

1. Алексанян С. С., Галоян А. А. Биолог. ж. Армении, 30, 2, 1977.
2. Алексанян С. С., Галоян А. А., Путилина Ф. Е. ДАН АрмССР, 60, 4, 237, 1975.
3. Галоян А. А. ДАН АрмССР, 34, 3, 109, 1962.
4. Галоян А. А. Некоторые проблемы биохимии гипоталамической регуляции. Ереван, 1965.
5. Галоян А. А. Вопросы биохимии мозга, 3, 291, Ереван, 1967.
6. Галоян А. А., Саакян Ф. М. ДАН СССР, 201, 2, 483, 1971.
7. Галоян А. А., Алексанян С. С., Абелян Ж. Г., Бархударян Н. А. ДАН АрмССР, 60, 2, 117, 1975.
8. Галоян А. А., Алексанян С. С. ДАН АрмССР, 60, 5, 293, 1975.
9. Галоян А. А., Гурвиц Б. Я., Погосян М. А. Вопросы биохимии мозга, 11, 89, Ереван, 1976.
10. Галоян А. А., Гурвиц Б. Я. ДАН АрмССР, 65, 3, 173, 1977.
11. Галоян А. А., Алексанян С. С. ДАН АрмССР, 58, 3, 183, 1974.
12. Тарве У. С. 3-я Всесоюзн. конф. по биохимии нервной системы, 271—278, Ереван, 1963.
13. Barker S. B. and Summerson W. H. J. Biol. Chem., 138, 2, 535, 1941.

Поступило 7.XI 1985 г.

Биолог. ж. Армении, т. 39, № 9, с. 803—806, 1986

УДК 577.15:582.282.23:547.466

АРГИНИН-ГЛИЦИН ТРАНСАМИДИНИРОВАНИЕ В РАЗЛИЧНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТАХ

Г. Г. ЖАМГАРЯН, Э. А. МАНТАШЯН

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

Ключевые слова: катаболизм аргинина. L-аргинин:глицин-амидинотрансфераза.

Ферментативный перенос амидиновой группы от аргинина на глицин с образованием орнитина и гуанидинуксусной кислоты (ГУКА) достаточно подробно изучен при биосинтезе креатина [3]. Реакция на первом этапе катализируется ферментом L-аргинин:глицин-амидинотрансферазой (КФ 2.1.4.1), чаще именуемом трансамидиназой. На втором этапе метилирование ГУКА приводит к образованию энергетически важного для работы мышц соединения—креатина. Для объектов растительного мира наибольший интерес представляет первый этап, а именно образование орнитина, который, при участии N-ацетил-орнитинаминотрансферазы, превращается в дальнейшем в полуальдегид глутаминовой кислоты или пролин, включаясь тем самым в аминокислотный обмен клетки [4]. Для гриба *Panus tigrinus*, лишенного, по литературным данным, аргиназной активности, утилизация аргинина осуществляется исключительно трансамидиназным путем, и только в случае низких концентраций ^{14}C -аргинина в ростовой среде могут иметь место декарбоксилирование и переаминирование [8].

В урсотелических организмах (крысы) трансамидиназа сосредоточена главным образом в почках и поджелудочной железе [9], в урико-

телических (птицы) — в почках и печени [5], у человека — в почках и поджелудочной железе, а также в печени, мозге, мышцах и других тканях [6, 11, 13].

В растениях, грибах и бактериях роль трансаминирования почти не изучена. Об очень незначительной активности у *Escherichia coli*, *Torulopsis utilis*, *Aspergillus niger*, *Penicillium sporogenes* имеются сведения в различных работах Хокера [14]. Высшая активность отмечалась у *Streptomyces griseus* [12], *Klebsiella aerogenes* [4], *Penicillium tigrinus* [8]. Ранее уже сообщалось об обнаружении трансаминазной активности в винных дрожжах [2]. В связи с этим представлялось целесообразным проведение предварительных исследований для решения вопроса о выборе в качестве источника трансаминазы подходящего микробиологического объекта, способного к тому же удовлетворять требованиям препаративной энзимологии.

