

7. Giorgio N. A., Yip A. T., Fleming L., Plaut G. W. E. J. Biol. Chem., 245, 5469, 1970.
8. Grombeck A., Pastuszko A. J. Neurochem., 28, 429, 1977.
9. Itzhaki R. F., Gill D. M. Analyt. biochem., 9, 401, 1964.
10. Shen W. C., Mauck L., Colman R. F. J. Biol. Chem., 249, 7942, 1974.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXVII, № 1, 1984

УДК 577.1.577.15

НЕКОТОРЫЕ КИНЕТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА АРГИНАЗЫ СЕМЯДОЛЕЙ ГОРОХА

Л. А. ВАРДАНИЯН, М. А. ДАВТЯН

Исследованы некоторые кинетические свойства аргиназы семян гороха.

Показано, что фермент конкурентно ингибируется L-лизинном ($K_i = 13,3 \times 10^{-3} \text{ M}$) в то время как L-орнитин, L-пролин и ГАМК никакого действия не оказывают. Тиоловые группы играют существенную роль в проявлении аргиназной активности. Молекулярный вес фермента равен 204000.

Ключевые слова: горох, аргиназа, кинетические свойства.

В настоящей работе приведены результаты изучения некоторых физико-химических свойств (K_m , молекулярный вес, ингибирующее влияние аминокислот и реагентов на тиоловые группы) частично очищенной аргиназы семян гороха. Следует отметить, что подобные исследования на растительных организмах весьма немногочисленны.

Материал и методика. Объектом исследования служили семена гороха Рамонский 77. Использовались семена на второй день прорастания. Гомогенизация проводилась в стеклянном гомогенизаторе типа Поттер-Элвуджера при 0—4° с кварцевым песком в дистиллированной воде. Аргиназная активность определялась методом Ратнера [20], с последующим определением мочевины по Арчибальду [8]. Очистка аргиназы осуществлялась по разработанному нами методу [5]. Константа ингибирования определялась графическим методом Диксона [6]. Количество L-аргинина составляло 10 и 50 мкмоль. В качестве ингибиторов аргиназы использовались L-лизин, L-орнитин, L-пролин, ГАМК в количестве 5—50 мкмоль на пробу. Молекулярный вес определялся методом гельфильтрации на колонке с сефадексом G-200 на основании построенного логарифмического графика белков с известными молекулярными весами (уреаз—480000, D-аминокислотная оксидаза—182000, гемоглобин—67000 и трипсин—23000).

Результаты и обсуждение. На первом этапе нами исследовалось влияние L-лизина, L-орнитина, L-пролина и ГАМК на активность частично очищенной аргиназы семян гороха.

Согласно литературным данным, специфическими ингибиторами аргиназы различных организмов являются лизин и орнитин. Однако в литературе имеются также данные об ингибирующем влиянии ГАМК и пролина на аргиназу печени и почек крысы, печени овцы, куриного эмбриона, инфузорий и опухолей молочной железы [1, 2, 7, 12—14].

Полученные нами данные (табл.) свидетельствуют о том, что из использованных специфических ингибиторов лишь лизин заметно по-

Таблица

Ингибирование аргиназы семян гороха лизином, активность
в мкмоль мочевины

Лизин, мкмоль	А р г и н и н, мкмоль			
	10		50	
	активность	% ингибирования	активность	% ингибирования
Контроль	0,840	—	1,480	—
5	0,460	45	0,846	43
10	0,290	65	0,714	52
15	0,258	69	0,600	59
25	0,252	70	0,540	64
35	0,208	75	0,520	65
50	0,166	80	0,370	75

давляет аргиназу семян гороха (70—80%) при наличии аргинина в использованных количествах, в то время как орнитин не оказывает никакого влияния, что является редким исключением. Известно, что орнитин не ингибирует активность лишь изоферментов аргиназы мозга в эмбриогенезе кур [3] и аргиназы *B. subtilis* [19]. Не ингибируют аргиназу также ГАМК и пролин.

На рис. 1 представлены кривые ингибирования аргиназы семян гороха L-лизинном и значение $K_i = 13.3 \times 10^{-3} \text{ М}$, вычисленное графиче-

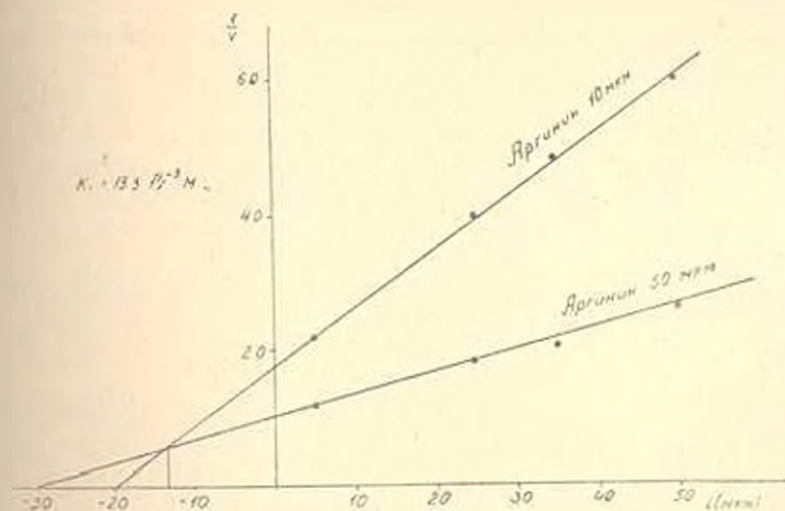


Рис. 1. Ингибирующее влияние (K_i) лизина на аргиназу семян гороха.

