

Г. Я. ВИЛЕНКИНА

## НОВЫЕ ДАННЫЕ О ФЕРМЕНТНЫХ СИСТЕМАХ, ОБРАЗУЮЩИХ ГЛИЦИН ИЗ $\beta$ -ОКСИАМИНОКИСЛОТ

(Представлено академиком А. И. Опариным 20 III 1952)

Ранее мы сообщали о свойствах, распространении и химизме действия ферментной системы, расщепляющей серин, треонин и другие  $\beta$ -окси- $\alpha$ -аминокислоты с образованием глицина (глициногеназы) (1, 2). В дальнейшем нами было показано, что ферментативное образование глицина из серина в печени крыс и цыплят полностью прекращается при недостаточности фолиевой кислоты, тогда как аналогичный процесс расщепления треонина и аллотреонина не зависит от обеспечения организма фолиевой кислотой (3).

В настоящей работе приведены новые данные, подтверждающие различие ферментных систем, расщепляющих серин, с одной стороны, и треонин и аллотреонин, с другой. Приведены также результаты опытов, уточняющих вопрос об интенсивности расщепления треонина и о стереоспецифичности соответствующего фермента.

Постановка опытов и методика определения глицина описаны ранее (1-3).

Результаты опытов и обсуждение. Рассматривая вопрос о стереохимической специфичности «глициногеназы», мы, ввиду отсутствия препарата *L*-серина, должны были ограничиться заключением об избирательном расщеплении *L*-изомера, основываясь на том, что в живом организме, по данным литературы, глицин образуется только из *L*-изомера серина (см. (1)).

При сравнении скоростей образования глицина из *L*-треонина (импортный препарат, выделенный из фибрина) и из *DL*-треонина мы получили сбивчивые результаты, так как различные препараты рацемической аминокислоты, имевшиеся в нашем распоряжении, расщеплялись с неодинаковой скоростью и в ряде случаев быстрее, чем *L*-изомер. В 1951 г. мы получили препарат *DL*-треонина, который, по данным микробиологического анализа, не содержал примеси аллотреонина\* (аллотреонин присутствует во всех образцах синтетического треонина, не подвергнутых специальной обработке).

Результаты опытов показали, что срезы и гомогенаты печени образуют из этого препарата (№ 3) и из одного импортного образца *DL*-треонина (№ 4) значительно меньшие количества глицина, чем из всех остальных препаратов. Более высокая скорость расщепления других препаратов рацемического треонина (№№ 1 и 2) должна быть отнесена за счет загрязнения этих образцов различными количествами аллотреонина.

\* Препарат синтезирован в Институте биологической и медицинской химии АМН СССР проф. С. И. Лурье, которой мы приносим благодарность за любезное предоставление его.

Скорость расщепления последнего настолько высока, что даже небольшая примесь его искажает результаты опыта.

Из чистого *DL*-треонина (0,015 *M*) ферментная система печени образует примерно такое же количество глицина, как из *DL*-серина (0,015 *M*), и притом вдвое меньше, чем из *L*-треонина (см. табл. 1). Отсюда можно заключить, что действие фермента, расщепляющего треонин, избирательно направлено на *L*-изомер.

При сопоставлении ферментативного расщепления серина с расщеплением треонина или аллотреонина оказалось, что эти процессы по многим признакам сходны. Это относится, например, к оптимальному рН ферментативной реакции (рН 7,7), температуре тепловой инактивации ферментов (65°), сохранению их активности при анаэробных условиях в бесструктурных ферментных растворах и обезвоженных препаратах, а также к влиянию некоторых ферментных ядов (см. ниже).

При более детальном изучении выявился, однако, ряд существенных отличий, которые несовместимы с предположением об идентичности ферментов, действующих на серин

и на его высшие гомологи. Как упомянуто выше, при недостаточности фолиевой кислоты нарушается только расщепление серина. Далее мы убедились, что при большой и относительно постоянной скорости расщепления аллотреонина в препаратах печени одного и того же или различных видов (35—45  $\mu$ Мг) наблюдаются резкие видовые и индивидуальные различия в величинах расщепления серина у тех же животных (от 18  $\mu$ М до нуля), иначе говоря, интенсивности обоих превращений варьируют независимо.

Исследование зависимости величин ферментативного расщепления от концентрации субстратов показало, что с повышением концентрации треонина или аллотреонина и их высших гомологов от 0,005 до 0,04 *M* и выше количество образуемого глицина равномерно возрастает, для серина же оно при концентрации 0,015 *M* достигает максимального уровня, на котором держится до 0,02 *M* и при дальнейшем повышении концентрации субстрата круто снижается до нуля (см. рис. 1).

Табл. 2 показывает, что существенные отличия имеются также в чувствительности превращений серина и треонина к воздействию некоторых химических агентов. Так, ионы меди ( $10^{-3}$  *M*) тормозят расщепление субстратов обоого рода в одинаковой мере, фтористый натрий ( $10^{-3}$  *M*) не тормозит ни той, ни другой реакции, тогда как моноацетат и гидросиламин ( $10^{-3}$  *M*) задерживают расщепление аллотреонина (и треонина) на 70—100%, но не влияют на образование глицина из серина.

