Биолог. журн. Армении, 1-2 (**54**), 2002

УДК 577.1.05

ԳԼՈՒՏԱՄԻՆԱԶԱ ՖԵՐՄԵՆՏԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ ԽՄՈՐԱՍՆԿԵՐԻ ԵՎ ԻՆՖՈՒԶՈՐԻԱՆԵՐԻ ՄՈՏ

Ա.Հ. ԹԱՄՐԱԶՅԱՆ

Երևանի պետական համալսարան, կենսաքիմիայի ամբիոն, 375025

Գլուտամինազա - խմորասնկեր - ինֆուզորիաներ

Ազոտ պարունակող միացություններից կենդանի օրգանիզմի նյութափոխանակության մեջ էական դեր են խաղում ամինաթթուների ամիդները, մասնավորապես գլուտամինը և ասպարագինը: Գլուտամինը բավականին մեծ քանակով առկա է կենդանի հյուսվածքներում [10]: Հայտնի է, որ գլուտամինաթթուն չեզոքացնելով բջիջների մեջ առաջացած ամոնիակը փոխադրում է այն գլուտամինի ձևով համապատասխան օրգաններ՝ ազոտ պարունակող միացությունների սինթեզի համար: Օրգանիզմում այն մասնակցում է մի շարք կարևոր ազոտական միացությունների կենսասինթեզին՝ պուրինային և պիրիմիդինային հիմքեր, տարբեր ամինաթթուներ և այլն [10]: Գլուտամինի կատաբոլիզմը օրգանիզմներում հիմնականում իրականացվում է գլուտամինազա ֆերմենտի միջոցով: Այն պարունակվում է ինչպես էուկարիոտ, այնպես էլ պրոկարիոտ օրգանիզմներում [7,13]: Միկրոօրգանիզմներից անջատված և մաքրված գլուտամինազան օգտագործվում է բժշկական հետազոտությունների մեջ, որպես հակաուռուցքային պրեպարատ [4,6]:

Ներկայացված աշխատանքում նպատակ ենք ունեցել ուսումնասիրել գլուտամինազա ֆերմենտը ինֆուզորիաներում և խմորասնկերում:

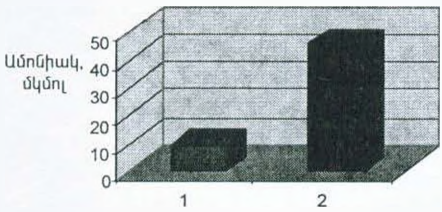
Նյութ և մեթոդ: Որպես հետազոտման օբյեկտ հանդիսացել են *Candida guilliermondii* ՀՊ-4 խմորասնկերը և աէրոբ *Paramecium multimicronucleatum* ինֆուզորիաները:

Խմորասնկային կուլտուրան աճեցվել է հեղուկ սննդամիջավայրում՝ Վիկերհամի միջավայր [14] մոդիֆիկացված Մակարովայի կողմից [3]:

Ինֆուզորիաները աճեցվել են Սոնեբորնի միջավայրում [12]:

Գլուտամինազայի ակտիվությունը որոշվել է ըստ գլուտամինի հիդրոլիզից առաջացած ամոնիակի քանակի: Ամոնիակը որոշվել է Զելիգսոնի [15] մեթոդով՝ ձևափոխված Սիլակովայի և աշխատակիցների կողմից [5]:

Արդյունքներ և քննարկում: Վերը նշված օբյեկտների հոմոգենատներում ուսումնասիրվել է գլուտամինազա ֆերմենտի ակտիվությունը: Ստացված արդյունքները բերված են ստորև նկար 1-ում:



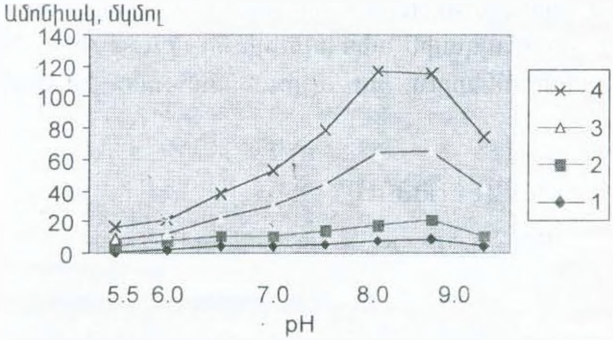
Նկ. 1. Գլուտամինազա ֆերմենտի ակտիվությունը 1. խմորասնկեր, 2. ինֆուզորիաների հոմոգենատներում (տրիս HCl բուֆերում, pH=8,0, մկմոլ ամոնիակ 1 գ թարմ կենսազանգվածում):

