

УДК 577.1

М.А.ДАВТЯН, ДЖ.А.ВАРДАНЯН, И.В.ГОГИНЯН

### СУБСТРАТНАЯ ИНДУКЦИЯ АРГИНАЗЫ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА

Выявлена субстратная индукция аргиназы проростков гороха в присутствии различных концентраций L-аргинина. При гельфильтрации экстракта последних выявлен один пик активности фермента, который при субстратной индукции значительно повышается.

Известно, что аргиназа подвергается субстратной индукции у различных одноклеточных организмов [1]. Установлена также индукция катаболических ферментов аминокислот, в том числе аргиназы, при голодании у животных [2].

**Материал и методика.** Объектом исследования служили семена гороха при прорастании. Гомогенизация проводилась в стеклянном гомогенизаторе типа Поттер-Элвджема при 0–4°C с кварцевым песком в дистиллированной воде. Аргиназная активность определялась методом Ратнер [3] с последующим определением мочевины по Арчибальду [4]. Индукция аргиназы проростков гороха осуществлялась следующим образом. Семена гороха замачивались в дистиллированной воде и оставлялись на ночь: утром переносились в чашки Петри на фильтровальную бумагу. После четырехдневного прорастания семена поливались 0,01M или 0,03M раствором аргинина (рН 7,0) в качестве источника азота.

**Результаты и обсуждение.** Приведенные в таблице данные свидетельствуют о том, что при выращивании в среде с аргинином в качестве источника азота в проростках (по сравнению с контролем) наблюдаются некоторые сдвиги в содержании белка.

*Индукция аргиназы проростков гороха, активность в мкм мочевины*

Дни прорастания	Контроль		0,01M аргинин			0,03M аргинин		
	белок	активность	белок	активность	% активации	белок	активность	% активации
6	21,2	56,4	22,2	56,6	2	24,3	66,9	19
7	13,1	35,5	15,2	45,8	29	16,3	48,7	37
9	11,0	17,5	12,9	24,9	40	12,7	22,7	30
11	8,4	6,3	8,4	7,2	14	8,3	7,5	19
16	6,5	3,7	7,1	4,5	22	8,8	7,4	100

В испытанных двух вариантах наблюдается также значительное активирование аргиназы. Так, в вариантах с 0,01M раствором аргинина наибольший эффект (40%) наблюдается на 9-ый день прорастания семян, в то время как в таковых с 0,03M раствором аргинина увеличение активности продолжается и достигает своего максимума (100%) на 16-ый день прорастания семян. Это свидетельствует о существовании субстратной индукции фермента у проростков гороха.

Следует отметить, что в доступной нам литературе имеется лишь одна работа [5], свидетельствующая о существовании субстратной индукции растительной арги-

назы. В дисках таллома лишайника при инкубации при  $26^{\circ}\text{C}$  в темноте в  $0,1\text{M}$  трис- $\text{HCl}$  буфере,  $\text{pH } 9,1$ , содержащем в качестве источника азота  $40\text{мМ}$   $L$ -аргинина, в течение шести часов аргиназная активность повышается, после чего она резко падает. Авторы предполагают, что падение аргиназной активности происходит от воздействия фенольных веществ, которые выделяются из лишайника [5].

Наши опыты показали, что в 9-дневных проростках гороха в присутствии  $0,01\text{M}$   $L$ -аргинина аргиназная активность значительно повышается вследствие индукции фермента.

Предыдущие наши исследования [6] показали, что при гельфильтрации бесклеточного экстракта проростков гороха на сефадексе G-200 выявляется один пик аргиназной активности. Интересно было бы исследовать возможные (вследствие индукции) изменения в поведении бесклеточного экстракта проростков гороха при тех же условиях гельфильтрации.

С этой целью на следующем этапе нами исследовался изоэнзимный спектр аргиназы проростков гороха при субстратной индукции.

Исследования проводились на бесклеточном экстракте проростков гороха на 9-ый день прорастания. Для этого бесклеточный экстракт проростков гороха подвергался гельфильтрации на сефадексе G-200, уравновешенном  $0,02\text{M}$  трис-ацетатным буфером,  $\text{pH } 8,0$ . Элюция из колонки проводилась тем же буфером со скоростью  $20\text{ мл/ч}$  при  $0-4^{\circ}\text{C}$ . Содержание белка определялось измерением оптической плотности при  $280\text{нм}$  на спектрофотометре СФ-10.

Как свидетельствуют полученные данные (рис. 1,2), ферментативная активность фильтруется также одним (но с заметно повышенной активностью) пиком, очевидно, вследствие субстратной индукции, по сравнению с контрольным вариантом, в то время как уровни белковых пиков в контрольном и индуцированном вариантах почти одинаковы.