Таблица 1

Расщепление *DL*-аллотреонина и различных препаратов треонина

Субстраты	Прирост глицина в $\mu$ М
<i>DL</i> -аллотреонин . . . . .	37,0
<i>DL</i> -треонин № 1 . . . . .	30,0
"      № 2 . . . . .	8,0
"      № 3 . . . . .	4,0
"      № 4 . . . . .	3,8
<i>L</i> -треонин (из фибрина)	7,6

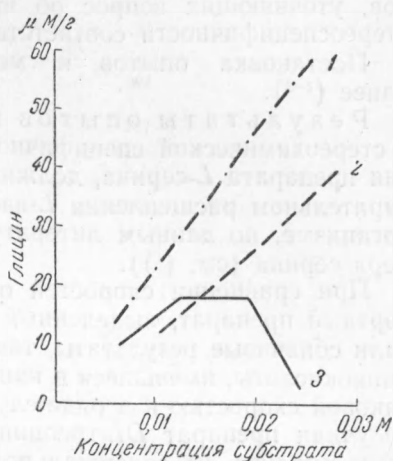


Рис. 1. Образование глицина из  $\beta$ -оксиаминокислот при изменении концентрации субстратов, 1 — *DL*-аллотреонин, 2 — *DL*-треонин, 3 — *DL*-серин

Таблица 2

Действие химических агентов на образование глицина из DL-серина и из DL-аллотреонина

Химические агенты		Торможение расщепления в %	
		DL-аллотреонин	DL-серин
Гидроксиламин	$10^{-4}$ M	55	0
„	$10^{-3}$ M	70—100	0
Моноацетат	$10^{-4}$ M	14	0
„	$10^{-3}$ M	51	0
„	$2 \cdot 10^{-3}$ M	83	0
„	$10^{-2}$ M	100	0
Медь сернокислая	$10^{-4}$ M	50	—
„	$10^{-3}$ M	75—100	100
Na-фторид	$10^{-2}$ M	0	—
„	$10^{-3}$ M	0	0

Неодинаково также поведение ферментных систем, действующих на серин и на треонин, при переходе от срезов к бесклеточным препаратам и при дальнейшей обработке последних (см. табл. 3).

Таблица 3

Активность ферментов, расщепляющих  $\beta$ -оксиаминокислоты, в препаратах из печени крысы (в % от активности в срезах)

Препараты печени	DL-аллотреонин	DL-треонин	DL-серин
Срезы . . . . .	100	100	100
Гомогенат . . . . .	88	60	45
Водный экстракт . . . . .	75	40	30
Диализованный водный экстракт . . . . .	45	35	0

Величина образования глицина из треонина и аллотреонина (в расчете на 1 г исходной ткани) относительно мало уменьшается в гомогенатах, экстрактах и диализованных экстрактах печени по сравнению с величинами превращения в срезах. При той же обработке образования глицина из серина значительно понижается и после кратковременного диализа ферментного экстракта падает до нуля.

Активность диализованного ферментного экстракта по отношению к серину может быть восстановлена добавлением кипяченой вытяжки из печени различных животных или из дрожжей. Тем же путем можно восстановить расщепление серина в гомогенатах или срезах печени, полученных от крыс с недостаточностью фолиевой кислоты (см. табл. 4).

Совокупность полученных нами данных с полной определенностью показывает, что ферментные системы, действующие на треонин и на серин, различны. В действии второй системы (расщепляющей серин), в отличие от первой, участвует сравнительно легко диссоциирующий кофактор, образование которого, повидимому, зависит от наличия фолиевой кислоты в питании.

Мы имеем основания предполагать, что таким кофактором может являться так называемый «фактор *Leuconostoc citrovorum*» (фолиевая кислота, ср. (4)) или производное этого фактора. Исследование белковых

Таблица 4

Активирование ферментативного расщепления серина посредством термостабильного кофактора

Ферментный препарат	Образование глицина в $\mu\text{M}/\text{г}$		
	без добавок	с кипяченым экстрактом печени	с кипяченым экстрактом дрожжей
Диализованный экстракт печени крысы . . . . .	0	3,6	5,5
Диализованный экстракт печени морской свинки	0	6,0	—
Гомогенат печени крысы с фолиевой недостаточностью . . . . .	0,7	5,7	6,5

и небелковых компонентов ферментной системы образования глицина нами продолжается.

Приношу глубокую благодарность действительному члену Академии медицинских наук СССР проф. А. Е. Браунштейну за руководство работой.

Институт биологической и медицинской химии  
Академии медицинских наук СССР

Поступило  
12 I 1952

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

<sup>1</sup> А. Е. Браунштейн и Г. Я. Виленкина, ДАН, **64**, 243 (1949). <sup>2</sup> Г. Я. Виленкина, ДАН, **69**, 385 (1949). <sup>3</sup> А. Е. Браунштейн и Г. Я. Виленкина, ДАН, **70**, 639 (1951). <sup>4</sup> G. Emerson and K. Folkers, Ann. Rev. Biochem., **20**, 559 (1951).