

Архив журнала

Вопросы медицинской химии

ISSN 0042-8809

1989 том 35 выпуск 3

Внимание! Распознавание текста проведено в автоматическом режиме для облегчения работы поисковых систем. Будьте внимательны при копировании, возможны ошибки и неточности.

Voprosy meditsinskoï khimii

The journal archive

ISSN 0042-8809

1989 volume 35 issue 3

Attention! OCR has been performed automatically for search engines only. Be careful when copying, errors are possible.

<http://pbmc.ibmc.msk.ru>

ТОМ 35

ВЫПУСК 3

МАЙ — ИЮНЬ

Двухмесячный научно-теоретический журнал

Основан в 1955 г.

ВОПРОСЫ МЕДИЦИНСКОЙ ХИМИИ



МОСКВА · МЕДИЦИНА · 1989



РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор С. С. ДЕБОВ

В. Б. СПИРИЧЕВ (зам. редактора), И. П. АШМАРИН, Т. Т. БЕРЕЗОВ, А. А. ВАСИЛЬЕВ, Е. Н. ГЕРАСИМОВА, В. З. ГОРКИН, И. Б. ЗБАРСКИЙ, В. Л. КОЗЕЛЬЦЕВ (ответственный секретарь), А. И. КЛИМОВ, Б. Ф. КОРОВКИН, Л. А. ЛОКШИНА, В. Н. ОРЕХОВИЧ, Л. Ф. ПАНЧЕНКО, М. Ш. ПРОМЫСЛОВ, Е. Л. РОЗЕНФЕЛЬД, Ю. А. РОМАКОВ, В. А. САКС, С. Е. СЕВЕРИН, В. А. ТУТЕЛЬЯН

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

БАЕВ А. А. (Москва)

БЕЛИЦЕР В. А. (Киев)

БЫЧКОВ С. М. (Москва)

КОНСТАНТИНОВ А. А. (Хабаровск)

КУДРЯШОВ Б. А. (Москва)

ЛЯХОВИЧ В. В. (Новосибирск)

ПАСХИНА Т. С. (Москва)

ТРОИЦКИЙ Г. В. (Симферополь)

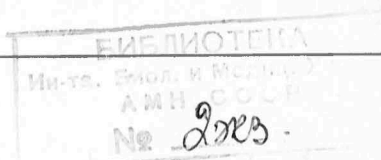
ТУРАКУЛОВ Я. Х. (Ташкент)

ТЯХЕПЫЛД Л. Я. (Тарту)

ШАПОВ В. С. (Москва)

ЯКОВЛЕВ Н. Н. (Ленинград)

ЯСАЙТИС А. А. (Вильнюс)



4. Михайлов В. Н. // Ленинградский военный округ. Военно-мед. отдел: Военно-научная конф. врачей, 4-я: Труды. — Л., 1970. — С. 498—500.
5. Мовшев Б. Е., Аверченко В. И. // Бюл. экспер. биол. — 1982. — № 12. — С. 33—35.
6. Назаров П. Г., Софронов Б. Н. // Медиаторы иммунного ответа в эксперименте и клинике. — М., 1983. — С. 112—113.
7. Татаринов Ю. С., Мясоевич Н. В., Парфенова Л. Ф. // Акуш. и гин. — 1970. — № 9. — С. 25—27.
8. Файн М. А. // Карельская респ. науч.-практ. конф. судебно-медицинских экспертов, 7-я: Тезисы докладов. — Петрозаводск, 1973. — С. 68—69.
9. Храмова Н. И., Абелев Г. И. // Бюл. экспер. биол. — 1961. — № 12. — С. 107—109.
10. Янаева А. Я., Чишьева М. А., Грачева Л. Н. и др. // Некоторые неотложные состояния в клинике внутренних болезней и их лечение. — Саратов, 1977. — С. 101—104.
11. Baum L. L., James K. K., Naviano R. R., Yewurz H. // J. exp. Med. — 1983. — Vol. 157. — P. 301—311.
12. Bohn H. // Blut. — 1973. — Bd 26. — S. 205—209.
13. Mortensen R. F., Beisel K., Zeleznik N. J., Le P. T. // J. Immunol. — 1983. — Vol. 130. — P. 885—891.
14. Pepys M. B., Baltz G. K., Davies A. J., Doenhoff M. // Nature. — 1979. — Vol. 278. — P. 259—262.
15. Stimson W. H., Tham G. N. // Lancet. — 1976. — Vol. 1. — P. 813—815.
16. Tham G. N., Szabo I. F., Szabo D. G. // Ibid. — 1974. — Vol. 2. — P. 1578—1579.
17. Udagawa Y., Armstrong S. S., Waltes G. T. et al. // Clin. exp. Immunol. — 1985. — Vol. 61. — P. 397—405.
18. Van Gool J. // Ned. Geneesk. — 1980. — Vol. 124. — P. 869—875.
19. Vigo C. // J. biol. Chem. — 1985. — Vol. 260. — P. 3418—3422.

