Հայաստանի Գիտությունների Ազգային Ակադեմիա, Հայաստանի Կենսաբանական Հանդես
Национальная Академия Наук Армении, Биологический Журнал Армении
National Academy of Sciences of Armenia, Biological Journal of Armenia

Биолог. журн. Армении, 1-2 (57), 2005

УДК591.1.05

ОСОБЕННОСТИ ФЕРМЕНТОВ БИОСИНТЕЗА ПРОЛИНА В РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНАХ ФОРЕЛИ *PARASALMO MIKIS*

А.Х. АГАДЖАНЯН, А.А. ЗАХАРЯН, А.А. АГАДЖАНЯН, М.С. МАРТИРОСЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии, 375049

The characteristics of enzymes (ornithine transaminase: OT and pyrroline-5-carboxylate reductase:P5CR) of biosynthesis from ornithine to proline were studied in different organs of trout. When the extracts of liver and fish-gills of trout were gel-filtrated, two OT and P5CR isoenzymes were discovered. It is revealed, that the activity of enzymes in liver and in fish-gills is higher in that case when the biosynthesis is realized by means of OTI and P5CRII . Both in liver and in fish-gills the activity of biosynthesis enzymes is equal to 0, when the biosynthesis is realized with peculiarity of OTII and P5CRII. It turned out that the activity of enzymes in kidney is higher in case of 45% saturation of ammonium sulphate and in liver in case of 30% saturation.

Орнитинтрансаминаза - пирролин-5-карбоксилатредуктаза - регулирование активности - форель

Регуляция активности ферментов биосинтеза пролина может осуществляться при участии некоторых соединений и имеет ряд особенностей.

Предполагают, что орнитинтрансаминаза (ОТ) является митохондриальным ферментом. А тот факт, что пирролин-5-карбоксилатредуктаза (П5КР) имеет внемитохондриальную локализацию, позволяет заключить, что пирролин-5-карбоновая кислота наделена способностью проникать через митохондриальную мембрану [5].

Знаменательно, что и у клостридий обнаружена П5КР-азная активность [4], но синтез пролина из глютамата не происходит. П5КР обнаружена у одноклеточных организмов, животных и растений [2]. В начале фермент был очищен из печени крупного рогатого скота, затем с помощью гель-фильтрации был очищен 200 раз у *E.coli* [6], его молекулярная масса была равна 320000D. У псевдомонад П5КР является растворимым, оптимальная pH фермента равна 8,5 [4].

Выявлены два изоэнзима ОТ на всех стадиях метаморфоза фасолевой зерновки в кишечнике дождевого червя и один в молочной железе и мозгу контрольных(нормальных) и лактирующих крыс. Обнаружены два изоэнзима П5КР в молочной железе и один в мозге крыс, два у личинок и один у куколок и жуков фасолевой зерновки, три в кишечнике дождевого червя [1].

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

Материал и методика. Объектом исследований служила рыба форель (*Parasalmo mikis*) массой 0,7-1 кг в количестве 6 шт. Активность ферментов биосинтеза пролина определяли по количеству синтезированного пролина. Количество пролина определяли химическим методом Блуменкрантца [3]. Гель-фильтрацию проводили на колонке с сефадексом G-150.

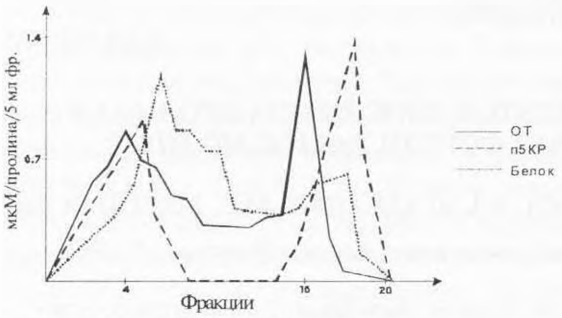

Рис. 1. Изоэнзимы ОТ и П5КР жабр форели.

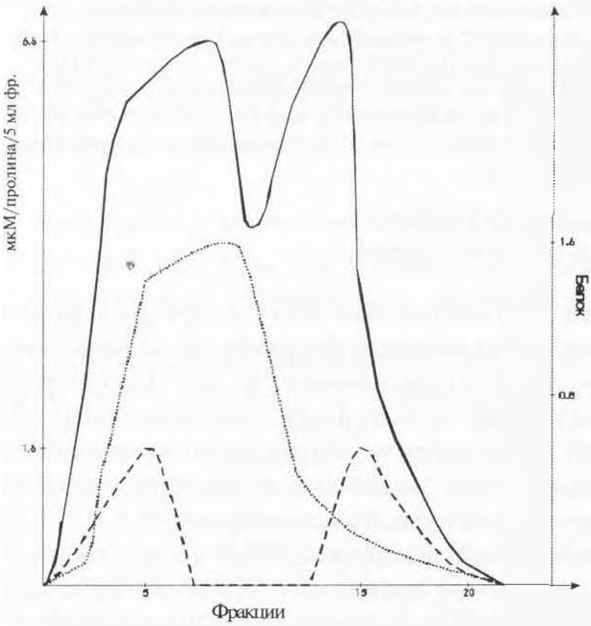

Рис. 2. Изоэнзимы ОТ и П5КР печени форели.

