

Օրիգինալ հոդվածներ • Оригинальные статьи • Original articles

Биол. Журн. Армении, 1-2 (51), 1998

УДК 577.352.5:577.112.3:599.323.4

**ВЗАИМОСВЯЗЬ ДЕЗАМИНИРОВАНИЯ АМИНОКИСЛОТ И
БИОСИНТЕЗА ЦИТРУЛЛИНА В ОРГАНАХ КРЫС**

М.А. ДАВТЯН, И.П. АЙРАПЕТЯН

*Ереванский государственный университет, кафедра биохимии и лаборатория
экспериментальной эволюционной биохимии, 375049*

С целью создания максимально благоприятных условий для вовлечения аммиака, образующегося при дезаминировании аминокислот, в биосинтез цитруллина были использованы митохондриальная фракция печени и печеночный гомогенат крыс. Установлено, что гомогенаты различных органов в состоянии дезаминировать аминокислоты с образованием свободного аммиака.

Ամինաթթուների դեզամինացման ժամանակ առաջացած ամոնիակը ցիտրուլինի կենսասինթեզի մեջ ընդգրկելու համար, առավելագույն բարենպաստ պայմաններ ստեղծելու նպատակով, օգտագործվել են առնետների լյարդի միտոքոնդրիալ ֆրակցիան և լյարդի հոմոգենատը: Հաստատվել է, որ տարբեր օրգանների հոմոգենատները կարող են դեզամինացման ենթարկել ամինաթթուները՝ առաջացնելով ազատ ամոնիակ:

To create the most favourable conditions for involvement of ammonia, formed as a result of amino acids desamination, in biosynthesis of citrulline the rats mitochondrial fraction of liver and the hepatic homogenate have been used. The homogenates of various organs were capable to desaminate amino acids with formation of free ammonia.

Дезаминирование аминокислот - биосинтез цитруллина

Хотя еще в начале века было установлено дезаминирование аминокислот срезами печени и почек крыс, тем не менее многие вопросы механизма аммиакообразования в тканях до сих пор полностью не выяснены. В частности, трудно объяснить факт прекращения дезаминирования добавленных аминокислот в гомогенатах указанных тканей. Очевидно, сохранение целостности клеток является необходимым условием функционирования ферментов, дезаминирующих аминокислоты.

Аммиакообразование в гомогенатах из аминокислот под влиянием ферментов можно обнаружить при обеспечении непрерывного удаления из среды образовавшегося аммиака [4]. Известно, что в печени крыс функционирует орнитиновый цикл мочевинообразования, который утилизирует свободный аммиак путем ферментативного включения последнего первоначально в карбомилфосфат, далее в цитруллин, аргининосукцинат, аргинин, мочевину [1-3]. Биосинтез карбомилфосфата, катализируемый орнитинтранскарбомилазой, интенсивно протекает в митохондриальной

фракции печени. Можно было допустить, что в модельных опытах, используя митохондриальную фракцию печени крыс и создавая оптимальные условия для биосинтеза цитруллинна, можно обеспечить непрерывное вовлечение свободного аммиака в этот процесс, тем самым создавая низкий уровень свободного аммиака, необходимый для функционирования ферментативных систем дезаминирования аминокислот. Нами была поставлена задача исследовать биосинтез цитруллинна в митохондриальной фракции печени крыс в присутствии различных аминокислот.

Материал и методика. Опыты проводили на так называемых "промытых осадках" печени крыс, состоящих главным образом из митохондрий, содержащих карбомилфосфатсинтетазы и орнитинтранскарбоксилазу, катализирующих вовлечение аммиака в биосинтез цитруллинна.

