

можно объяснить развитием интегративных механизмов мозга млекопитающих. Обобщая большой экспериментальный и литературный материал, Батуев [2] выделяет в пределах класса млекопитающих несколько уровней эволюции ассоциативных функций мозга, подчеркивая, что грызуны характеризуются наиболее слабой структурной дифференцировкой коры больших полушарий на проекционные и ассоциативные поля. Причиной сравнительно низкого уровня аналитико-синтетической деятельности крыс является известная диффузность распределения афферентных систем в их головном мозгу.

ЛИТЕРАТУРА

1. Адавашивили Н. М., Орджоникидзе Ц. А. Ж. высш. нервн. деят., 35, 1, 1985.
2. Батуев А. С. Биолог. ж. Армении, 25, 6—7, 1972.
3. Батуев А. С. Неврофизиология коры головного мозга. Л., 1984.
4. Бериташвили Н. С. Память позвоночных животных, ее характеристика и происхождение. М., 1974.
5. Буреш Я., Бурешова О. Тез. конф. «Совр. пробл. физиол. нервн. и мышечн. систем». Тбилиси, 1985.
6. Гогоберидзе М. М. Ж. высш. нервн. деят., 25, 3, 1985.
7. Конорски Ю. Интегративная деятельность мозга. М., 1970.
8. Лурия А. Р. Высшие корковые функции человека. М., 1962.
9. Нагшивили Т. А. Ж. высш. нервн. деят., 36, 1, 1986.
10. Никитин В. С. Ж. высш. нервн. деят., 37, 2, 1987.
11. Орлов А. А., Курина Н. П., Шугтов А. П. Ж. высш. нервн. деят., 37, 2, 1987.
12. Прибрам К. Ямки мозга. М., 1975.
13. Философ Л. А. Механизмы условно-рефлекторного и отсроченного поведения у обезьян. Л., 1979.
14. Хачикановичи М. М. Экспериментальная физиология высшей нервной деятельности. М., 1978.
15. Хачикановичи М. М., Сукнидзе Ц. Г. Ж. высш. нервн. деят., 28, 2, 1978.

Поступило 23.X 1987 г.

Биолог. ж. Армении, т. 41, № 7, 1988 г.

УДК 577.15.591.8

НЕКОТОРЫЕ ВОПРОСЫ ТЕРМОСТАБИЛЬНОСТИ АСПАРАГИНАЗЫ ДРОЖЖЕЙ *CANDIDA GUILLIERMONDII* ВКМ-У-42

К. Р. СТЕПАНИН, М. А. ДАВТЯН

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

Для проявления активности аспарагиназы дрожжей *Candida guilliermondii* ВКМ-У-42 оптимальной является температура около 45°, при 60° в течение 15 мин фермент полностью теряет активность. L-аспарагин защищает белковую молекулу аспарагиназы от термоинактивации. Для восстановления биологической активности термоинактивированной молекулы аспа-

рагиназы необходимы присутствие природного субстрата—L-аспарагина, определенный промежуток времени (не менее 6 ч) и температура 37°.

Candida guilliermondii ВКМ-У-42 *խմորասնկերի ստացարարներն* զայի կտրվելուց հետո 60-15 րոպ. տեղում պայմաններում խմորասնկերը ինկուբացնելիս ֆերմենտը կորցնում է ակտիվությունը: L-ասպարագինը ֆերմենտին պահպանում է չեղանակարկազից: Հերմաինակարկազի ներկայից ապարդիւնազի կենսաբանական ակտիվությունը վերականգնելու համար անհրաժեշտ են նրա բնական ստացարարի՝ L-ասպարագինը ներկայությունը, մասնակի որոշակի տեղություն (6 ժամից ոչ պակաս) և 37° չեղանակը:

Optimum temperature for the display of asparaginase activity of yeasts *Candida guilliermondii* ВКМ-У-42 is about 40°; at 60° during 15 min. the enzyme loses its activity. L-asparagine protects the protein molecule of asparaginase from the inactivation. The presence of natural substratum (L-asparagine), a definite interval of time (not more than 6 hours) and temperature 37° are necessary for the re-establishment of biological activity of thermoinactivated molecule.

Дрожжи—аспарагиназы—денатурация.

Ранее нами было показано, что аспарагиназа дрожжей стабильна при температуре жидкого азота—196°, тогда как некоторые белки и другие макромолекулы дрожжевой клетки при замораживании даже при—8, —10° переходят в осадок. При этом не исключена возможность и денатурирования белков.

Аспарагиназа высушенных дрожжевых клеток термостабильна. При хранении их в условиях 110° в течение 24 ч сохраняется примерно 63% исходной активности [1].

В настоящей работе представлены результаты изучения зависимости аспарагиназной активности дрожжей от температуры, влияния L-аспарагина на термостабильность фермента и восстановления его активности после термoinактивации.

Особый интерес представляют данные сравнительного исследования указанных свойств фермента у высушенных клеток и водного экстракта дрожжей, так как в этих случаях фермент находится как бы в разных биологических условиях. Высушенные клетки содержат почти все химические компоненты, гистологически зафиксированные в исходном состоянии. Постепенное гидрирование сухих клеток в процессе инкубирования приводит окружение ферментов к состоянию, близкому к нативному, чего нельзя сказать о водном экстракте.

Материал и методика. Выращивание дрожжей *Candida guilliermondii* ВКМ-У-42 и определение ферментативной активности проводилось по ранее описанным методикам [3]. Ферментными препаратами служили высушенные целые дрожжевые клетки, гомогенат и водный экстракт нативных дрожжей.

Влияние условий инкубации на термостабильность аспарагиназы дрожжей определяли при 30-минутной инкубации ферментного препарата с субстратом—L-аспарагином в буферной среде (контроль), 2—15-минутной прединкубации ферментного препарата с добавлением L-аспарагина и дальнейшей инкубации еще в течение 30 мин. Температура инкубации—37° и 50°.

Результаты и обсуждение. Изучение зависимости аспарагиназной активности дрожжей от температуры инкубации показало, что для про-

явления активности аспарагиназы оптимальной является температура около 45°, а при 60° фермент полностью теряет активность.

Подобная температурная зависимость выявлена и в гомогенате и в водном экстракте нативных дрожжей.

Таблица 1. Аспарагиназная активность дрожжей при разных условиях инкубации

Ферментный препарат	Температура инкубации, °С	Варианты инкубации	Активность аспарагиназы, NH ₃	%
Высушенные целые клетки	37	1	136	100
		2	132	97
	50	1	143	100
		2	91	64
Гомогенат нативных дрожжей	37	1	142	100
		2	139	98
	50	1	119	100
		2	61	41
Водный экстракт нативных дрожжей	37	1	175	100
		2	172	98
	50	1	186	100
		2	95	51

Из данных табл. 1 видно, что при 37° активность аспарагиназы почти одинакова независимо от варианта инкубации. В то же время в случае инкубации ферментных препаратов при температуре 50° с предынкубацией их без L-аспарагина активность фермента значительно ниже, чем контрольном варианте. Следовательно, L-аспарагин защищает белковую молекулу аспарагиназы от инактивации всех ферментных препаратов.

Основываясь на наших данных, этот факт пока трудно объяснить. Надо полагать, что в указанных условиях активность фермента сохраняется лучше, чем при отсутствии контакта с субстратом.

Возможно, L-аспарагин способствует сохранению конформации фермента, главным образом в момент образования фермент-субстратного комплекса, хотя остается неясным поведение фермента в промежуток времени между образованием комплексов. Не исключено, что L-аспарагин стабилизирует фермент, связываясь с ним не только в активном центре, но и на других участках.

Полученные данные показывают, что по мере увеличения срока предынкубации активность аспарагиназы снижается (табл. 2). Вероятно, термоинактивация фермента происходит поэтапно, и каждый из них вносит свой вклад в инактивацию. Вследствие тепловых столкновений возможно также наличие молекул с разной степенью термоустойчивости.

При инкубации в условиях 37° d-аспарагиназная активность дрожжей составляет примерно 15—17% от L-аспарагиназной, а при 50° они не проявляют d-аспарагиназной активности, хотя и при 37°, и при 50° d-аспарагин ингибирует L-аспарагиназную активность.

Таблица 2. Аспарагиназная активность водного экстракта дрожжей при разных условиях прединкубации (температура—50°)

Продолжительность прединкубации, мин	Присутствие D-аспарагина при прединкубации	Активность I-аспарагиназы, част. NH ₃	%
0	—	93	100
15	—	62	65
	+	70	73
30	—	39	41
	+	50	52
45	—	22	23
	+	42	44
65	—	17	18
	+	44	46

Из данных табл. 2 видно, что D-аспарагин, как и I-аспарагин, термостабилизирует I-аспарагиназу дрожжей, причем по мере увеличения срока прединкубации ферментного препарата с ним эффект стабилизации становится более очевидным.

Известно, что образование белковых молекул в живых организмах происходит с большей скоростью. Конформация белка обусловлена его первичной структурой и образуется с довольно высокой оперативностью. Но пока неясно, формируются ли структуры белка спонтанно или с помощью каких-то факторов. Предполагается, что сворачивание полипептида в белок происходит в процессе его синтеза на рибосоме [2].

Долгое время считалось, что денатурация белков—процесс необратимый. Лишь в редких случаях при помощи применения тонкой технологии удавалось восстановить ферментативную активность денатурированного белка [4].

Опыты показали, что водный экстракт дрожжей при инкубации в условиях 60° в течение 15 мин без I-аспарагина и с I-аспарагином полностью теряет аспарагиназную активность.

Восстановление ферментативной активности термоденатурированной (при 60° в течение 15 мин) аспарагиназы дрожжей при разных условиях инкубации, согласно полученным нами данным, происходит лишь при инкубации ее с I-аспарагином при 37° начиная с 6-го часа и достигает заметного уровня к 20-му часу (табл. 3).

Следовательно, I-аспарагин не только защищает аспарагиназу дрожжей от термоденатурации, но и способствует восстановлению биологической активности термоденатурированного белка.

Поскольку трудно на основании наших данных объяснить механизм восстановления активности фермента. Учитывая медленный темп этого процесса, можно предположить, что он происходит спонтанно, без участия других факторов.

Особый интерес представляет значение температуры (37°), при которой происходит восстановление активности фермента. По-видимому, для восстановления биологической активности термоденатурированно-

Таблица 3. Восстановление ферментативной активности термоинактивированной аспарагиназы водного экстракта прожаренной при разных условиях инкубации

Температура инкубации, °С	Продолжительность инкубации, ч	Присутствие L-аспарагина	Присутствие D-аспарагина	Восстановление аспарагиназной активности
4	20	+	—	—
20	20	+	—	—
37	46	+	—	—
37	20	—	—	—
37	20	—	+	—
37	6	+	—	+
37	20	+	—	++

го белка необходимо не только присутствие природного субстрата L-аспарагина, но и определенное время и тепловая энергия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Давтян М. А., Степанян К. Р. Биолог. ж. Армении, 31, 8, 851, 1981.
2. Спирич А. С. Молекулярная биология. Структура рибосомы и биосинтез белка. М., 1986.
3. Степанян К. Р., Оганесян С. И., Давтян М. А. Биолог. ж. Армении, 28, 9, 1975.
4. Лекинджер А. Основы биохимии, 1, М., 1985.

Поступило 26.VI 1987 г.

Биолог. ж. Армении, т. 41, № 7, 1988 г. УДК 616.37—002.1.547.466.6:615.015.42/45

ОБМЕН ЛЕЙЦИНА В ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЕ КРЫС ПРИ ОСТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ И ПОД ВЛИЯНИЕМ ТИОСУЛЬФАТА НАТРИЯ

И. С. СИМВОРЯН, Д. А. ГЕВОРКЯН, И. Л. СЛАКЯН, Э. Э. АРУСТАМЯН

ЦНИЛ Ереванского института усовершенствования врачей МЗ СССР

Установлено, что содержание свободного лейцина как в поврежденном (селезеночном), так и «интактном» (дуоденальном) сегментах поджелудочной железы существенно увеличивается в условиях снижения активности лейцин-аминотрансферазы в обоих сегментах (более существенно в селезеночном) и нарастания активности фермента в крови. При этом, тиосульфат натрия предотвращает изменения как свободного лейцина, так и активности лейцин-аминотрансферазы в ткани поджелудочной железы, но существенно снижает повышенный уровень фермента в крови.

Գործընթաց է, որ ազատ լեյզինի քանակությունը ճեմատվորյիկ բարձրանում է ներատնտանոցային ճեղքի ինչպես պատանոցում (փայծաղային), այնպես էլ շտամոտանոցում (զանգվածային) հատվածներում (ազիլի շտամ փայծաղայինում), ճեմատվորյիկ լեյզին-ամինոտրանսֆերազի ակտիվության ինչպես, եւս ազատ լեյզինի բարձրացումը պայծաններում: Նստորիումի իրոտուֆուտը իր կանխում լեյ-

Сокращения: Лей — лейцин, ЛАТ — лейцин-аминотрансфераза.