

ASPERGILLUS NIGER R-1-ի D-ԱՄԻՆԱԹՔԱՅԻՆ  
ՕՔՍԻԳԵՋԱՆԵՐԻ ԻՍՈԼՐՈՒՄԸ

Ս. Պ. ՀՈՎԱՆԵՍԻԱՆ, Մ. Ա. ԴԱՎԻԱՆ

Մշակվել է մեղասալի վրա աճեցրած *Asp. niger* R-1-ի բջիջների D-ամին-  
օքսիդազի սպիտականյութի մաքրման մեթոդը: Ֆերմենտար մաքրվել է տասն ան-  
գամ՝ 70 տոկոս ելքով:

PURIFICATION OF D-AMINOACID OXIDASES  
OF *ASPERGILLUS NIGER* R-1

S. P. HOVANESIAN, M. A. DAVTIAN

D-Aminoacid oxidase has been isolated and purified from the cell-free extracts of *Asp. niger* R-1, grown on the molasses. The degree of purification of the enzyme is 10, the yield is 70 per cent.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Давтян М. А., Оганесян С. П. Биолог. ж. Армения, 16, 11, 1983.
2. Kishore G., Vaidyanathan G. S. India J. Biochem. Biophys., 13 216, 1976.
3. Posenfeld M., Letter G., Edward H. Can. J. Biochem., 55, 1, 66, 1977.
4. Raunto R. P., Jenkins W. T. J. Bacteriol., 115, 25, 60, 1973a.

«Биолог. ж. Армения», т. XXXVII, № 5, 1984

УДК 591.1.05

ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗОФЕРМЕНТОВ  
АРГИНАЗЫ ПЕЧЕНИ, МОЗГА И ПОЧЕК  
В ЭМБРИОГЕНЕЗЕ КУР

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

Исследована электрофоретическая подвижность аргиназ экстрактов и отдельных ее пиков, полученных при гельфильтрации мозга, печени и почек в эмбриогенезе кур. В экстрактах мозга и печени всего эмбриогенеза аргиназная активность проявляется в двух полосах, мигрирующих к аноду и катоду. В почках 11-дневного эмбриона она обнаружена в одной из белковых фракций, мигрирующих к аноду, а у вылупившихся цыплят появляется дополнительная активность, движущаяся к катоду. В фореграммах экстрактов печени 6-дневного эмбриона аргиназная активность выявлена в одной из белковых фракций, мигрирующих к аноду, и в двух—к катоду, которые постепенно исчезают.

Ключевые слова: эмбриогенез кур, аргиназы, изоферменты, электрофорез.

Для изучения роли различных изоэнзимов аргиназы в метаболизме клетки, помимо метаморфозирующихся организмов [5, 6], удобным объектом является куриный эмбрион, который в процессе эмбриогенеза претерпевает смену типов азотистого катаболизма [9, 11].

Изоферментный спектр и индивидуальные особенности отдельных молекулярных форм аргиназы куриного эмбриона изучены недостаточно. Ранее нами было показано, что в ходе развития эмбриона изоэнзимный спектр аргиназы претерпевает значительные изменения [1—3]. Только у 4-, 6-дневных эмбрионов выявлена активность всех ферментов орнитинового цикла, которые локализованы в печени. Предполагается, что один из проявляющихся на данном этапе развития изоферментов аргиназы печени, который исчезает на поздних стадиях эмбриогенеза, функционирует в орнитиновом цикле и, следовательно, является уреотеллическим ферментом. Изоферменты же аргиназы, проявляющиеся на поздних стадиях развития, когда полный орнитиновый цикл отсутствует, очевидно, являются неуротеллическими.

*Материал и методика.* Объектом исследования служил эмбрион кур породы Лесгауда. Печень, мозг и почки исследовались в разные дни (6, 9, 11, 15, 18, 21 и) эмбриогенеза.

Разделение изоферментов аргиназы проводили методом дискэлектрофореза на полиакриламидном геле на приборе фирмы «Reanal», модель 69 [10]. Метод основан на приготовлении колонок из двух гелей различной плотности: верхнего — крупнопористого и нижнего — мелкопористого. На границе раздела гелей происходит концентрирование зон, что увеличивает разрешающую способность электрофореза. Разделение белков проводили в 7%-ном геле, pH 8,9, с использованием триглицидового электролитного буфера, pH 8,3; разгонка их от анода к катоду осуществлялась при силе тока 5 мА на трубку и напряжении 300 в. В качестве метки использовали 0,001%-ный раствор бромфенилового синего. Часть гелей с разделенными фракциями белков проявляли, поочередно в красящий раствор-фиксатор кумале синий (0,001%-ный раствор на 7%-ной уксусной кислоте). Промывали (многократно) в 7%-ном растворе уксусной кислоты. Другую часть гелей разрезали на сегменты по 3—4 мм каждый. Белки элюировали в 3,5 мл винилового буфера, pH 9,5, в течение 24 часов.

В элюатах определяли аргиназную активность ранее описанным методом [12].

*Результаты и обсуждение.* Ранее нами было установлено, что в печени куриного эмбриона из двух пиков аргиназной активности, выявленных (гельфильтрацией экстрактов) на ранних стадиях развития, второй пик — изофермент II — с 18-го дня исчезает. Предполагалось, что утрачивается активность той формы аргиназы, функция которой была связана с орнитиновым циклом. В почках, наоборот, перед вытуплением цыпленка, наряду с имеющимся пиком аргиназной активности — изофермент I, выявляется второй пик ее — изофермент II, совпадающий по молекулярной массе со вторым пиком печени и мозга. В экстрактах мозга во все исследованные сроки эмбрионального развития выявляются два пика аргиназной активности.

В исследованных тканях молекулярная масса и кинетические свойства ( $K_m$ ,  $K_i$ ) изофермента I идентичны. Различия в кинетических свойствах наблюдаются лишь у изофермента II [1—3].

Особый интерес представляет, на наш взгляд, константа Михаэлиса изофермента II печени, которая на начальных этапах развития эмбриона постепенно повышается от 5,0 мМ (4—6-дневный эмбрион) до 55 мМ (9-дневный эмбрион), а с 9-го дня развития резко повышается (в 10 раз). Приведенные данные дают основание предположить, что выявленный в печени изофермент II неоднороден.





му, активность одного из этих изоэнзимов ( $A_2$ ), имеющего сродство к субстрату в 10 раз ниже, чем  $A_1$  (5 и 55 мМ соответственно), исчезает.

Следует подчеркнуть, что первоначально электрофоретическое исследование активных фракций изофермента II тканей не дало полос с выраженной ферментативной активностью. Однако после повышения