Синтез цитруллинна изучали в условиях, описанных Браунштейном и сотр. [3]: 2г ткани гомогенизировали в 8мл изотонического раствора KCl, содержащего 0,006М Натрилендиаминитетрацетата (ЭДТА), процеживали через три слоя марли для освобождения от обрывков ткани, центрифугировали 10мин при 2000 об/мин, полученный осадок суспендировали в 20мл изотонического раствора без ЭДТА, снова центрифугировали 10мин и промывали его еще раз. Полученную нерастворимую фракцию ("промытый осадок") суспендировали в 8мл изотонического раствора KCl и вносили 0,7мл этой суспензии в пробу, которая в объеме 3,5мл содержала следующие необходимые добавки: NaHCO_3 - 30 мкмоль, MgSO_4 - 35 мкмоль, NH_4Cl - 25 мкмоль, L-орнитин - 40 мкмоль, N-ацетилглутаминовая кислота - 25 мкмоль, АТФ - 7-10 мкмоль, К-фосфатный буфер (рН 7,2) - 0,017 М (конечная концентрация) и KCl - до изотонической концентрации среды. Инкубацию проводили при 37,5° в атмосфере O_2 в течение 60мин, после чего пробы фиксировали добавлением 5мл 10%-ного раствора HClO_4 , центрифугировали и в надосадочной жидкости определяли цитруллин калориметрическим методом Арчибальда [6].

Результаты и обсуждение. Как видно из таблицы, в "промытом осадке" печени крыс происходит заметный биосинтез цитруллинна из NH_3 , CO_2 и орнитина (6,48 мкмоль/пробу). При исключении из состава проб NH_3 или орнитина этот процесс резко подавляется, но в присутствии глутамата в пробах без NH_3 он протекает удовлетворительно (3,12 мкмоль/пробу). Это, очевидно, обусловлено дезаминированием глутамата глутаматдегидрогеназой, присутствующей в митохондриях печени. В пробах без аммиака, но с глутаматом и гомогенатом печени биосинтез цитруллинна более заметен (4,11 мкмоль/пробу). При замене в последних пробах гомогената печени надосадком гомогената печени он несколько ослабевает (3,4 мкмоль/пробу). Можно предположить, что добавление гомогената печени к пробам стимулирует биосинтез цитруллинна за счет увеличения количества митохондрий, содержащих глутаматдегидрогеназу. Аналогичным образом пробы без NH_3 , но с глутаматом и гомогенатами мозга или почек несколько стимулируют указанный процесс (3,74 и 4,28 мкмоль/пробу соответственно). По-видимому, стимулирование биосинтеза цитруллинна в последних случаях обусловлено присутствием в митохондриях мозга и почек глутаматдегидрогеназы. В вариантах без NH_3 , но с аспартатом и гомогенатом печени процесс биосинтеза цитруллинна протекает активно (5,18 мкмоль/пробу), очевидно, вследствие интенсивного дезаминирования аспартата в указанных условиях. Несколько слабее выражен он в аналогичных условиях с добавкой

гомогената мозга и почек взамен гомогената печени (3,9 и 4,34 мкмоль/пробу соответственно). Это можно объяснить присутствием ферментативных систем дезаминирования аспартата в гомогенатах мозга и почек.

Таблица 1. Влияние аминокислот на биосинтез цитруллина в "промытом осадке" печени крыс

Состав пробы с "промытым осадком"	Синтез цитруллина, мкмоль/пробу
Полная проба	6,48±0,64
Полная проба без NH_4Cl	0,59±0,12
Полная проба без L-орнитина	0,18±0,002
Полная проба без NH_4Cl , с глутаматом	3,12±0,28
Полная проба без NH_4Cl , с глутаматом и гомогенатом печени	4,11±0,22
Полная проба без NH_4Cl , с глутаматом и надосадком гомогената печени	3,40±0,20
Полная проба без NH_4Cl , с глутаматом и гомогенатом мозга	3,74±0,18
Полная проба без NH_4Cl , с глутаматом и гомогенатом почек	4,28±0,31
Полная проба без NH_4Cl , с аспартатом и гомогенатом печени	5,18±0,80
Полная проба без NH_4Cl , с аспартатом и гомогенатом мозга	3,90±0,34
Полная проба без NH_4Cl , с аспартатом и гомогенатом почек	4,34±0,30
Полная проба без NH_4Cl , с орнитином и гомогенатом печени	3,08±0,21
Полная проба без NH_4Cl , с орнитином и гомогенатом мозга	2,38±0,18
Полная проба без NH_4Cl , с орнитином и гомогенатом почек	6,04±0,88
Полная проба без NH_4Cl , с аланином и гомогенатом печени	5,44±0,76
Полная проба без NH_4Cl , с аланином и гомогенатом мозга	2,52±0,18
Полная проба без NH_4Cl , с аланином и гомогенатом почек	3,06±0,22

