

10. Россин Я. А. В кн.: Физиология гисто-гематических барьеров. М., 1977.
11. Слепушкин В. Д., Лишников Ю. Б., Золотов Г. К., Прун Н. А. Успехи физиол. наук. 16, 4, 106, 1985.
12. Судакос К. В. В кн.: Системные механизмы эмоционального стресса. М., 1981.
13. Тонких А. В. Успехи физиол. наук, 7, 2, 3, 1976.
14. Худавердян Д. Н., Азгальян Н. Р., Бакинц Г. Г. Биолог. ж. Армении, 31, 8, 821, 1981.
15. Худавердян Д. Н., Арцруни Г. Г., Тер-Маркосян А. С., Овсепян Р. С. Биол. экперим. биол. я мед., ХСVII, 3, 257, 1984.
16. Худавердян Д. Н. и др. Отчет ОННР, инв. № 0286.0013127, Ереван, 1985.
17. Ganong W. F. Ann. N. Y. Acad. Sci., 297, 509, 1977.
18. Guzman A., Costa E. Biochem Pharmacol., 26, 817, 1977.
19. Vermes I., Telegdy G. Results In Neurochem., Neuroendocrinol., Neurophysiol. and Behaviour Neuropharmacol., Neuropathol., Cybern. Budapest, Acad. klado, 25, 1976.
20. Wurtman R., Axelrod J. J. Biol. Chem., 241, 2301, 1966.

Поступило 20.X.1986 г.

КИНЕТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА АРГИНАЗЫ ЖУКОВ ФАСОЛЕВОЙ ЗЕРНОВКИ *ACANTHOSCELIDES OBTECTUS* SAY.

Док. Г. ГУКАСЯН, А. Х. АГАДЖАНИЯ, М. А. ДАВТЯН

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

Аннотация — Изучена аргиназа жуков фасолевой зерновки *Acanthoscelides obtectus* Say. Обнаружен один фермент аргиназы, который проявляет высокие свойства к субстрату. Лизин и пролин являются неконкурентными ингибиторами аргиназы, а орнитин и валин — конкурентными. Неконкурентный характер ингибирования аргиназы пролином свидетельствует о возможном функционировании ферментов в системе биосинтеза пролина из аргинина.

Անոտացիա — Ուսումնասիրվել է լորտի ընդակերի *Acanthoscelides obtectus* Say բնկզների արգինազան. Հայտնաբերվել է արգինազայի մեկ ընդակերմենտ, որը արտադրատի նկատմամբ ցուցաբերում է մեծ խնամակցություն: Լիզինը և պրոլինը համարվում են բնկզների արգինազայի ոչ մրցակցային. իսկ օրնիթինը և վալինը՝ մրցակցային ընկճողներ: Նշված արգինազայի ոչ մրցակցային ընկճումը պարզեցված մկատում է պրոլինի բնույթնեկի պրոցեսում նրա հետարավոր մասնակցություն մասին:

Abstract—The arginase of haricot beetle *Acanthoscelides obtectus* Say has been studied. An enzyme of arginase is discovered, which shows higher affinity to the substratum. Lysin and proline appear non-competitive inhibitors of arginase, whereas ornithine and valine-competitive. Non-competitive character of arginase inhibition by proline indicates the possible functioning of enzyme in the system of biosynthesis of proline from arginine.

Ключевые слова: аргиназа, фасольная зерновка

Известно, что набор изоэнзимов резко меняется в метаморфозирующих насекомых. С этой точки зрения большое значение имеет изучение

сравнительно недавно открытого неуреотелического изоэнзима аргиназы. Изоэнзимы аргиназы подробно изучены в печени [8], в молочной железе крысы [2, 17] и у многих других уреотелических организмов. Изоэнзимы неуреотелических организмов, в частности насекомых, изучены недостаточно. Давтян и соотр. обнаружили три изоэнзима аргиназы у тутового шелкопряда, проявляющиеся в различной степени на разных стадиях развития организма [6].

Два изоэнзима указанного фермента обнаружены у личинок и одной куколки фасолевой зерновки. Сродство фермента к субстрату у куколки в 10 раз слабее, чем у личинок [1]. В данной работе приводятся результаты изучения изоэнзимного спектра и некоторых кинетических свойств аргиназы жуков фасолевой зерновки *Acanthoscelides obtectus* Say.

