել է, որ արգինազայի իզոֆերմենտները խիստ տարբերվում են ինչպես L-արգինինի հետ իրենց խնամակցությամբ (առաջին իզոֆերմենտի համար K_m -ը 167—200mM է, իսկ երկրորդի համար՝ 69mM), այնպես էլ ամինաթթուների հետ փոխազդեցությամբ: L-պրոլինը և ԳԱԿԹ-ն արգելակում են առաջին իզոֆերմենտի ակտիվությունը, բայց չեն ազդում երկրորդի վրա: Իսկ L-լիզինը և L-օրնիտինը, ընդհակառակն, արգելակում են երկրորդը, սակայն չեն ազդում առաջին իզոֆերմենտի վրա:

SOME KINETIC PROPERTIES OF ISOENZYMES OF KIDNEY
ARGINASE IN HEN EMBRYOGENESIS

T. G. HARUTIUNIAN, S. A. KARAPETIAN, M. A. DAVTIAN

Some kinetic properties (K_m , K_i) of kidney arginase isoenzymes in hen embryogenesis have been studied. It has been shown that arginase isoenzymes differ not only by their affinity to L-arginine (K_m is 167—200 mM for the first isoenzyme and for the second one—69 mM), but also by their interaction with aminoacids. L-proline and GABA inhibit the activity of the first isoenzyme but have no effect on the second one. L-lysine and L-ornithine, on the contrary, inhibit the activity of the second isoenzyme and have no effect on the first one.