Материал и методика. В нашей работе, проведенной в 1981—86 гг., были использованы: винные дрожжи рода *Saccharomyces* из Всесоюзной коллекции микроорганизмов, выделенные из виноградного сусла (представлены под номерами); местная раса Кахури-7, применяемая в шампанском производстве; дрожжи вида *Saccharomyces oviformis* и *Sacch. italicus*, а также *Schizosaccharomyces* из коллекции дрожжей кафедры биохимии ИГУ; пекарские дрожжи (XI раса) из заводской лаборатории.

Дрожжи выращивали на синтетической минеральной среде Ридера с добавлением 0,5% дрожжевого экстракта. Через 16—18 ч роста (экспоненциальная фаза) в условиях интенсивного аэрирования на качалке клетки отделяли от культуральной жидкости центрифугированием, дважды промывали холодной водой и один раз 0,067 М калий-фосфатным буфером, pH 7,4, и замораживали при -18° . *Neurospora crassa* культивировали на среде Чапек с добавлением дрожжевого экстракта (0,5%) в условиях аэрирования в течение 48 ч; *A. niger* — тем же способом на среде Роллена в течение 48 ч; *Streptococcus faecalis* — на полусинтетической среде Аняна в условиях анаэробно-аэрирования [1]. *Chlorella pyrenoidosa* была получена из Института гидропонии АН АрмССР. Семена пыльных растений предварительно замачивали на 18 ч в чашках Петри. *P. tigrinus* культивировали на среде Чапек с добавлением дрожжевого экстракта (0,5%) и тиамина (0,5 мг/л) в условиях аэрирования в течение 10 суток. Все виды дрожжей выращивали при температуре 25—27°, грибы — при 24°.

Экстракция фермента. Размороженные дрожжевые клетки ресуспендировали в буфере, содержащем ЭДТА (5 мг/мл), до 20% концентрации и подвергали разрушению с помощью дезинтегратора марки Brawn-Labsonic в течение 15 мин. Грибы и семена пыльных растений разрушали в гомогенизаторе типа Поттер-Эльвуджейма в течение 3 мин. С момента разрушения клеток все операции проводили при 2°. После двухкратную экстракцию фермента вели при перемешивании в течение 2,5 ч. Гомогенаты центрифугировали при $15000 \times g$ 15 мин. Ферментативную активность определяли в исходных гомогенатах, в надосадочной жидкости (растворимая фракция) и в осадке, ресуспендированном в том же буфере + ЭДТА.

Определение ферментативной активности вели по Ван-Пилсуму [10], с некоторыми видоизменениями: белок после окончания реакции осаждали добавлением аликвотного количества охлажденной 20%-ной ТХУ с последующим центрифугированием. Продукт реакции — ГУКА определяли методом Сакагучи в модификации Томлинсона [7]. Количество ГУКА находили по калибровочной кривой, построенной с помощью стандартного раствора, содержащего 0,01—1,0 мкмоль ГУКА/мл раствора.

Трансаминазную активность выражали в мкмоль синтезированной ГУКА на 100 мг абсолютно сухих дрожжей и на 1 г сырой ткани.

Результаты и обсуждение. В табл. I представлены экспериментальные данные, полученные на 15 видах дрожжей.

Таблица 1. Трансамидиназная активность в дрожжевых микроорганизмах, мкмоль ГУКА на 100 мг абс. сух. дрожжей ($n=6$)