Материал и методика. Готовили 10%-ный гомогенат жуков на смеси, состоящей из 20 мМ KCl и 80 мМ глицинового буфера (pH 9,5), в стеклянном гомогенизаторе типа Потер-Эльведжейма. Разделение белков проводили на колонке с сефадексом G-150, уравновешенной 0,05 М трис-HCl буфером. Объем нанесенного на колонку супернатанта составлял 3 мл. Аргиназную активность определяли методом Ратнер [15] путем инкубирования в присутствии 50 мкМ L-аргинина и 5 мкМ $MnCl_2$ с последующим определением мочевины методом Арчибалда [9].

Константу Михаэлиса (K_m) определяли графическим методом Лайнуивера-Бурка. Были использованы следующие концентрации субстрата: 12, 24, 40, 50, 70, 90 мкМ.

Константу ингибирования (K_i) определяли графическим методом Диксона, при этом аргинин применяли в концентрациях 40 и 80 мкМ. В качестве ингибиторов аргиназы использовали L-орнитин, L-валин, L-пролин. Из разветвленных аминокислот использовали L-валин. Все аминокислоты-ингибиторы применяли в концентрациях 6, 12, 20, 30 мкМ.

Молекулярный вес аргиназы жуков определяли гельфильтрацией на сефадексе G-200 на основании элюционного графика белков с известными молекулярными весами (пепсин, гемоглобин, цитохромоксидаза, уреаза).

Результаты и обсуждение. Определение изоэнзимного спектра аргиназы жуков фасолевой зерновки в 1-й, на 5-, 8-, 12-й дни после вылуп-

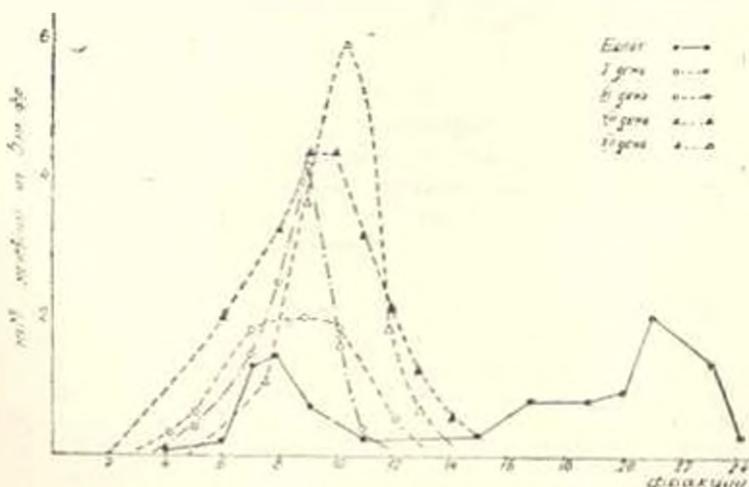


Рис. 1. Фракционирование экстракта аргиназы жуков фасолевой зерновки. Личинки выявили один энзим аргиназы, фильтрующийся с высокомолекулярными белками на фоне выраженных двух пиков белка (рис. 1). Сопоставляя эти данные с результатами исследований, проведенных в на-

шей лаборатории на личинках и куколках фасолевой зерновки [1], можно сказать следующее: у личинок присутствуют все ферменты орнитинового цикла, и аргиназа представлена двумя изоэнзимами—высокомолекулярным и низкомолекулярным, а у куколок и жуков отсутствуют ферменты этого цикла, и аргиназа представлена лишь одним высокомолекулярным изоэнзимом. Очевидно, последний является неуротелическим изоэнзимом и, возможно, обеспечивает процесс биосинтеза пролина из аргинина. При этом выявляется четкая корреляция между активностью указанного изоэнзима аргиназы и процессом биосинтеза пролина из орнитина на различных этапах онтогенеза. В частности, эти показатели наиболее выражены у личинок и сравнительно слабее—у куколок и имаго.

Нами определены K_m единственного энзима аргиназы жуков (табл. 1).

