

2. Albert Z., Rzuicido Z., Starzyk H. Acta histochem. Bd., 37, S 34—39, 1970.
3. Lisy I., Lodin Z., Collect. Czechosl. Chem. Commun., 42, 2967—2975, 1977.
4. Lisy V., Murphy S. Physiologia Bohemoslovaca, 33, 17—22, 1984.
5. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. J. Biol. Chem., 193, 265—275, 1951.
6. Orłowski M., Meister A. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 67, 1248—1252, 1970.
7. Roth F., Wolf G. Neuroscience Letters, 62, 107—112, 1985.

Поступило 3.II 1988 г.

Биолог. ж. Армения. № 2, (42), 1989

УДК 557.1.01

К МЕХАНИЗМУ РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ГЛУТАМАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ

А. С. ОГАНЕСЯН, Ж. С. ГЕВОРКЯН, М. А. БАБАЯН

Институт биохимии АН АрмССР, Ереван

Глутаматдегидрогеназа — фосфорилирование — дефосфорилирование.

Процессы фосфорилирования и дефосфорилирования белков, и в особенности ферментов, относятся к числу важнейших в живой клетке. В результате этих реакций ряд ферментов переходит из активного состояния в неактивное и наоборот. Многочисленными исследованиями установлено изменение активности ряда ферментов и физиологически активных белков посредством фосфорилирования и дефосфорилирования [3—5, 7].

Ранее нами [1] было показано, что при инкубировании срезов коркового слоя почек в условиях, приводящих к снижению содержания АТФ, интенсивность процессов дезаминирования ряда L-аминокислот (глутамата, аспаргата, орнитина) снижается, а при высоких значениях АТФ она значительно повышается. Учитывая вышесказанное, а также роль АТФ в процессах фосфорилирования тканевых ферментов и ряда физиологически активных белков, мы предположили возможность регуляции активности ферментов, катализирующих дезаминирование аминокислот, путем фосфорилирования и дефосфорилирования. Для выяснения этого вопроса мы изучая изменение активности кристаллической глутаматдегидрогеназы при ее фосфорилировании и дефосфорилировании.

Материал и методика. В опытах использовали коммерчески препарат кристаллической ГДГ из печени быка («Sigma», США), активность которой определяли спектрофотометрически по увеличению или уменьшению оптической плотности NADH [6].

Дефосфорилирование фермента проводили в присутствии щелочной фосфатазы (1 мг на пробу), а фосфорилирование судили по связыванию γ -³²P-АТФ с ГДГ в присутствии ириганкиназы и cAMP. Количественное измерение ³²P проводили на сцинтилляционном спектрометре SL-30 (Intertecslique, Франция). Содержание неорганического фосфата определяли по стандартной методике [2].

Сокращения: ГДГ — глутаматдегидрогеназа; ЭДТФ — этилендиаминтетрафосфоновая кислота

Результаты и обсуждение. Полученные результаты показали наличие остатка фосфорной кислоты в составе ГДГ (0,6—0,9 мкмг белка). Предварительное инкубирование ГДГ с щелочной фосфатазой снижает ее активность. На этом фоне добавление ^{32}P -АТФ в присутствии протеникиназы и сАМР приводит к активному включению метки в фермент и значительному восстановлению его активности (рис. 1, 2).

Наличие фосфата в составе кристаллической ГДГ было устанавливаемо также при помощи ЯМР спектрального анализа на приборе ЯР-360 с рабочей частотой 145,78 МГц. В качестве эталона использовали ЭДФ. Химические сдвиги сигнала определяли относительно ЭДФ. Выявлено три пика.

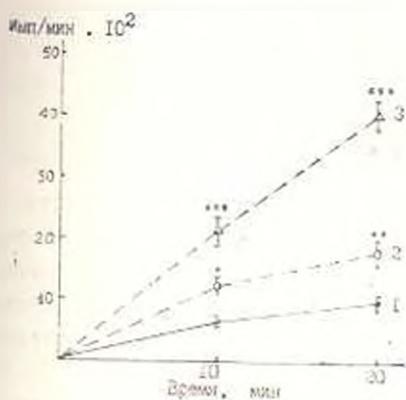


Рис. 1.

Рис. 1. Связывание ^{32}P (γ - ^{32}P -АТФ) с кристаллической глутаматдегидрогеназой ($n=6$). 1—глутаматдегидрогеназа+щелочная фосфатаза+протеникиназа+ γ - ^{32}P -АТФ; 2—щелочная фосфатаза+протеникиназа+ γ - ^{32}P -АТФ+сАМР; 3—глутаматдегидрогеназа+щелочная фосфатаза+протеникиназа+ γ - ^{32}P -АТФ+сАМР. Достоверность по отношению к 1—* $p < 0,001$; ** $p < 0,005$; к 2—*** $p < 0,001$.