Получены интересные данные при использовании в качестве субстрата дезаминирования L-орнитина. В пробах без NH_3 , но с орнитином и гомогенатом печени биосинтез цитруллина протекает удовлетворительно (3,08 мкмоль/пробу). В присутствии гомогената мозга в аналогичных условиях он несколько слабее (2,38 мкмоль/пробу), тогда как в присутствии гомогената почек интенсивность этого процесса достигает максимума (6,04 мкмоль/пробу). Очевидно, в гомогенатах указанных органов и, особенно почек, орнитин подвергается интенсивному дезаминированию. Это соответствует данным других авторов, указывающих на интенсивное дезаминирование орнитина в почках [5].

В пробах без NH_4Cl , но с аланином и гомогенатом печени биосинтез цитруллина достаточно заметен (5,44 мкмоль/пробу), но при замене гомогената печени гомогенатами мозга и почек он несколько ослабевает (2,52 и 3,06), вероятнее всего, вследствие интенсивного дезаминирования L-аланина в

печени и более слабого - в мозге и почках.

Полученные данные позволяют заключить, что при создании условий для вовлечения образовавшегося при дезаминировании аминокислот аммиака в биосинтетические процессы, в частности, в биосинтез карбомилфосфата и далее цитруллина, предотвращается ингибирующее влияние его на ферментативные системы дезаминирования аминокислот, и последние приобретают возможность функционировать в условиях гомогенатов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Браунштейн А.Е. Биохимия аминокислотного обмена. 91-105, М., 1949.
2. Браунштейн А.Е., Азарх Р.М. Биохимия, 9, 337-357, 1944.
3. Браунштейн А.Е., Северина И.С., Бабская Ю.Е. Биохимия, 21, 738, 1956.
4. Браунштейн А.Е., Шемякин М.М. Биохимия, 18, 393-411, 1953.
5. Геворкян Ж.С., Оганесян А.С. ДАН Арм.ССР, 58, 229-235, 1974.
6. Archibald R.M. J. Biol. Chem., 156, 121, 1944.

Поступила 15.VIII.1997

Биол. Журн. Армении, 1-2 (51), 1997

УДК 577.963.3

НЕГИСТОНОВЫЕ БЕЛКИ ХРОМАТИНА ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ СМЕСИ АМИНОКИСЛОТ

А.О. ВАРДЕВАНИАН, А.М. ДАВТЯН, М.Б. МОЛАН РАД,
М.О. ХЕЧОЯН, М.А. ДАВТЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии, 375049

Исследованы изменения негистоновых белков хроматина печени крыс при введении смеси аминокислот и гидрокортизоновой индукции. Показано, что при обеих формах индукции негистоновые белки хроматина печени крыс претерпевают существенные изменения, выявляемые при их электрофоретическом разделении и фракционировании на ионообменнике.

Ուսումնասիրվել են առնետների լյարդի քրոմատինի ոչ հիստոնային սպիտակուցային փոփոխությունները, ամինաթթուների խառնուրդ ներարկելիս և հիդրոկորտիզոնով հրահրելիս: Ցույց է տրվել, որ երկու եղանակով էլ հրահրելիս առնետների լյարդի քրոմատինի սպիտակուցները կրում են էական փոփոխություններ, որոնք ի հայտ են գալիս նրանց էլեկտրոֆորետիկ և իոնափոխանակային բաժանման ժամանակ:

Changes of chromatin non-histone proteins in rats liver were studied during injection of amino acids mixture and hydrocortisone induction. Both forms of induction caused essential changes in chromatin non-histone proteins which were revealed by electrophoretic separation and fractionation on ion exchanger.