Таблица 1. Константы Михаэлиса аргиназы жуков фасолевой зерновки

Дни вылупления	K_m , мМ	Дни вылупления	K_m , мМ
1	10.0	8	20.2
3	12.1	12	22.2

Данные показывают, что сродство фермента к субстрату уменьшается с возрастом жуков. Это наводит на мысль о том, что высокомолекулярный изоэнзим неоднороден и в процессе развития компоненты проявляют неодинаковую активность. Это предположение нуждается в более углубленном исследовании. Результаты, однако, позволяют и на данном этапе исследований утверждать, что по сродству к субстрату аргиназа жуков фасолевой зерновки близка к таковой жирового тела шелковичной моли [16], дрожжей [11], аэробных инфузорий [7] и др. Основываясь на этих данных, можно сказать, что утверждение Мора и сотр. [14] о более низком сродстве неуротелической аргиназы к субстрату, по сравнению с уротелической, очевидно, неправомерно.

Для установления характера и константы ингибирования отдельных изоэнзимов, полученных путем гельфильтрации, мы выбрали орнитин, лизин, валин, пролин (табл. 2, рис. 2).

Таблица 2. Характер и константы ингибирования аргиназы жуков фасолевой зерновки

Аминокислоты	K_i , мМ	Характер ингибирования
L—орн	12.2	Конкурентный
L—лиз	1.8	Неконкурентный
L—вал	4.1	Конкурентный
L—про	16.4	Неконкурентный

Как видно из приведенных данных, лиз и про являются неконкурентными ингибиторами аргиназы жуков, а орн и вал—конкурентными. Не-

конкурентное ингибирование аргиназы лизином — редко встречающееся явление. Подобный характер ингибирования установлен также в отношении II изоэнзима аргиназы личинок фасолевой зерновки [1].

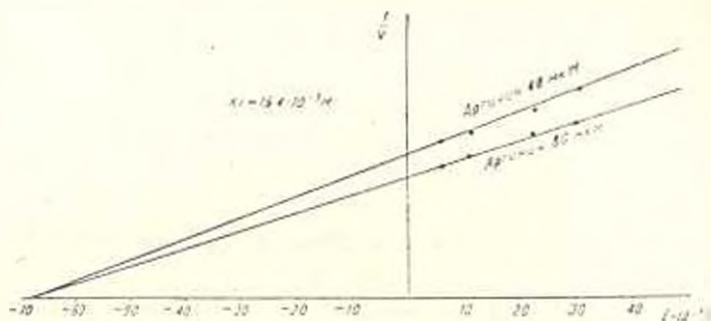


Рис. 2. Ингибирующее влияние L-пролина на аргиназу жуков фасолевой зерновки (12-й день развития)

Особый интерес представляет некокурентное ингибирование аргиназы жуков пролином, выявленное также у аэробных инфузорий [7], в молочной железе беременных и лактирующих крыс [4], у дождевого червя [5]. Некокурентный характер ингибирования пролином доказан в отношении I изоэнзима личинок и единственного изоэнзима куколок, тогда как II изоэнзим личинок фасолевой зерновки ингибируется конкурентно. Некокурентный характер ингибирования аргиназы жуков фасолевой зерновки пролином, по-видимому, свидетельствует о функционировании фермента в системе биосинтеза пролина.

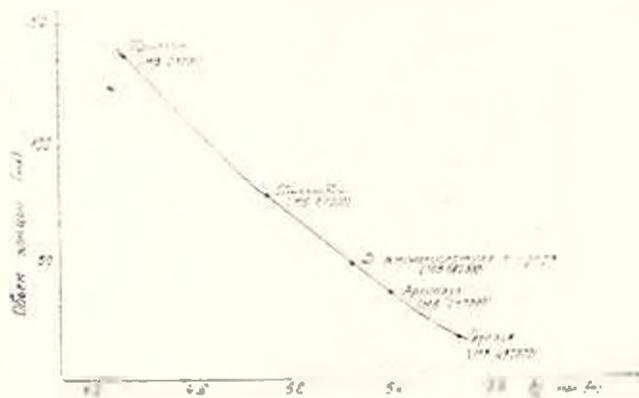


Рис. 3. Калибровочная кривая определения молекулярного веса аргиназы жуков фасолевой зерновки.

Следует добавить также, что четкая положительная корреляция выявлена нами ранее между аргиназой и ферментами биосинтеза пролина на уровне целого гомогената в процессе развития жуков [3].