Поступила 15.12.87

SIGNIFICANCE OF THE ACUTE PHASE PROTEIN OCCURRING IN PREGNANCY FOR DIAGNOSTIC EVALUATION OF THE SKIN THERMIC IMPAIRMENTS

V. M. Miroshnikov

A. V. Lunacharsky Medical School, Astrakhan

Content of C-reactive protein and α_2 -glycoprotein occurring in pregnancy was studied in 116 patients with thermic impairments of skin during the treatment procedure. Both detection and concentration of these proteins in blood serum were shown to depend on the disease severity, sex and age of the patients. The ratio between C-reactive protein and α_2 -glycoprotein might be of importance in evaluation and prognosis of reconvalescence and reparative regeneration of the skin burns wounds.

УДК 577.152.213:577.151.6

Н. А. Гончар, О. Г. Гребенщикова, Н. В. Заславская

МОДИФИКАЦИЯ ГИСТИДИНДЕКАРБОКСИЛАЗЫ МИКРОКОККА ТЕТРАНИТРОМЕТАНОМ

Институт медицинской энзимологии АМН СССР, Москва

Гистамин, биосинтез которого катализует фермент гистидиндекарбоксилаза (ГДК), оказывает многообразное действие на метаболизм и физиологические функции организма в норме и при патологии. Изучение свойств модифицированной ГДК позволяет не только глубже понять механизм действия фермента, но и открывает возможность для направленного воздействия на фермент при патологических состояниях. Для модификации ГДК мы использовали тетранитрометан (ТНМ). Этот реагент, широко применяемый в белковой химии, в мягких условиях избирательно нитрует остатки тирозина [15, 21] и окисляет сульфгидрильные группы в белках [14].

Методика

Кристаллическую и гомогенную ГДК из *Micrococcus* sp. n. получали, как описано ранее [6, 8]. Концентрацию фермента определяли по

оптической плотности $A_{278}^{1\%} = 16$ [3]. Декарбоксилазную активность находили манометрическим методом в аппарате Варбурга (37°C, 0,07 М фосфатный буфер, pH 5,6). Ошибка определения декарбоксилазной активности была $\pm 10\%$. Активность фермента (в ед.) выражали в микролитрах CO_2 за первые 10 мин ферментативной реакции. Удельная активность гомогенной ГДК равна 6000 ед/мг.

Нитрование ГДК тетранитрометаном (ТНМ) проводили по методу [21]. Использовали 5% (по объему) раствор ТНМ («Serva», ФРГ) в абсолютном этаноле. К ГДК в $1/15$ М фосфатном буфере (pH 5,6—8,0) добавляли свежеприготовленный раствор ТНМ, смесь инкубировали в течение 1 ч при комнатной температуре и постоянном перемешивании. Концентрация ТНМ была $0,6 \cdot 10^{-3}$ — $6,0 \cdot 10^{-3}$ М. Концентрация ГДК $1,5 \cdot 10^{-5}$ — $3,5 \cdot 10^{-5}$ М. Концентрация этанола в инкубационной смеси была до 2% и не влияла на декарбоксилазную активность. Реакцию обычно останавливали, отделяя избыток реагента гель-фильтрацией на колонке с сефадексом G-25 ($1,5 \times 30$ см) уравновешенную $1/15$ М фосфатным буфером pH 5,6—8,2. Фермент, обработанный сходно, но без ТНМ, брали для контроля. Образцы