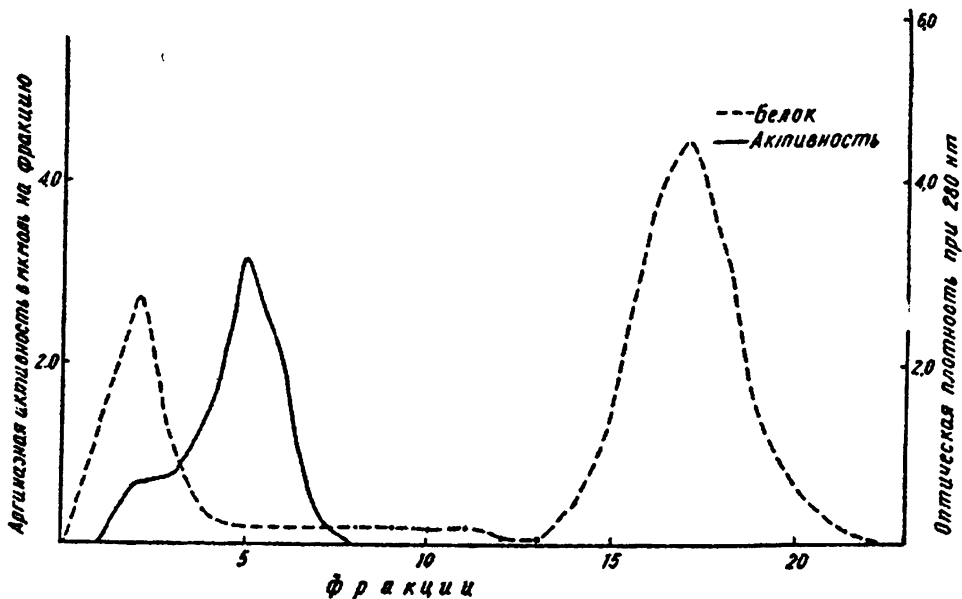


Рис. 1. Гельфильтрация бесклеточного экстракта 9-дневных проростков гороха на сефадексе G-200.

Таким образом, субстратная индукция аргиназы проростков гороха не приводит к качественным изменениям в изоэнзимном спектре. Происходит лишь повышение уровня имеющегося пика активности фермента.

Интересно сравнить наши данные с аргиназной активностью таллома лишайника при субстратной индукции. При гельфильтрации его экстракта также выявлен один пик активности, который при субстратной индукции значительно повышается.

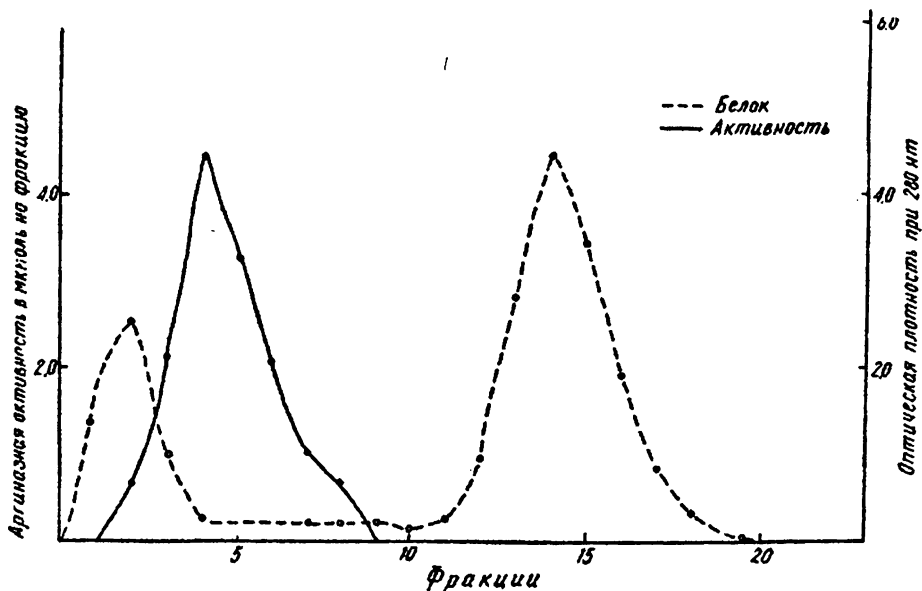


Рис.2. Гельфильтрация бесклеточного экстракта проростков гороха на сефадексе G-200 при субстратной индукции.

У дрожжей *C.guilliermondii* из имеющихся двух пиков активности аргиназы при субстратной индукции происходит резкое повышение активности лишь I пика, тогда как активность II пика остается без изменения [7]. Подобные данные получены также при субстратной индукции аэробных инфузорий [8]. Повышение активности только I изофермента авторы объясняют тем, что обнаруженные два пика аргиназной активности находятся под различным генетическим контролем.

Институт биохимии, научно-исследовательская лаборатория сравнительной и эволюционной биохимии

Поступила 20.05.1998

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Шимке Р.Т. Регуляторные механизмы клетки, М., 1964.
2. Давтян М.А., Петросян Л.А. — Биол. ж.Армении, 1970, т. 23, №9.
3. Ratner S., Pappas A. — Biochem. J., 1949, v. 179, p. 1183.
4. Archibald R.M. — J. Biol. Chem., 1944, v. 156, p. 121.
5. Jegaz E., Vicente C. — Cniphogamie Bryol., Lichenol, 1981, v. 4, p. 407.
6. Давтян М.А., Вардамян Дж.А. — Уч. записки ЕГУ, 1989, №1
7. Габриелян Г.А. — Ферменты орнитинового цикла у дрожжей *Candida guilliermondii* ВКМ-Y-42: Автореф. дис. на соискание уч. ст. канд. биол. наук. Ер.: 1980.
8. Заробян Т.Я., Агаджанян А.Х., Давтян М.А. — Биол. ж.Армении, 1976, т. 29, №6.

ՈԼՈՌԻ ԾԻԼԵՐԻ ԱՐԳԻՆԱԶԻ ՍՈՒԲՍՏՐԱՏԱՅԻՆ ԻՆԴՈՒԿՑԻԱՆ

Ա մ փ ո փ ու մ

*L*-արգինինի տարբեր խտությունների առկայությամբ տեղի է ունեցել ոլոռի ծիլերի արգինազի սուբստրատային ինդուկցիա:

Ժելֆիլտրացիայի մեթոդով հայտնաբերվել է ոլոռի ծիլերի արգինազային ակտիվության մեկ զազաթ, որի մակարդակը զգալի բարձրացել է ֆերմենտի սուբստրատային ինդուկցիայի հետևանքով: