

Биолог. журн. Армении, 1-2 (57), 2005

УДК 591.1.05

РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ БИОСИНТЕЗА ПРОЛИНА В РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНАХ ФОРЕЛИ *PARASALMO MIKISS*

А.А. ЗАХАРЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии, 375049

Исследовали регуляцию активности ферментов биосинтеза пролина из орнитина (орнитинтрансминазы и пирролин-5-карбоксилатредуктазы) в различных органах форели. Ферменты биосинтеза пролина растворимы, и были обнаружены в основном в надосадочной фракции гомогената. Выявлено, что активность этих ферментов наиболее высока в печени. Во всех органах рыбы биосинтез пролина наиболее эффективен, когда субстратом являются орнитин и α -кетоглутарат. Однако в сердце, жабрах и икринках орнитин и оксалоацетат проявляют такую же эффективность, как и орнитин с α -кетоглутаратом. НАДН является более эффективным кофактором для пирролин-5-карбоксилатредуктазы по сравнению с НАДФН. Ионы Mn^{2+} повышают, а ионы Fe^{3+} , наоборот, подавляют активность ферментов во всех органах рыбы.

Ուսումնասիրվել է օրնիտինից պրոլինի կենսասինթեզի ֆերմենտների (օրնիտին-տրանսամինազայի և պիրոլին-5-կարբօքսիլատռեդուկտազայի) ակտիվութեան կարգավորումը ծիածանախայտի տարբեր օրգաններում: Պրոլինի կենսասինթեզի ֆերմենտները լուծելի են և հիմնականում հայտնաբերվել են հոմոգենատի վերնստվածքային ֆրակցիայում: Բացահայտվել է, որ ֆերմենտների ակտիվությունը առավել բարձր է լյարդում: Չկան բոլոր օրգաններում պրոլինի կենսասինթեզն առավել էֆեկտիվ է այն դեպքում, երբ որպես սուբստրատ հանդիսանում են օրնիտինն ու α -կետոգլյուտարատը: Սակայն սրտում, խոռիկներում և ձկնկիթում օրնիտինն ու օքսալաացետատը ցուցաբերում են նույն էֆեկտիվությունն ինչպես օրնիտինն ու α -կետոգլյուտարատը: Համեմատած $NADH$ -ի հետ, $NADPH$ -ը հանդիսանում է ավելի էֆեկտիվ կոֆակտոր պիրոլին-5-կարբօքսիլատռեդուկտազայի համար: Mn^{2+} իոնները խթանում են, իսկ Fe^{3+} իոնները ընդհակառակը ընկնում են ֆերմենտների ակտիվությունը ձկան բոլոր օրգաններում:

The regulation of the activity of the enzymes (ornitine transaminase and pyrroline-5-carboxylate reductase) during the proline synthesis from the ornitine in the different organs of the trout has been studied. The enzymes of the proline synthesis are soluble and are mainly found in the sedimentary fraction of the homogenate. It is discovered that the activity of the enzymes is much higher in the liver. In all the organs of the fish, the proline synthesis is much more effective in the cases when the ornitine and α -ketoglutarate appear to be substrate. But in the heart, in the gills and in the roes the ornitine and oxaloacetate show the same effectiveness as the ornitine and α -ketoglutarate do. Compared with the NADPH, the NADH is a more effective cofactor for the pyrroline-5-carboxylate reductase. The ions of Mn^{2+} stimulate, but the ions of Fe^{3+} , just the opposite, prevent the activity of the enzymes in all the organs of the fish.

Орнитинтрансминаза - пирролин-5-карбоксилатредуктаза - регулирование активности - форель

Биосинтез пролина из орнитина осуществляется с помощью двух ферментов: орнитинтрансаминазы (ОТ) и пирролин-5-карбоксилатредуктазы (П5КР).

