

10. Mezl V. A., Knox W. E. Biochem. J., 165, 105, 1977.
11. Miller P. M., Stewart C. R. Phytochemistry, 15, 1855, 1976.
12. Shiono T., Kador P. F., Kinoshita J. J. Biochem. Biophys. Acta, 881, 72, 1986
13. Vecchio D. A., Kalman S. M. Arch. Biochem. Biophys., 127, 376, 1968.

Поступило 30.III 1990 г.

Биол. журн. Армении, № 2.(45).1992

УДК 577.15.591.8

ЗНАЧЕНИЕ ТИОЛОВЫХ ГРУПП В АКТИВНОСТИ ИЗОЭНЗИМОВ ОКСИДАЗЫ D-АМИНОКИСЛОТ *ASPERGILLUS NIGER* R-3

А. Г. БАБАЯН, С. П. ОГАНЕСЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии

Оксидазы аминокислот-тиоловые группы-изоэнзимы.

При изучении механизма химической реакции, катализируемой ферментами, важное значение имеет природа тех функциональных групп в молекуле фермента, которые обеспечивают специфичность его действия на данный субстрат и высокую каталитическую активность.

Ранее нами было [2] показано, что изоэнзимы оксидазы D-аминокислот *Asp. niger* R-3 состоят из четырех субъединиц с молекулярной массой, равной 46700 Да; I изоэнзим активируется ионами Mg, Zn, а II — Co^{++} . Оба изоэнзима ингибируются ионами Ag, Cd, Hg.

Целью настоящего исследования являлось изучение влияния некоторых ингибирующих и восстанавливающих агентов на активность изоэнзимов оксидазы D-аминокислот у *Asp. niger* R-3.

Материал и методика. Объектом исследований служил *Asp. niger* R-3, полученный из Сибирского завода по производству лимонной кислоты в 1984г. Методика приготовления питательной смеси и выращивания гриба излагалась ранее [1].

Для определения оксидазной активности D-аминокислот (D-AAOX), пробу инкубировали при 37° в течение 60 мин в 0,05 М K/Na-фосфатном буфере (pH 3,3) в присутствии 10 мкМ D-Met при постоянном встряхивании. Реакцию останавливали 20 %-ным ТХУ, после чего в экстракте определяли выделившийся аммиак микродиффузионным методом Зелингсона в модификации Силаковой [4]. Активность фермента выражали в мкМ аммиака, выделившегося при часовой инкубации, на 1 г целения. Белок определяли по методу Лоури [7].

Результаты и обсуждение. Изучение влияния некоторых известных ингибиторов D-AAOX на I и II изоэнзимы *Asp. niger* R-3 (табл. 1) показало, что оба они являются тиоловыми ферментами, поскольку такие реагенты сульфгидрильных групп, как ПХМБ и ДТНБ (5,5-дитиобис 2-нитро бензойная кислота), ингибируют их активность. Любопытно, что классический ингибитор аминокислотных оксидаз бензоат натрия не оказывает подобного влияния на фермент. Аналогичные результаты были получены при изучении D-AAOX, выделенной из *T. variabilis* [5], а также при воздействии п-бензохинона на оксидазу из *Asp. niger* R-3 [3].

Таблица 1. Влияние некоторых ингибиторов на активность изоэнзимов оксидазы D-аминокислот *Asp. niger* R-3

Реагенты (концентрация, мкМ)	I изоэнзим		II изоэнзим	
	активность мкМ NH ₃	активность, %	активность мкМ NH ₃	активность, %
Экстракт ПХМБ	3.8	100	9.2	100
10 ⁻³	0	—	0	—
10 ⁻⁴	0	—	0	—
ДТНБ				
10 ⁻³	0.65	17	2.4	26
10 ⁻⁴	1.3	34	4.7	51
Бензоат натрия				
10 ⁻³	3.04	80	8.3	90
10 ⁻⁴	3.3	87	9.2	100

Исследовалось также влияние различных концентраций ПХМБ и восстанавливающих агентов, таких, как меркаптоэтанол и глутатион (табл. 2)

Таблица 2. Влияние ПХМБ, меркаптоэтанола, глутатиона на активности оксидазы D-аминокислот

Реагенты (концентрация, М)	I изоэнзим		II изоэнзим	
	активность		активность	
	мкМ NH ₃	%	мкМ NH ₃	%
Исходный ПХМБ	3.8	100	9.2	100
10 ⁻⁴	1.1	30	4.8	52.4
10 ⁻³	0.5	12	2.2	23.5
10 ⁻²	0	0	0	0
Меркаптоэтанол				
10 ⁻⁴	1.6	43	8.3	90
10 ⁻³	0.9	24	7.8	85
10 ⁻²	0.38	10	5.6	61
Глутатион				
10 ⁻⁴	4.4	115	9.9	108
10 ⁻³	4.4	115	10.4	113
10 ⁻²	4.6	120	10.0	110
ПХМБ+Глутатион				
10 ⁻⁴	3.1	83	9.0	98
10 ⁻³	0.9	24	5.9	65
10 ⁻²	0.38	10	2.8	30

Согласно данным, представленным в табл. 2, ПХМБ является довольно эффективным ингибитором (особенно для I изоэнзима). Трудно объяснить ингибирующее действие меркаптоэтанола, однако аналогичные результаты были получены нами и для штамма *Asp. niger* R-3, индуцированного DL-фенилаланином [6].

Восстановленный глутатион в тех же концентрациях не влиял на изоэнзимы, а при совместном действии с ПХМБ защитный эффект восстановленного глутатиона особенно проявлялся при наиболее низких из использованных концентраций.

ЛИТЕРАТУРА

1. Оганесян С. П., Бабалян А. Г. Биолог. журн. Армении, 41, 5, 402—406, 1988.
2. Оганесян С. П., Бабалян А. Г. Биолог. журн. Армении (в печати).
3. Оганесян С. П., Бабалян А. Г. Биолог. журн. Армении, 39, 5, 373—377, 1986.
4. Силакова А. И., Трун Т. П. Вопросы мед. химии, 8, 538—545, 1962.
5. Kubicek—Prans Eva M., Max Rohr, J. Appl. Biochem., 7, 2, 104—113, 1985.
6. Kishora H., Vondyazethan C. S. Indian J. Biochem., Biophys., 13, 216—222, 1976.
7. Lowry O. R., Rosenbrough N. J. Biol. Chem., 193, 1951.

Получено 20.V. 1991 г.

Биолог. журн. Армении, № 2 (45), 1992

УДК 633.863.8:631.589:581.13:577.13

ЛОКАЛИЗАЦИЯ ПЕРВИЧНОГО БИОСИНТЕЗА ЛАКСОНА. ЗНАЧЕНИЕ СВЕТА В ОБРАЗОВАНИИ КРАСИТЕЛЯ У *LAWSONIA INERMIS* L.

Х. К. ХАЖАКЯН, С. С. НАНЯН

Институт агрохимических проблем и гидропоники
АН Армении, Ереван, Норатюк

Хим. спектры Lawsonia inermis L. — гидропоника — биосинтез красителя.

Биосинтез метаболитов вторичного обмена происходит в определенных органах, фазах развития и световых условиях выращивания растений [4, 5], поэтому вопросы локализации и светорегулирования образования красильных соединений — лаксона и индикана — в онтогенезе хны и индигоферы связаны с задачей повышения их продуктивности.

Показано [6], что первичный биосинтез индикана и онтогенез индигоферы начинается в тканях первого настоящего листа, происходит только на свету и прекращается в темноте. Целью настоящей работы являлось выяснение локализации первичного биосинтеза лаксона и онтогенеза растений хны и установление зависимости его образования от условий освещенности.

Материал и методы. Работы проводили на 20—30-дневных проростках и трех-мелочных растениях хны индикановой (*Lawsonia inermis* L.)

Семена проращивали на перлите в условиях фитоканеры (температура 25°, интенсивность освещения 8 тыс. лк от лампы ДРЛФ-400, фотопериод 12 ч, влажность 60—70 %). Растения поливали три раза в неделю: один раз питательным раствором.

Сокращения: ЭС — Экспериментальная гидропоническая станция.