ческим методом Диксона с использованием различных концентраций субстрата и ингибиторов. Характер кривой доказывает, что ингибирующее действие лизина является конкурентным.

Таким образом, по механизму ингибирования лизином аргиназы семян гороха не отличается от большинства аргиназ различного происхождения.

В литературе имеются также данные о смешанном характере ингибирования лизином и орнитиним аргиназы люпина [16].

Большая серия экспериментов была проведена нами по изучению влияния некоторых реагентов на тиоловые группы (парахлормеркурий-бензоата—ПХМБ, п-бензохинона и йодацетата) на аргиназу семян гороха.



Рис. 2. Влияние ПХМБ, п-бензохинона и йодацетата на активность аргиназы семян гороха

Как видно из полученных данных (рис. 2), при концентрации ПХМБ 10^{-5} М аргиназная активность резко падает. Почти такая же закономерность наблюдается в вариантах с п-бензохиноном и концентрации 10^{-4} М, полностью подавляющей активность фермента. Йодацетат ингибирует аргиназную активность при более высоких концентрациях. Если при концентрации 10^{-4} М активность фермента не претерпевает изменений, то при концентрации 10^{-2} М она резко снижается, приближаясь к нулю.

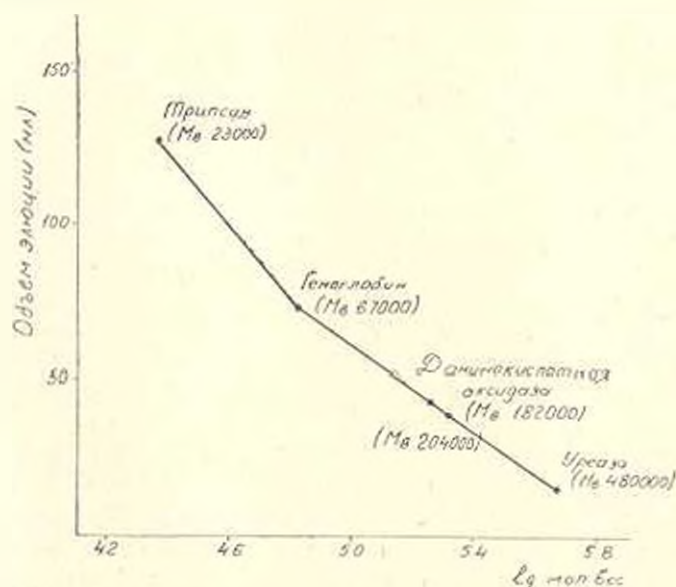


Рис. 3. Калибровочная кривая определения молекулярного веса аргиназы методом гельфильтрации на сефадексе G-200.

Таким образом, полученные результаты показывают, что тиоловые группы играют существенную роль в проявлении аргиназной активности семядолей гороха. Подобные результаты были получены при исследовании аргиназы люпина. В противоположность ферменту из печени быка и курицы, она характеризуется заметной чувствительностью к тиоловым реагентам, даже если они применяются в низких концентрациях [16].

Нами был определен также молекулярный вес аргиназы семядолей гороха, который оказался равным 204000 (рис. 3). Молекулярный вес аргиназы из сои—138000 [9], люпина—150000 [16]. Согласно литературным данным, молекулярный вес большинства аргиназ различного происхождения имеет величину порядка 120000—130000 [9, 11, 21—24]. Более высокие значения (выше 200000) получены для аргиназ урикогелических организмов (птиц, рептилий, насекомых) [17, 18, 24].

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

Поступило 6.VI 1983 г.

ՈՒՈՒԻ ՇԱՔԻԼՆԵՐԻ ԱՐԳԻՆԱԶՅԱՅԻ ՈՐՈՇ ԿԻՆԵՏԻԿԱԿԱՆ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ

Ջ. Հ. ՎԱՐԴԱՆՅԱՆ, Մ. Ա. ԴԱՎԻԱՆ

Ուսումնասիրվել են ուղորի շաքիլների արգինազայի որոշ էինեակական հատկություններ (K_i , մոլեկուլյար կշիռը, L-լիզինի, L-օրնիթինի, L-պրոլինի և ԳԱԿԹ ամինաթթուների ընկճող ազդեցությունը)։

Արգինազումը լիզինով կրում է մրցակցային բնույթ ($K_i = 13,3 \times 10^{-3} \text{ M}$), մինչդեռ օրնիթինը, պրոլինը և ԳԱԿԹ-ն արգինազիչ ազդեցություն չեն գործում ֆերմենտի վրա։