Таблица 1

Влияние тетранитрометана на гистидиндекарбоксилазу: нативную, меркаптитированную *n*-ХМБ по 3 SH-группам, обработанную дитиотрептоном (ДТТ)

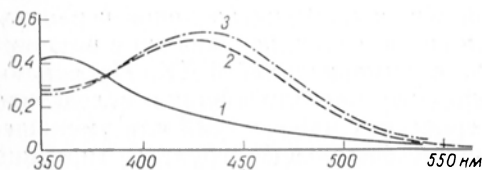
ГДК	ТНМ/ГДК, М	Количество нитротирозинов	Количество окисленных SH-групп	% ингибирования
Нативная	40	1,2	1,6	43
»	80	3,1	2,2	74
»	120	6,1	2,7	82
Меркаптитированная	40	1,3	0	85
»	80	2,8	0	87
»	120	5,8	0	85
Обработанная ДТТ	80	0	0	88
»	120	0	0	90

Примечание. Концентрация ГДК $3,4 \times 10^{-5}$ М, концентрация ДТТ $25 \cdot 10^{-3}$ М (эта концентрация ДТТ не влияет на активность ГДК). Максимальная концентрация ТНМ 4×10^{-3} М. Реакцию проводили при pH 7,5.

анализировали на спектрофотометре Unicam SP-800 (Англия) и СФ-26 (СССР).

Количество нитрованных тирозинов в молекуле ГДК определяли спектрофотометрически по оптической плотности нитротирозина при 428 нм в щелочном растворе (pH 8,0—8,2), принимая значение $4100 \text{ М}^{-1} \text{ см}^{-1}$ как молярную абсорбцию (ϵ), в кислом растворе (pH 5,6) количество введенных нитрогрупп контролировали по оптической плотности при 360 нм, принимая значение $\epsilon = 2790 \text{ М}^{-1} \text{ см}^{-1}$ [10]. Число модифицированных остатков тирозина определяли также измерением абсорбции при 381 нм, используя $\epsilon = 2200 \text{ М}^{-1} \text{ см}^{-1}$. Ошибка в определении числа нитрованных тирозинов была $\pm 0,5$ остатка.

Степень модификации ГДК оценивали по результатам аминокислотного анализа. Кислотный гидролиз проводили в 6 н. HCl (ос. ч) при 110°C в течение 24 ч в запаянных ампулах. Гидролиз белка проводили также в 3 н. *n*-толуолсульфокислоте, содержащей 0,2 % раствор солянокислого триптамина, 24 ч, 105°C [13]. *n*-Толуолсульфокислота и триптамины препараты фирмы «Sigma», США. Степень нитрования определяли аминокислотным анализом по исчезновению тирозина. Содержание триптофана находили после гидролиза в *n*-толуолсульфокислоте. Сульфгидрильные группы



Спектры поглощения нитрогистидиндекарбоксилазы при различных значениях pH.

1 — pH 5,6; 2 — pH 8,0; 3 — pH 10,0. Концентрация нитрогистидиндекарбоксилазы $1,5 \text{ мг/мл}$. По оси абсцисс — длины волн (нм); по оси ординат — оптическая плотность.

определяли с *p*-ХМБ «Koch-Light», Англия) по методу [11]. Фенилгидразон ГДК получали, как описано ранее [3]. Для флюориметрических измерений использовали регистрирующий спектрофлуориметр MPF-2A («Hitachi», Япония).

Результаты и обсуждение

Тетранитрометан влияет на ферментативную активность и физико-химические свойства гистидиндекарбоксилазы при $\text{pH} > 7,0$. Степень модификации зависит от времени инкубации. Поэтому реакцию с ТНМ проводили чаще всего в течение 60 мин при комнатной температуре. Инактивация фермента и его физико-химические свойства зависят от молярного избытка реагента (табл. 1).

В спектрах поглощения модифицированной ГДК появляются новые максимумы поглощения (см. рисунок) при 360 нм (в кислой среде) и 428 нм (в щелочной). Наличие этих максимумов характерно для белков, у которых нитрованы остатки тирозина. Спектры поглощения нитрогистидиндекарбоксилазы изменяются с изменением pH среды. Это показывает, что остатки нитротирозина при изменении pH изменяют свое ионное состояние, причем рК обоих остатков практически не различаются. Известно, что нитрование остатков тирозина приводит к снижению рК фенольной группы с 10 до 7. Если фенольные группы тирозина важны в каталитическом процессе, то изменение их рК при нитровании может существенно сказаться на ферментативной активности. Так как спектры поглощения нитротирозиновых остатков чувствительны к кислотности среды, это делает их особенно удобными для регистрации изменений микроокружения в белке.

При нитровании гистидиндекарбоксилазы тетранитрометаном (pH 7,5) модифицируется один наиболее доступный остаток тирозина при молярном соотношении ТНМ/ГДК = 40, при увеличении молярного соотношения до 80 и 120 нитруется соответственно 3 и 6 остатков тирозина (см. табл. 1). Предварительная инкубация ГДК с субстратом или аналогами субстрата (ингибиторами фермента) не защищает ГДК от нитрования. Если увеличить молярное соотношение ТНМ/ГДК до 750 (время реакции 24 ч), модифицируется до 30 остатков тирозина, белок

Таблица 2

Спектральные характеристики ультрафиолетовой флюоресценции ГДК; нативной, нитрованной по 6 остаткам тирозина, обработанной ДТТ перед нитрованием

ГДК	Максимум спектра возбуждения, нм	Максимум спектра флюоресценции, нм	Интенсивность флюоресценции, усл. ед.
Нативная	285	325	85
Нитрованная по 6 остаткам тирозина	285*	325	25**
Обработанная ДТТ перед нитрованием	285	325	85

* Рассеяние света резко увеличивается.

** При нитровании 15, 30 остатков тирозина ультрафиолетовая флюоресценция не обнаруживается, тогда как флюоресценция в видимой области значительно усиливается.

Примечание. Концентрация ГДК $3,4 \times 10^{-5}$ М, ТНМ/ГДК=120, концентрация ДТТ $25 \cdot 10^{-3}$ М; реакцию нитрования проводили при pH 7,5; гель-фильтрация при pH 5,6.

обнаруживает склонность к агрегации. Увеличение концентрации ТНМ приводит к резкому увеличению числа остатков тирозина, вовлекающихся в процесс модификации, что указывает на существование в молекуле фермента остатков тирозина, отличающихся по своей доступности к ТНМ. В процессе инактивации фермента ТНМ, сопровождающемся изменением его конформации, происходит модификация остатков тирозина, недоступных для ТНМ в нативной ГДК.

Таблица 3

Параметры спектров флюоресценции ГДК, нитрованной по 6 остаткам тирозина

ГДК	Максимум спектра возбуждения, нм	Максимум спектра флюоресценции, нм	Интенсивность флюоресценции, усл. ед.
Нативная	365	Нет	Нет
Нитрованная по 6 остаткам тирозина	365	460	80
Обработанная ДТТ перед нитрованием	365	Нет	Нет

Примечание. Возбуждение флюоресценции производили светом с длиной волны 365 нм; концентрация ГДК — $3,4 \cdot 10^{-5}$ М, ТНМ/ГДК= 120; концентрация ДТТ — $25 \cdot 10^{-3}$ М; реакцию нитрования проводили при pH 7,5; гель-фильтрация при pH 5,6.

Мы исследовали флюоресценцию нитрогистидиндекарбоксилазы в ультрафиолетовой и видимой областях спектра. Флюоресцентные свойства нитрованного и нативного фермента различаются. Флюоресцентные характеристики нативной ГДК подробно изучены ранее [5]. Остатки нитротирозина в ГДК поглощают в области более длинных волн, чем другие хромофоры белка и обладают флюоресцентными свойствами (табл. 2, 3) с максимумом эмиссии, не перекрывающимся с максимумом флюоресценции триптофановых остатков. Нитрогистидиндекарбоксилаза способна флюоресцировать при возбуждении светом с длиной волны 365 нм, давая максимум флюоресценции в области 460 нм (см. табл. 3). Появление флюоресцентных свойств у остатков нитротирозина в ГДК, по-видимому, связано со специфическим окружением этих остатков. Известно, что N-ацетил-3-нитротирозин практически не флюоресцирует. Из табл. 2 видно, что ультрафиолетовая флюоресценция нитрогистидиндекарбоксилазы сильно отличается от флюоресценции нативного фермента по интенсивности. Тушение флюоресценции — не случайное явление; она может служить указанием на специфическое химическое взаимодействие. Уменьшение интенсивности флюоресценции не связано с модификацией остатков триптофана. Об этом свидетельствуют данные аминокислотного анализа и отсутствие поглощения при 305 нм, характерного для триптофана, модифицированного ТНМ. При записи спектров флюоресценции у нитрованного образца наблюдается более сильное рассеяние света при возбуждении с длиной волны 285 нм, в результате которого, по-видимому, уменьшается эффективность флюоресценции. При увеличении рассеяния света флюоресценция обычно становится более слабой. Увеличение интенсивности рассеяния света, очевидно, связано с возможной полимеризацией ГДК. Не исключено, что при нитровании вследствие стерических препятствий или уменьшения pK фенольной группы тирозина изменяется микроокружение остатков триптофана, что тоже может вести к уменьшению интенсивности флюоресценции.

Когда ТНМ был впервые применен как реагент, модифицирующий белок,

Таблица 4

Аминокислотный состав гистидиндекарбоксилазы, нативной и модифицированной ТНМ

Аминокислота	Нативный белок	Модифицированный белок
Asp	120	121
Thr	43	43
Ser	65	66
Glu	117	116
Pro	40	40
Gly	86	86
Ala	67	68
Val	48	48
Met	30	30
Ile	65	66
Leu	54	54
Tyr***	48	42
Phe	28	28
His	10	10
Lys	70	69
Arg	31	31
1/2 Cys*	6	3
Try**	14	14

*) Цистеин определяли титрованием фермента *p*-ХМБ.

**) триптофан определяли после гидролиза *p*-толуолсульфокислотой.

***) по данным спектрофотометрического анализа нитровано 6 остатков тирозина.

[18] считали, что это высокоселективный реагент на тирозин и не сообщали о побочных реакциях. Однако в дальнейшем оказалось, что ТНМ, помимо нитрования остатков тирозина, способен взаимодействовать с остатками цистеина, триптофана, гистидина метионина [12, 19—22]. Кроме того, ТНМ в определенных условиях может вызывать полимеризацию некоторых белков, подвергающихся модификации этим реагентом [16, 17]. Из этого следует, что необходима крайняя осторожность, когда ТНМ используется для специфической модификации остатков тирозина.

Количество модифицированных остатков в молекуле ГДК мы определяли спектрофотометрически и аминокислотным анализом. Аминокислотный состав, представленный в табл. 4, указывает, что ТНМ в выбранных условиях нитрует тирозин, окисляет цистеин и не оказывает влияния на такие аминокислоты, как триптофан, гистидин, метионин. В молекуле ГДК одновременно с нитрованием остатков тирозина происходит окисление остатков цистеина. Из табл. 1 видно, что при нитровании 1 остатка тирозина окисляются 2 остатка цистеина, а нитро-

вание 6 остатков тирозина сопровождается окислением 3 остатков цистеина. После обработки нативного фермента ТНМ SH-группы, важные для ферментативной активности [2, 7], утрачивают свойство реагировать с *p*-ХМБ. Окисленные ТНМ SH-группы можно восстановить дитиотрептолом (ДТТ), и они вновь приобретают свойство реагировать с *p*-ХМБ. Однако ферментативная активность при этом не восстанавливается, происходит необратимая инактивация фермента.

Присутствие в молекуле ГДК реакционноспособных сульфгидрильных групп, важных для ферментативной активности, затрудняет химическую модификацию тирозина без одновременного окисления SH-групп. Поэтому была сделана попытка обратимо защитить все реактивные SH-группы в молекуле ГДК и осуществить селективную химическую модификацию остатков тирозина. Для этого была проведена избирательная ступенчатая модификация ГДК. Нативную ГДК обрабатывали *p*-ХМБ для защиты реакционноспособных SH-групп, а затем нитровали ТНМ. Оказалось, что ГДК, у которой блокированы *p*-ХМБ SH-группы, важные для ферментативной активности, легко нитруется ТНМ (см. табл. 1). Однако после восстановления SH-групп ДТТ активность восстанавливается только частично (на 20—30 %). Можно думать, что модифицированные остатки тирозина играют существенную роль в функционировании ГДК. В результате нитрования возможны локальные изменения структуры фермента, а также полимеризация молекул ГДК, что может отразиться на ее ферментативной активности и затруднить реактивацию фермента.