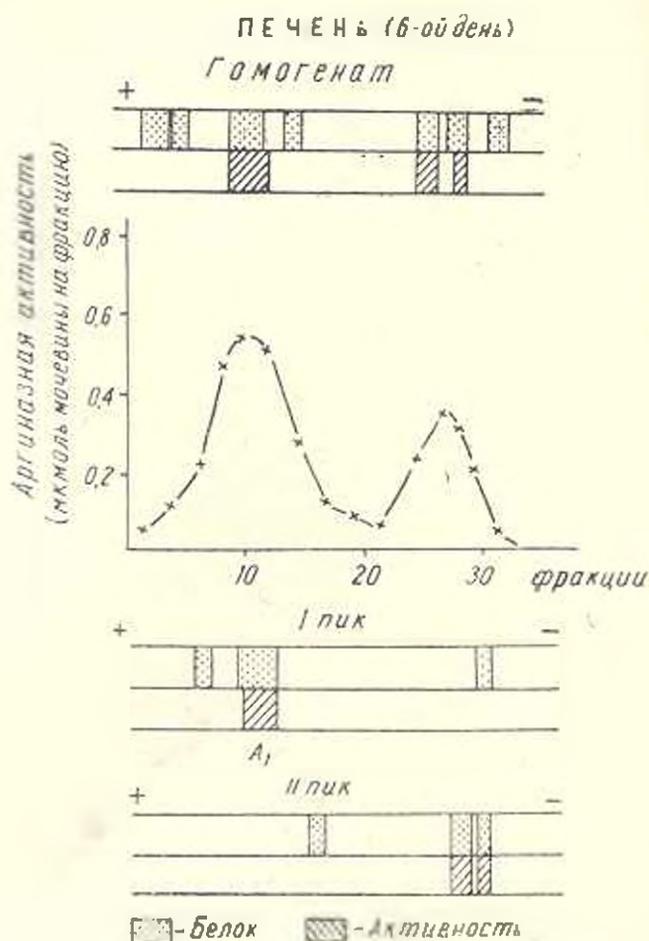


Рис. 3. Электрофореграммы экстракта печени эмбриона кур 6-го дня развития.

процента гомогената (50%-ный гомогенат), а также белковой и аминокислотной нагрузки (альбумин, уреазы, аргинин), которые, по-видимому, стабилизировали фракции изофермента II, стало возможным получение активных полос аргиназных активностей, мигрирующих к катоду. Полученные таким образом фореграммы полностью соответствуют фореграммам экстрактов тканей.

Результаты проведенных исследований могут явиться веским доказательством в пользу положения о том, что становление уреотелизма является результатом интеграции процесса биосинтеза аргинина со специфической аргиназой (уреотелической), которая функционирует наряду с имеющейся, более древней (неуреотелической) аргиназой [4]. Наши данные подтверждают вывод Пидхема [11] о «рекапитуляции» у

курниного эмбриона одного типа азотистого катаболизма в другой, в частности, о переходе от уреогелизма к урикогелизму на ранних стадиях эмбриогенеза, что ставилось под сомнение некоторыми авторами [8].

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

Получено 25.IV 1983 г.

**ՀԱՎԻ ՍԱԳՄՆԱՅԻՆ ԳԱՐԳՈՅԾԱՆ ԲՆԹՈՅՐՈՒՄ ԼՅԱՐԻ, ՈՒՂԵՂԻ ԵՎ  
ԵՐԿԻՍՈՒՆԵՐԻ ԱՐԳԻՆԱԶԻՆԱՅԻ ԵԶՈՅԵՐՄՆԵՏՆԵՐԻ ԷԼԵԿՏՐՈՖՈՐԵՏԻԿ  
ՌԵՍՈՒՐՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ**

Տ. Գ. ՀԱՐՄԻՅԱՆԻԱՆ, Ս. Ա. ԿԱՐԱՊԵՏԻԱՆ, Մ. Ա. ԴԱՎԻՅԱՆ

Հավի սաղմնային զարգացման բնթուցրում ուսումնասիրվել է ուղեղի, լյարդի և երիկամների արգինազայի մզվածքների և հեթիոտրայրաչալի ծածանակ սառչված նրա տաանձին գագաթների էլեկտրաֆորետիկ շարժունակութունը: Ուղեղի մզվածքում սաղմնային զարգացման բնթուցրում արգինազային ակտիվությունը հայտնաբերվել է 2 գոլով, որոնք տեղաշարժվում են զեպի անոդ և կատոդ: 11-օրական սաղմի երիկամներում արգինազային ակտիվությունը հայտնաբերվել է սպիտակուցային ֆրակցիաներից մեկում, որը տեղաշարժվում է զեպի անոդ, իսկ նոր դուրս եկած ճտերի մոտ ի հայտ է գալիս զեպի կատոդ տեղաշարժվող լրացուցիչ ակտիվություն: 6-օրական սաղմի լյարդի մզվածքի ֆորեգրամալում արգինազային ակտիվությունը գրանորվել է սպիտակուցային ֆրակցիաներից մեկում՝ տեղաշարժվող զեպի անոդ և երկուսում՝ զեպի կատոդ, որոնք աստիճանաբար անհետանում են:

**ELECTROPHORETIC INVESTIGATION OF LIVER, BRAIN AND KIDNEYS ARGINASE ISOENZYMES IN HEN EMBRYOGENESIS**

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

In the brain extracts during the embryogenesis the arginase activity is displayed in two gel-filtration bands. In 11th-day embryo kidneys the arginase activity is found in one of the protein fractions and an additional activity appears in hatched chickens. The arginase activity of 6th-day embryo liver extracts is revealed in phoregrams in one of protein fractions, migrating to the anode and in two — to the cathode, which disappear gradually.