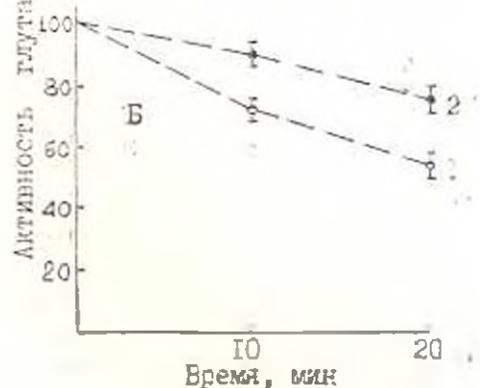
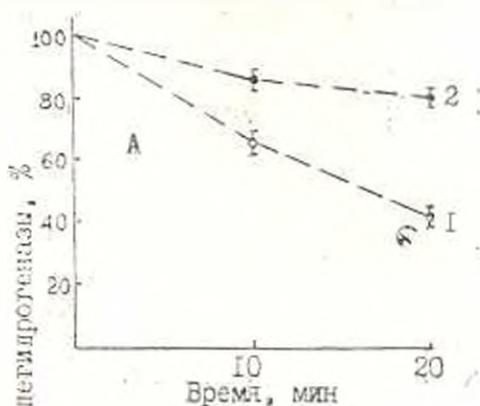


Рис. 2.

Рис. 2. Влияние щелочной фосфатазы и протеникиназы на имитирующую (А) и дезактивирующую (Б) активности кристаллической глутаматдегидрогеназы ($n=6$). 1—действие щелочной фосфатазы; 2—щелочная фосфатаза+протеникиназа+АТФ+сАМР.

Анализ приведенных данных показывает, что в почечной ткани активность ГДГ регулируется ее фосфорилированной и дефосфорилированной формами, причем фосфорилирование приводит к повышению, а дефосфорилирование—к понижению ее активности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Геворкян Ж. С. ДАН АрмССР, 69, 5, 285—289, 1979.
2. Fiske C. H., Subbarow Y. J. Biol. Chem., 66, 2, 375—400, 1925.
3. Hardie D. G., Ouy F. S. Eur. Biochem. J., 110, 1, 167—177, 1980.
4. Hemmings B. A., J. Biol. Chem., 253, 17, 5255—5258, 1978.
5. Krebs E. O., Bravo J. A. Ann. Rev. Biochem., 48, 923—959, 1979.
6. Schmidt E. Methods of enzymatic analysis (Ed. by H. Bergmeyer), 2, 650—656, 1974.
7. Yamauchi T., Fujisawa H. Biochem. Biophys. Res. Commun., 93, 4, 1172—1178, 1979.

Поступило 20.VI.1988 г.

Биолог. ж. Армении, № 2, (42), 1989

УДК 577.122.3-

ВЛИЯНИЕ АДРЕНАЛИНА И ИНСУЛИНА НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ДЕЗАМИНИРОВАНИЯ L-ГЛУТАМАТА И L-АСПАРТАТА В КОРКОВОМ СЛОЕ ПОЧЕК БЕЛЫХ КРЫС

А. С. ОГАНЕСЯН, Ж. С. ГЕВОРКЯН

Институт биохимии АН АрмССР, Ереван

Адреналин—инсулин—дезаминирование аминокислот

Ранее нами было установлено, что активность глутаматдегидрогеназы как в тканевых, так и кристаллических препаратах регулируется фосфорилированием и дефосфорилированием, причем фосфорилирование приводит к повышению ее активности, а дефосфорилирование — к снижению [3]. Подобное явление наблюдается в тканевых препаратах и в отношении фермента, дезаминирующего L-аспартат.

Сывороточный фактор, обнаруженный нами [1], в зависимости от физиологического состояния организма путем изменения интенсивности процессов фосфорилирования указанных ферментов, оказывает регулирующее действие на их активность, и, следовательно, на скорость дезаминирования аминокислот в корковом слое почек.

Изложенное выше послужило основанием для изучения гормональной регуляции процессов дезаминирования L-глутамата и L-аспартата, в частности, влияния адреналина и его антагониста инсулина на интенсивность этих процессов в корковом слое почек белых крыс.

Материал и методика. Опыты ставили на белых крысах обоего пола массой 180—200 г. Использовали методику, описанную нами ранее [2]. Адреналин вводили подкожно из расчета 1 мг/кг массы за 30 мин до начала опыта, инсулин — внутривенно из расчета 10 ед/кг массы за 60 мин до начала опыта. В некоторых экспериментах инсулин добавляли *in vitro*, (0,1 ед/мл), в отдельной серии опытов изучали влияние указанных гормонов на активность сывороточного ингибитора и выделение аммиака с мочой.

Результаты и обсуждение. Как видно из данных табл. 1, адреналин и инсулин в условиях *in vivo* стимулируют активность ферментов,