Результаты и обсуждение. При гель-фильтрации экстрактов печени и жабр форели на сефадексе G-150 обнаружены по два изоэнзима ОТ и П5КР.Активность изоэнзимов ОТI и П5КРI жабр форели уступает таковым ОТII и П5КРII. А в печени активность изоэнзимов П5КРI и П5КРII одинакова.

В следующих экспериментах с целью большей наглядности нами была изучена активность ферментов биосинтеза пролина с помощью разных комбинаций изоферментов ОТ и П5КР (табл.1 и 2).

Из табл. 1 и 2 видно, что в печени и жабрах наивысшая активность проявляется тогда, когда биосинтез пролина осуществляется изоэнзимами ОТI и П5КРII. Следует отметить, что когда биосинтез пролина осуществляется изоэнзимами ОТI и П5КРI, проявляется почти такая же активность как и при ОТI и П5КРII.

Нами изучалась также активность ферментов биосинтеза пролина во фракциях гомогенатов почек и печени , которые были получены при насыщении сульфатом аммония (табл.3 и 4).

Из табл. 3 видно, что в почках активность ферментов биосинтеза пролина наиболее высока при 45%-ном насыщении сульфатом аммония. Во всех фракциях активность ферментов высока в осадке. Следовательно, фермент имеет в основном митохондриальную локализацию.

Как кофактор, для ферментов биосинтеза пролина использовали НАДН.

Таблица 1. **Активность ферментов биосинтеза пролина в печени форели, 1мкМ/г свежей ткани (n=5, M±m)**

Изоферменты		Активность
ОТ	П5КР	ОТ и П5КР
I	I	0.78 ± 0.063
I	II	0.86 ± 0.069
II	I	0.12 ± 0.009
II	II	0

Таблица 2. **Активность ферментов биосинтеза пролина в жабрах форели, 1мкМ/г свежей ткани (n=5, M±m)**

Изоферменты		Активность
ОТ	П5КР	ОТ и П5КР
I	I	0.10 ± 0.008
I	II	0.12 ± 0.009
II	I	0.07 ± 0.005
II	II	0

Таблица 3. **Активность ферментов биосинтеза пролина во фракциях гомогената почек форели, 1мкМ/г свежей ткани (n=5, M±m)**

Степень насыщения сульфатом аммония,%	Фракции	Активность ОТ и П5КР	Распределение активности, %
гомогенат			1.0 ± 0.07 100
30	осадок	0.14 ± 0.02	14
	надосадок	0.023 ± 0.01	2.3
45	осадок	0.25 ± 0.03	25
	надосадок	0.22 ± 0.02	22
60	осадок	0.19 ± 0.01	19
	надосадок	0	0

Далее из табл. 4 видно, что в печени активность ферментов биосинтеза пролина наиболее высока при 30%-ном насыщении сульфатом аммония. Видно также, что в печени в надосадке гомогената активность ферментов биосинтеза пролина в 3.5 раза уступает таковой в осадке.

Таким образом, в изученных нами органах ферменты биосинтеза

Таблица 4. **Активность ферментов биосинтеза пролина во фракциях гомогената печени форели,1мкМ/г свежей ткани (n=5, M±m)**

Степень насыщения сульфатом аммония, %	Фракции	Активность ОТ и П5КР	Распределение активности, %
гомогенат		5.05 ± 0.35	100
30	осадок	1.55 ± 0.09	30.7
	надосадок	0.45 ± 0.04	8.9
45	осадок	1.2 ± 0.08	23.8
	надосадок	0.14 ± 0.02	2.8
60	осадок	1.13 ± 0.08	22.4
	надосадок	0.14 ± 0.02	0

Кофактор - НАДН.

пролина имеют митохондриальную локализацию.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Агаджанян А.Х., Арутюнян Л.М.* Биолог. журн. Армении, 32, 1179-1184.
2. *Brandriss M.C.* J. Bacteriol,138,816-822,1979.
3. *Blumenkrantz N.* Clin. Biochem, 13, 177, 1980.
4. *Costilow R.N., Cooper D.* J. Bacteriol,134,139-146, 1978.
5. *Mazelis M. Fowden L.* Phitochemistry, 8, 801-809, 1969.
6. *Rossi J.J., Vender J., Berg C.M., Coleman W. H.* J. Bacteriol, 129, 108-114, 1977.

Поступила 04.IV.2005