Объект	Исходный гомогенат	Растворимая фракция	Осадок
<i>Sacch. uini</i> (Кахури—7)	0.723 $\pm$ 0.024	0.845 $\pm$ 0.023	0.111 $\pm$ 0.014
<i>Sacch. oviformis</i>	3.683 $\pm$ 0.117	0.813 $\pm$ 0.054	2.426 $\pm$ 0.083
<i>Sacch. cerev.</i> (пекарск.)	3.329 $\pm$ 0.092	0.609 $\pm$ 0.022	0.427 $\pm$ 0.021
<i>Sacch. italicus</i>	0.216 $\pm$ 0.014	0.465 $\pm$ 0.021	0.144 $\pm$ 0.009
<i>Sacch. cerev.</i> Y—356	4.755 $\pm$ 0.106	2.361 $\pm$ 0.048	0.531 $\pm$ 0.019
<i>Sacch. cerev.</i> Y—438	2.326 $\pm$ 0.058	0.183 $\pm$ 0.008	0.163 $\pm$ 0.004
<i>Sacch. cerev.</i> Y—512	3.603 $\pm$ 0.085	1.153 $\pm$ 0.070	0.319 $\pm$ 0.021
<i>Sacch. cerev.</i> Y—524	0.630 $\pm$ 0.021	0.311 $\pm$ 0.011	0.259 $\pm$ 0.021
<i>Sacch. cerev.</i> Y—580	1.494 $\pm$ 0.074	0.632 $\pm$ 0.031	0.809 $\pm$ 0.039
<i>Sacch. cerev.</i> 2117 BY—47	1.875 $\pm$ 0.067	0.144 $\pm$ 0.013	0.474 $\pm$ 0.035
<i>Sacch. cerev.</i> 2118 Y—50	1.189 $\pm$ 0.027	0.607 $\pm$ 0.021	0.469 $\pm$ 0.019
<i>Sacch. cerev.</i> 2119 Y—52	2.303 $\pm$ 0.122	0.458 $\pm$ 0.038	0.416 $\pm$ 0.024
<i>Sacch. cerev.</i> 2120 Y—54	2.911 $\pm$ 0.037	1.329 $\pm$ 0.049	0.161 $\pm$ 0.025
<i>Sacch. cerev.</i> 2123 Y—63	4.419 $\pm$ 0.209	0.788 $\pm$ 0.111	0.393 $\pm$ 0.029
<i>Schizosacch. pombe</i> L.	2.411 $\pm$ 0.044	0.765 $\pm$ 0.060	0.147 $\pm$ 0

Обращает на себя внимание в первую очередь относительно невысокий выход фермента в растворимую фракцию. У всех испытываемых видов, за некоторым исключением, он составляет 0.4—0.8 мкмоль. Фактически полностью извлечен фермент из *Sacch. uini* (Кахури—7) и *Sacch. italicus*; половина исходной активности переведена в растворимую фракцию из *Sacch. cerev.* Y—356, Y—524, 2118 Y—50, 2120 Y—54, Y—580. Трудности разрушения клеточной стенки обусловили, вероятно, весьма невысокий выход фермента из *Sacch. oviformis*, *Sacch. cerevisiae* (пекарские), Y—433, 2117 Y—47, 2119 Y—52, 2123 Y—63, о чем свидетельствует и обнаруженная в осадке низкая активность фермента испытанных культур.

Большой интерес для последующего изучения физико-химических свойств дрожжевой трансамидиназы представляют культуры, отличающиеся относительно высоким выходом фермента в растворимую фракцию: *Sacch. cerev.* Y—356 (50% выхода), Y—54 (44%) и Y—512 (31%).

В табл. 2 представлена трансамидиназная активность плесневых грибов, водорослей, семян высших растений.

Следует выделить мицелиальную трансамидиназу красной хлебной плесени *N. crassa*, где активность довольно легко переподится в раство-

Таблица 2. Трансамидиназная активность в различных биологических объектах, мкмоль ГУКА на 1 г сырой ткани ($n=6$)

Объект	Исходный гомогенат	Растворимая фракция	Осадок
<i>Neurospora crassa</i> ВКМ F—184	8.629 $\pm$ 0.595	5.578 $\pm$ 0.637	2.753 $\pm$ 0.124
<i>Panus tigrinus</i>	24.780 $\pm$ 1.709	13.800 $\pm$ 1.641	4.480 $\pm$ 0.512
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	1.140 $\pm$ 0.101	2.807 $\pm$ 0.216	0.569 $\pm$ 0.029
<i>Aspergillus niger</i>	нет		
<i>Streptococcus faecalis</i>	нет		
<i>Candida chevalieri</i> *	0.497 $\pm$ 0.016	0.060 $\pm$ 0	0.144 $\pm$ 0
<i>Pisum sativum</i> (семена)	1.319 $\pm$ 0.039	1.914 $\pm$ 0.059	0.807 $\pm$ 0.068
<i>Medicago sativa</i> (семена)	8.936 $\pm$ 0.734	5.120 $\pm$ 0.115	1.116 $\pm$ 0.050
<i>Onobrychis altissima</i> (семена)	4.382 $\pm$ 1.226	1.141 $\pm$ 0.175	2.336 $\pm$ 0.089

*—мкмоль ГУКА на 100 мг абс. сух. дрожжей.

римую фракцию (до 65%) и является в этом плане удобным объектом исследований. Особо необходимо отметить трансамидиназу из мицелия гриба *P. tigrinus*. Столь высокую активность фермента мы обнаруживали лишь в почках крыс [2]. Высокий выход фермента в растворимую фракцию позволяет получить его в препаративных количествах и использовать для изучения физико-химических свойств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аманян Л. Г., Асатрян М. О., Давтян М. А. Биолог. ж. Армении, 30, 10, 1977.
2. Мақташян Э. А., Жамгарян Г. Г., Давтян М. А. Биолог. ж. Армении, 34, 11, 1119, 1981.
3. Borsook H. and Dubnoff J. W. JBC, 138, 389, 1941.
4. Friedrich B., Magasanik B. J. Bacteriol., 133, 686, 1978.
5. Grast E., Margri E., and Balboni G. Eur. J. Biochem., 60, 431, 1975.
6. Methfessel J. Acta Biol. Med. Germ., 35, 309, 1976.
7. Tomlinson G., Viswanatha T. Analit. Biochem., 60, 1, 15, 1973.
8. Uhlemann A. Biochem. Physiol. Pflanzen, 171, 33, 1977.
9. Van Pilsum J. F., Olsen B., Taylor D., Rozycki T. and Pierce J. C. Arch. Biochem. Biophys., 100, 520, 1963.
10. Van Pilsum J. F., Mc Culre D., Jowle H. Advances in Experimental Medicine and Biology, 153, 291, 1982.
11. Walker J. B. Proc. Soc. Exp. and Med., 98, 7, 1958.
12. Walker J. B. JBC, 231, 1, 1, 1958.
13. Walker J. B. and Walker M. S. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 191, 807, 1959.
14. Walker J. B. Federation Proc., 18, 346, 1959.

Поступило 29.V 1986 г.

Биолог. ж. Армении, т. 39, № 9, с. 806—811, 1986

УДК 576.851.252

О ПЕРЕНОСЕ *STREPTOCOCCUS BOVIS* ORLA—JENSEN И РОДСТВЕННЫХ ВИДОВ В РОД *VIRIDOCOCCUS* GEN. NOV. В СВЯЗИ С ИНВЕНТАРИЗАЦИЕЙ ФЛОРЫ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ СССР

С. Ш. ТЕР-КАЗАРЬЯН, П. С. ТЕР-СИМОНЯН

Ереванский зооветеринарный институт

Ключевые слова: инвентаризация бактериальной флоры, новый род стрептококковых *Viridococcus*.

В основу систематики видов стрептококков, принятых определителем Берги [9], положено подразделение рода на четыре группы [13], которые не имеют ни статуса систематических групп, ни названий. Нами было предложено придать этим группам ранг подрода [4, 5] с названиями *Enterococcus*, *Lactostreptococcus*, *Viridostreptococcus* (название подрода гиоеродных стрептококков оказалось незаконным). Однако в последнее время этим группам придают ранг рода—уже выделены роды энтерококков [11] и лактококков [12].

В секторе микробиологии в течение ряда лет исследуются вопросы видового состава молочнокислых бактерий («Новые виды м.-к. бактерий, описанные в СССР, в свете современных схем идентификации» [5],