K_i для L-лизина близка к таковой аргиназы дождевого червя — 0,87–1,12 мМ [5], печени быка—1,53 мМ [10], печени овцы—2,2 мМ [12], для L-пролина — к константе ингибирования аргиназы дождевого червя—14,5–15,3 мМ [5], опухолей молочной железы крыс—20,1 мМ [13], I изоэнзима личинок—17,42 мМ и единственного энзима куколок

фасолевой зерновки—18,7 мМ. Примечательно, что величины K_i I изоэнзима аргиназы на всех стадиях метаморфоза фасолевой зерновки поразительно схожи. А что касается K_i II изоэнзима личинок для пролина, то абсолютное значение ее намного ниже такового I изоэнзима. Именно этот низкомолекулярный фермент отсутствует как у куколок, так и у жуков. По-видимому, он и функционирует в ориентированном цикле личиночной стадии фасолевой зерновки [1].

Нами определен и молекулярный вес аргиназы жуков фасолевой зерновки, который оказался равным 257000 (рис. 3). Таким образом, молекулярный вес этой аргиназы близок к аналогичному показателю аргиназ многих неуротелических организмов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян А. Х. Биолог. ж. Армении, 37, 1, 1984.
2. Агаджанян А. Х., Арутюнян Л. М. Биолог. ж. Армении, 32, 12, 1979.
3. Агаджанян А. Х., Арутюнян Л. М., Гикасян Дж. Г. Биолог. ж. Армении, 33, 6, 1980.
4. Арутюнян Л. М., Агаджанян А. Х. Биолог. ж. Армении, 34, 2, 1981.
5. Гаспарян Х. Г. Мол. научн. работник, 36, 2, Ереван, 1982.
6. Давтян М. А., Арутюнян Г. Г., Хачатрян М. А. Биолог. ж. Армении, 29, 7, 1976.
7. Заробян Т. Я., Агаджанян А. Х., Давтян М. А. Биолог. ж. Армении, 29, 6, 1976.
8. Трапезникова С. С., Навасардянц Д. Г., Давтян М. А. Биохимия, 17, 12, 1982.
9. Archibald R. M. Biol. Chem., 156, 121, 1944.
10. Campbell J. W. Comp. Biochem. Physiol., 18, 179, 1966.
11. Chan P. Y., Cassius E. A. Plant. Cell. Physiol., 14, 641, 1973.
12. Kesava Rao R. V., Reddy S. R. R., Swami R. S. Int. J. Biochem., 4, 62, 1973.
13. Kesava Rao R. V., Pai S. R., Bapat C. V. Br. J. Cancer, 30, 129, 1974.
14. Mura J., Tarrab R., Martuselli J., Suberon O. Biochem. J., 96, 588, 1965.
15. Rainet S., Morrel H., Garavaiho E. Arch. Biochem. Biophys., 91, 280, 1950.
16. Reddy S. R. R., Campbell J. W. Biochem. J., 115, 495, 1969.
17. Yip M. C. M., Kays W. E. Biochem. J., 127, 848, 1972.

Поступило 11.11 1986 г.

Биолог. ж. Армении, т. 40, № 5, 377—382, 1987 УДК 616.45—001.1/3:612.2+577.163.8

БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПОД ВЛИЯНИЕМ НИЗКОЧАСТОТНЫХ АКУСТИЧЕСКИХ КОЛЕБАНИЙ

М. М. МЕЛКОНЯН, Г. Г. ЗАКУТОВ, Е. А. МЕЛНИК-МЛЕВА,
А. Б. АФРИКЯН, В. Г. МХИТАРЯН

Ереванский государственный медицинский институт

Аннотация — Изучено влияние низкочастотных акустических колебаний на процессы перекисного окисления липидов и состояние антиоксидантной системы в мозге, печени и сердце. Показала двухфазность действия α -токоферола.

Отмечается рост фоновых липидных перекисей, подавление процессов ферментативного ПОЛ, фазность сдвигов в активности ферментов глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, супероксиддисмутазы и липокси-6-фосфатдегидрогеназы. Интенсивность и направленность сдвигов зависят от длительности воздействия и вида ткани.