Во многих тканях [4] при биосинтезе пролина наблюдается строгая корреляция между активностью ОТ и П5КР. Орнитинтрансаминазная активность обнаружена у многих растений [5]. Примечательно, что в семенах тыквы ОТ ингибируется пролином [5]. ОТ имеет сложную регуляцию. Например, в печени крыс фермент подвергается репрессии при голодании по аргинину [6]. У клостридий во время синтеза пролина из орнитина происходит дезаминирование орнитина [3].

П5КР катализирует последнюю стадию синтеза пролина. Этот фермент как кофактор использует НАДН или НАДФН, иногда оба вместе. Для П5КР, очищенной из клостридий, кофактором служит НАДН [3]. П5КР подавляется пиримидиновыми нуклеотидами, а иногда пролином.

Настоящая работа посвящена изучению некоторых регуляторных возможностей ОТ и П5КР в различных органах форели.

Материал и методика. Объектом исследований служили самки рыбы форель (*Parasalmo mikiss*) массой 0.7-1кг. Исследования проводили в летние месяцы (июнь). Повторность исследований пятикратная. Активность ферментов биосинтеза пролина определяли по количеству синтезированного пролина. Количество пролина определяли химическим методом Блуменкрантца [2].

Результаты и обсуждение. Нами изучалась внутриклеточная локализация ферментов биосинтеза пролина в некоторых органах форели (табл.1).

Таблица 1. Внутриклеточная локализация ферментов биосинтеза пролина в различных органах форели, 1мкМоль/г свежей ткани, n=5

Органы	Фракции	Активность ОТ и П5КР, М±m
Почки	гомогенат	1.12±0.08
	надосадок	0.28±0.03
	осадок	0.73±0.05
Печень	гомогенат	5.32±0.38
	надосадок	2.17±0.15
	осадок	3.07±0.21
Сердце	гомогенат	2.29±0.17
	надосадок	1.69±0.1
	осадок	1.51±0.09

Из данных таблицы видно, что ферменты биосинтеза пролина были обнаружены и в надосадочной фракции гомогената, т. е. являются растворимыми.

Была изучена также активность орнитинтрансаминазы и пирролин-5-карбоксилат редуктазы в различных органах форели (табл.2).

Таблица 2. Активность ферментов биосинтеза пролина в различных органах форели, 1 мкМоль/г свежей ткани, n=5

Органы	Активность ОТ и П5КР, М±m
Почки	1.01±0.07
Печень	5.21±0.37
Сердце	2.78±0.2
Жабры	1.69±0.17
Икринки	6.4±0.44

Выявлено, что активность ферментов биосинтеза пролина из орнитина наиболее высока в печени и икринках и наиболее низка в почках. В печени активность ферментов примерно в 5 раз превышает таковую в почках.

Далее исследовали влияние различных субстратов на активность ферментов биосинтеза пролина в различных органах форели (табл.3).

Таблица 3. Влияние различных кетакислот на активность ферментов биосинтеза пролина в различных органах форели, 1 мкМоль/г свежей ткани, n=5

Органы	Субстраты	Активность ОТ и П5КР, М±m
Почки	орн + α -КГ	1.19±0.08
	орн + пируват	0
	орн + оксалоацетат	0
Печень	орн + α -КГ	5.12±0.35
	орн + пируват	0
	орн + оксалоацетат	0.67±0.03
Сердце	орн + α -КГ	2.67±0.19
	орн + пируват	0
	орн + оксалоацетат	2.67±0.19
Жабры	орн + α -КГ	1.74±0.2
	орн + пируват	1.01±0.07
	орн + оксалоацетат	1.74±0.2
Икринки	орн + α -КГ	6.26±0.4
	орн + пируват	3.4±0.24
	орн + оксалоацетат	6.26±0.4

Из табл. видно, что во всех органах форели процесс биосинтеза пролина наиболее эффективен, когда субстратом являются орнитин и α-кетоглутарат. Но в сердце, жабрах и икринках орнитин и оксалоацетат проявляют такую же эффективность, как орнитин и α-кетоглутарат. В почках и печени биосинтез пролина из пирувата и оксалоацетата почти не происходит. Эти результаты соответствуют данным, полученным в нашей лаборатории относительно различных органов крыс во время беременности и лактации [1].

Мы исследовали также влияние некоторых кофакторов на активность ферментов биосинтеза пролина у форели (табл. 4).

Согласно таблице, во всех органах форели НАДН является более эффективным кофактором для П5КР, по сравнению с НАДФН. Это не

соответствует полученным ранее в нашей лаборатории данным, согласно которым НАДФН является наиболее эффективным кофактором для многих объектов. В мозгу и почках в присутствии НАДФН активность ферментов равна нулю.

Таблица 4. Влияние некоторых кофакторов на активность ферментов биосинтеза пролина в различных органах форели, 1 мкМоль/г свежей ткани, n=5

Органы	Кофакторы	Активность ОТ и П5КР, М±m
Почки	НАДН	0.97±0.06
	НАДФН	0
Печень	НАДН	5.37±0.38
	НАДФН	3.08±0.21
Сердце	НАДН	2.92±0.2
	НАДФН	2.21±0.16
Жабры	НАДН	1.75±0.11
	НАДФН	0.86±0.05
Мозг	НАДН	2.33±0.17
	НАДФН	0

Исследование влияния некоторых ионов на активность ферментов биосинтеза пролина в различных органах форели представлены в табл.5.

Таблица 5. Влияние некоторых ионов на активность ферментов биосинтеза пролина в различных органах форели, 1 мкМоль/г свежей ткани, n=5

Органы	Ионы металлов	Концентрация, М	Активность ОТ и П5КР, М±m
Почки	без эффектора		1.21±0.08
	Mn ²⁺	5x10 ⁻⁶	10.24±0.7
	Co ²⁺	5x10 ⁻⁶	0
	Fe ²⁺	5x10 ⁻⁶	0
	Fe ³⁺	5x10 ⁻⁶	0
	Cd ²⁺	5x10 ⁻⁶	0.79±0.05
Печень	без эффектора		5.15 ± 0.35
	Mn ²⁺	5x10 ⁻⁶	9.25±0.65
	Co ²⁺	5x10 ⁻⁶	18.47±0.95
	Fe ²⁺	5x10 ⁻⁶	0.43±0.04
	Fe ³⁺	5x10 ⁻⁶	0
	Cd ²⁺	5x10 ⁻⁶	6.0±0.38
Сердце	без эффектора		2.67 ± 0.19
	Mn ²⁺	5x10 ⁻⁶	12.82±0.81
	Co ²⁺	5x10 ⁻⁶	0
	Fe ²⁺	5x10 ⁻⁶	1.25±0.17
	Fe ³⁺	5x10 ⁻⁶	0
	Cd ²⁺	5x10 ⁻⁶	0.99±0.07

Обнаружено, что во всех органах форели ионы Mn^{2+} повышают, а ионы Fe^{3+} , наоборот, подавляют активность ферментов биосинтеза пролина. Ионы Cd^{2+} и Co^{2+} повышают активность ферментов только в печени. Ионы Fe^{2+} также подавляют активность ферментов, но в меньшей степени, чем ионы Fe^{3+} .

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян А.Х., Арутюнян Л.М. Биолог. ж. Армении, 32, 1179-1184, 1979.
2. Blumenkrantz N. Clin. Biochem, 13, 177, 1980.
3. Costilow R.N., Laycock L.J. Biol. Chem, 246, 6655-6660, 1971.
4. Smith R.J., Phang J.M. Metabolizm, 27, 685-694, 1978.
5. Splitstoesser S.A., Splitstoesser W.E. Phitochem, 12, 1565-1568, 1973.
6. Volpe P., Strecker H.J., Biochem. Biophys. Res. Commun., 32, 240-245, 1968.

Поступила 04.IV.2005