Պարզվել է, որ թիոլային խմբերը կարևոր դեր են խաղում ուղորի շաքիլների արգինազայի ակտիվության գրանորման մեջ։ Ֆերմենտի մոլեկուլյար կշիռը հավասար է 204000-ի։

SOME KINETIC PROPERTIES OF PEAS COTYLEDONS ARGINASE

J. A. VARDANIAN, M. A. DAVTIAN

Some kinetic properties of peas cotyledons arginase (K_i , molecular weight, inhibition by L-lysine, L-ornithine, L-proline and γ -aminobutyric acid) have been studied. Inhibition of the enzyme by L-lysine ($K_i = 13,3 \times 10^{-3} \text{ M}$), is of competitive character, whereas L-ornithine, L-proline and γ -aminobutyric acid have no influence on it. Thiol groups play important role in the expression of arginase activity. Molecular weight of the enzyme is 204000.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Агаджанян А. Х., Давтян М. А., Биолог. ж. Армения, 27, 5, 1974.
2. Арутюнян Т. Г., Карапетян С. А., Джакуджян Н. Дж., Биолог. ж. Армения, 34, 1, 1981.

3. Арутюнян Т. Г., Карапетян С. А., Байков В. А. Биолог. ж. Армении, 34, 8, 1981.
4. Габриелян Г. А., Акопян Б. А., Дагян М. А. Биолог. ж. Армении, 30, 8, 1977.
5. Дагян М. А., Варданян Дж. А. Биолог. ж. Армении, 35, 3, 1982.
6. Диксон, Уэбб, Ферменты, М., 1966.
7. Заробян Т. Я., Агаджанян А. Х., Дагян М. А. Биолог. ж. Армении, 29, 6, 1976.
8. Archibald R. M. J. Biol. Chem., 156, 121, 1944.
9. Carvajal N., Venegas O., Oestraelcher G., Plaza M. Biochem. Biophys. Acta, 250, 2, 1971.
10. Dumitru I. F. Acta vitamin enzymol., 27, 207, 1973.
11. Gasiotowska I., Porembska Z., Vachimowicz J., Mochnacka J. Biochim. Polon., 17, 19, 1970.
12. Kaysen G. A., Strecker H. J. J. Biochem., 133, 779, 1973.
13. Kesava Rao R. V., Reddy S. R. R., Swami K. S. Int. J. Biochem., 4, 62, 1973.
14. Kesava Rao R. V., Pal S. R., Gupta C. V. Br. J. Cancer, 30, 129, 1974.
15. Legaz E., Vicente C. Cryptogamie, Bryol., Lichenol., 1, 4, 1980.
16. Muszynska G., Severina L. O., Lohyeva L. W. Acta Biochim. Polon., 19, 2, 1972.
17. Mora J., Turrah B., Martuscelli J., Soberon G. Biochem. L., 9, 588, 1965.
18. Mora J., Turrah B., Bofalini L. F. Biochim. Biophys. Acta., 118, 206, 1966.
19. Nakamura N., Fujita M., Kimura K. Agr. Biol. Chem., 37, 2827, 1973.
20. Ratner S., Pappas A. Biochem. J., 179, 1183, 1949.
21. Reddy S. R. R., Campbell J. W. Biochem. Biophys. Acta, 159, 537, 1968.
22. Reddy S. R. R., Campbell J. W. Biochem. L., 115, 495, 1969.
23. Reddy S. R. R., Campbell J. W. Comp. Biochem. Physiol., 32, 499, 1970.
24. Vielle-Breitburd F., Orth G. J. Biol. Chem., 247, 1227, 1972.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXVII, № 1, 1984

УДК 591.1.05

ИЗОЭНЗИМЫ АРГИНАЗЫ И ИХ КИНЕТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА У ГУСЕНИЦ И КУКОЛОК ФАСОЛЕВОЙ ЗЕРНОВКИ *ACANTHOSCELIDES OBTECTUS* SAY

А. Х. АГАДЖАНИ

У гусениц и куколок фасолевой зерновки обнаружены все ферменты орнитинового цикла. При гельфильтрации экстракта обнаружены два изофермента аргиназы у гусениц и один — у куколок. Сродство изоферментов к субстрату выше у гусениц. По характеру и константе ингибирования резко отличаются изоферменты аргиназы гусениц и куколок. По-видимому, 1 изоэнзим гусеницы участвует в процессе биосинтеза пролина.

Ключевые слова: зерновка фасолевая, изоэнзимы аргиназы, орнитиновый цикл.

Аргиназа обнаружена практически у всех насекомых. Однако ферменты орнитинового цикла и их субстраты найдены лишь у некоторых из них [6, 12]. Паулс и сотр. [13], изучая ферменты цикла мочевины у овощного жука *Nezara viridula*, обнаружили активную орнитин-транскарбамилазу, активность же карбамилфосфатсинтетазы у этого насекомого значительно ниже, ее удается обнаружить лишь при использовании радиоактивного субстрата. По мнению указанных авторов, наличие мочевины у насекомых обуславливается излишком аргинина в пище, расщепляемого аргиназой.