**Л И Т Е Р А Т У Р А**

1. Арутюнян Т. Г., Карапетян С. А., Джакуджян Н. Дж. Биолог. ж. Армении, 34, 1, 1981.
2. Арутюнян Т. Г., Карапетян С. А., Байков В. А. Биолог. ж. Армении, 34, 8, 1981.
3. Арутюнян Т. Г., Карапетян С. А., Давтян М. А. Биолог. ж. Армении, 35, 12, 1982.
4. Давтян М. А. Докт. дисс., Ереван, 1970.
5. Давтян М. А., Никогосян Ф. Ц., Барсегян Э. Х. Биолог. ж. Армении, 27, 6, 1974.
6. Давтян М. А., Арутюнян Т. Г., Хачатрян М. А., Петросян А. Р. Биолог. ж. Армении, 34, 9, 1981.

7. Джакудзян Н. Дж., Арутюнян Т. Г., Хачатрян М. А., Давтян М. А. Межузловск. сб. науч. тр. «Биология», 1, 1980.
8. Дрейль К. А. Журн. эволюц. биохим. и физиол., 2, 446, 1966.
9. Козальский В. В., Аглавия А. Б., Луцкий Д. И., Лекарев В. С. ДАН СССР, 182, 5, 1968.
10. Davits B. J., Ornstein L. Deliv. at the Soc. for the Study of Blood at the New-York Acad. Med., 1953.
11. Needham J. Chemical embryology, 2. Cambridge Univ. Press., London, 1931.
12. Ratner S., Pappas A. Biochem. J., 179, 1183, 1949.

«Биолог. ж. Армении», т. XXVIII, № 5, 1984

УДК 634.0.237

## ВЗАИМООТНОШЕНИЕ МАССЫ НАДЗЕМНЫХ И ПОДЗЕМНЫХ ОРГАНОВ ГРУШИ КАВКАЗСКОЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВЫСОТЫ МЕСТОПРОИЗРАСТАНИЯ

П. А. ХУРШУДЯН, А. Д. ДУМНЯН

Показано, что максимальный рост груши в условиях Армении имеет место на высоте 1200—1400 м над ур. моря, где наблюдается наибольшая корнеобеспеченность надземных органов. Выше и ниже этого пояса в результате нарушения соотношения массы надземных и подземных органов рост деревьев постепенно подавляется.

*Ключевые слова* — груши кавказская, высоты местопроизрастания, бейдриметрические параметры, корнеобеспеченность деревьев, морфоструктурные изменения листьев.

Выращивание высокопродуктивных насаждений возможно в условиях, обеспечивающих наибольшую функциональную активность полярно расположенных органов растений — листьев и корней. Многолетние растения, особенно древесные породы, в процессе филогенетического развития приобрели свойство приспособляться к окружающей среде. Особенно важное значение имеет приспособительная пластичность корневой системы, во многом обуславливающей устойчивость и продуктивность древесных растений в тех или иных условиях произрастания [2, 16].

Целью настоящей работы являлось выявление особенностей роста корневой системы и ассимилирующих органов у груши кавказской, культивируемой на различных высотах над уровнем моря.

*Материал и методика.* Объектом исследования служили 10-летние лесонасаждения груши кавказской, культивируемой в бассейне р. Агстеп, на территории Нагевашского лесхоза и Дилижанского госзаповедника в пределах высот 800—2000 м над ур. моря. Почвенно-климатические условия строго подчинены вертикальной зональности. По данным Фигуровского и Багдасаряна [2, 16], здесь выделяются следующие климатические типы.

а) умеренно теплый климат с мягкой зимой, формирующийся на высоте 700—1000 м над ур. моря. Среднегодовая температура воздуха 9,2—10,6°, сумма годовых атмосферных осадков 537 мм;

б) умеренный климат с мягкой зимой, формирующийся на высоте 1000—1300 м над ур. моря. Среднегодовая температура воздуха +8°, сумма годовых осадков — 700 мм;