Համաձայն նկարի տվյալների՝ երկու հետազոտվող օբյեկտների հոմոգենատներում տեղի է ունենում գլուտամինի հիդրոլիզ (9.35 մկմոլ խմորասնկերի և 45.49 մկմոլ ինֆու-

զորիաների 1 գ թարմ կենսազանգվածում): Գլուտամինազա ֆերմենտի ամենաբարձր ակտիվությունը դրսևորվում է ինֆուզորիաների մոտ, որը 4.8 անգամ ավելի է խմորասնկերից:

Միկրոօրգանիզմներից անջատված ֆերմենտներն իրենց ֆիզիկաքիմիական հատկություններով կտրուկ տարբերվում են կենդանական ծագում ունեցող ֆերմենտներից [1, 2, 8, 9, 13]: Գոյություն ունեն աշխատանքներ, համաձայն որոնց կենդանական հյուսվածքների գլուտամինազաների օպտիմում pH-ը գտնվում է հիմնային զոնայում: Ի տարբերություն միկրոօրգանիզմների գլուտամինազաների, մեծամասնությունը առավել ակտիվ է pH-ի թթվային և չեզոք պայմաններում: Սակայն գոյություն ունեն բակտերիալ գլուտամինազաներ, որոնք կարող են ցուցաբերել կենդանական հյուսվածքներին բնորոշ pH օպտիմումներ [1, 2, 11]:

Միաժամանակ ուսումնասիրվել է ֆոսֆատ իոնի ազդեցությունը ֆերմենտատիվ ակտիվության վրա: Ստորև բերված նկարներում ցույց է տրված գլուտամինազայի ակտիվությունը տարբեր pH-ի, տրիս HCl և ֆոսֆատային բուֆերների պայմաններում խմորասնկերի և ինֆուզորիաների համար:

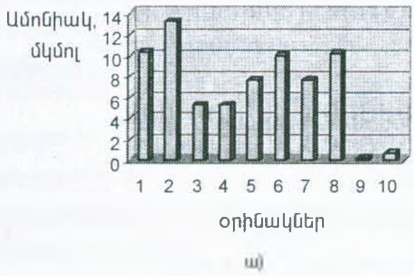


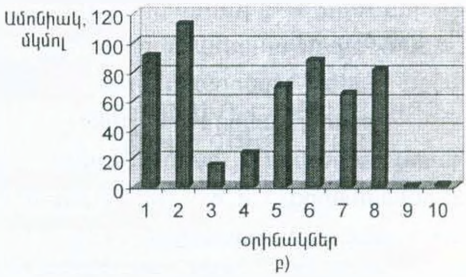
Նկ. 2. Գլուտամինազայի ակտիվությունը տարբեր pH-ի պայմաններում. մկմոլ ամոնիակ 1 գ թարմ կենսազանգվածում: 1. խմորասնկեր՝ տրիս HCl բուֆերում: 2. խմորասնկեր՝ ֆոսֆատային բուֆերում: 3. ինֆուզորիաներ՝ տրիս HCl բուֆերում: 4. ինֆուզորիաներ՝ ֆոսֆատային բուֆերում:

Նկար 2-ի տվյալների համաձայն *Candida guilliermondii* ՀՊ-4 խմորասնկերի և *Paramecium multimicronucleatum* ինֆուզորիաների գլուտամինազայի ամենաբարձր ակտիվությունը դրսևորվում է pH 8.0-8.5 պայմաններում: Համեմատելով գլուտամինազային ակտիվությունը տրիս HCl և ֆոսֆատային բուֆերներում, ակնհայտ է դառնում, որ ֆոսֆատային բուֆերում տեղի է ունենում ֆերմենտի որոշակի ակտիվացում: Ելնելով վերը նշվածից, կարելի է ենթադրել, որ *C. guilliermondii* ՀՊ-4 խմորասնկերի և *P. multimicronucleatum* ինֆուզորիաների գլուտամինազան կամ իզոֆերմենտներից մեկը ֆոսֆատ ակտիվացվող է:

Համաձայն գրականության տվյալների, հայտնի է, որ գլուտամինազա ֆերմենտը կենդանի բջիջներում հանդես է գալիս երկու իզոֆերմենտների կարգով, որոնք տարբերվում են իրենց լոկալիզացիայով և կարգավորմամբ [7, 10, 13]: Աշխատանքի հաջորդ էտապում որոշվել է գլուտամինազային ակտիվությունը բջջային տարբեր ֆրակցիաներում (կորիզային, միտոքոնդրիումային, ցիտոպլազմատիկ) ֆոսֆատ իոնի ներկայությամբ և բացակայությամբ:

Ստացված արդյունքները ներկայացված են ստորև բերված նկարներում:





Նկ. 3. Գլուտամինազայի ակտիվությունը ա) *C. guilliermondii* ՀՊ-4 խմորասնկերի բջջային տարբեր ֆրակցիաներում, տարբեր բուֆերներում տրիս HCl և ֆոսֆատային բուֆեր pH-ը 8.0, վերահաշվարկած մկմոլ ամոնիակ 1 գ թարմ կենսազանգվածում, բ) *P. multimicronucleatum* ինֆուզորիաների բջջային տարբեր ֆրակցիաներում, տարբեր բուֆերների տրիս HCl և ֆոսֆատային պայմաններում վերահաշվարկած մկմոլ ամոնիակի 1 գ թարմ կենսազանգվածում:

1. հոմոգենատ տրիս HCl բուֆեր, 2. հոմոգենատ ֆոսֆատային բուֆեր, 3. կորիզային ֆրակցիա տրիս HCl բուֆեր, 4. կորիզային ֆրակցիա ֆոսֆատային բուֆեր, 5. վերնստվածք տրիս HCl բուֆեր, 6. վերնստվածք ֆոսֆատային բուֆեր, 7. միտոքոնդրիումային ֆրակցիա տրիս HCl բուֆեր, 8. միտոքոնդրիումային ֆրակցիա ֆոսֆատային բուֆեր, 9. ցիտոպլազմատիկ (առանց միտոքոնդրիումների) ֆրակցիա տրիս HCl բուֆեր, 10. ցիտոպլազմատիկ (առանց միտոքոնդրիումների) ֆրակցիա ֆոսֆատային բուֆեր:

Ստացված տվյալներից (նկ. 3 ա, բ) բխում է, որ բջջում և խմորասնկերի, և ինֆուզորիաների մոտ գլուտամինազային ակտիվությունը (շուրջ 70-75 %) կենտրոնացված է միտոքոնդրիումներում, այս գլյուտամինազան ֆոսֆատ կախյալ է:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Абдумаликов А. Х., Еременко В.В.* Биохимия, *32*, 363, 1967.
2. *Коваленко Н. А., Козлов Е.А.*, Биохимия, *35*, 670, 1970.
3. *Макарова А.С.* Автореф. канд. дисс., Ереван, 1963.
4. *Пехов А.А., Жукова О.С., Занин З.А.* Экспериментальная онкология, *6*, 1, 55-63, 1984.
5. *Силакова А.И., Труш Г.П., Явилякова А.А.* Вопросы мед. химии, 5, 538, 1962.
6. *Соколов Н.Н., Занин В.А., Александрова С.С.* Вопросы мед. химии, 6, 2000.
7. *Crabtree Ch.* ExPasy Molecular Bio Server, August 30, 2000.
8. *Duran S., Du Pont G., Calderon J.* Microb., 141, 2883-2889, 1995.
9. *Duran S.* Biochem. Genetics, 34, 453-463, 1996.
10. *Greenwell I.* LE Magazine, 1999.
11. *Roberg B., Torgner I., Laake J.* J. Biol. Chem., 279, 3, 648-657, 2000.
12. *Soneborn T.M.* Methods in Cell Physiology, 4, Presscot, 1970.
13. *Soberon M., Gonzales A.* J. Gen. Microb., 133, 1-8, 1987.
14. *Wikerham L.J.* US Dept. Agr. Technical Bull., 1029, 1951.
15. *Zelingson D., Zelingson H.* J. Lab. Clin. Med. 38, 324, 1951.

Поступила 11.III.2002