Представляет интерес инактивация фермента ТНМ после предварительной обработки ГДК ДТТ. Мы обнаружили, что ГДК, предварительно обработанная ДТТ, становится нечувствительной к действию ТНМ. Однако при этом происходит полная необратимая инактивация фермента (см. табл. 1). Не выявлено отличий инактивированной ГДК от нативной по спектрам поглощения, флюоресценции и аминокислотному составу. В молекуле ГДК аминокислоты, в том числе тирозин и цистеин, не модифицируются. Это наводит на мысль о модификации реакционноспособных карбонильных групп

пировиноградной кислоты, которые находятся в активном центре ГДК [1, 3].

Известно, что при окислении дитиотреитола тетранитрометаном одним из продуктов реакции является азотистая кислота [20], которая способна вступать в реакцию присоединения (конденсации) с карбонильной группой [4, 9]. Ранее нами было установлено, что свободная карбонильная группа в активном центре ГДК легко образует фенилгидразон [3]. Мы проверили, будет ли нитрованный фермент и фермент, инактивированный под действием ДТТ+ТНМ, образовывать фенилгидразон. Оказалось, что нитрованный фермент легко образует фенилгидразон, что обнаруживается по появлению в спектре поглощения нового максимума при 323 нм. Инактивированный под действием ДТТ+ТНМ фермент не обладает этим свойством. Это указывает, что в данном случае происходит модификация карбонильной группы фермента. Следовательно, можно считать, что получена неактивная ГДК, у которой селективно модифицирована карбонильная группа активного центра.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеева А. Е., Прозоровский В. Н. // Биохимия. — 1976. — Т. 41, № 9. — С. 1584—1587.
2. Гончар Н. А., Гребенщикова О. Г., Прозоровский В. Н. // Вопр. мед. химии. — 1984. — № 6. — С. 94—97.
3. Гончар Н. А., Семина Л. А., Мардашев С. Р. // Биохимия. — 1973. — Т. 38, № 5. — С. 937—942.
4. Каррер П. Курс органической химии: Пер. с нем. — Л., 1962. — С. 202.
5. Мардашев С. Р., Семина Л. А., Гончар Н. А., Митрофанова И. Д. // Биохимия. — 1975. — Т. 40, № 4. — С. 783—792.
6. Прозоровский В. Н., Тартаковский С. А., Алексеева А. Е. и др. // Там же. — 1970. — Т. 35, № 4. — С. 759—762.
7. Семина Л. А., Дабагов Н. С., Гончар Н. А. и др. // Структура и функции активных центров ферментов. — Пушкино, 1976. — С. 53.
8. Семина Л. А., Мардашев С. Р. // Биохимия. — 1965. — Т. 30, № 1. — С. 100—106.
9. Чичибабин А. Е. Основные начала органи-

ческой химии. — М.; Л., 1953. — Т. 1. — С. 249.

10. Ишбата К. // Новые методы анализа аминокислот, пептидов и белков: Пер. с англ. — М., 1974. — С. 354.
11. Boyer P. D. // J. Amer. chem. Soc. — 1954. — Vol. 76. — P. 4331—4337.
12. Cantrecasus P., Fuclis S., Anfinsen C. B. // J. biol. Chem. — 1968. — Vol. 243. — P. 4787—4798.
13. Liu T.-Y., Chang Y. H. // Ibid. — 1971. — Vol. 246. — P. 2842—2848.
14. Riordan J. F., Christen P. // Biochemistry (Wash.). — 1968. — Vol. 7. — P. 1525.
15. Riordan J. F., Sokolovsky M., Vallee B. L. // J. Amer. chem. Soc. — 1966. — Vol. 88. — P. 4104—4105.
16. Riordan J. F., Vallee B. L. // Meth. Enzymol. — 1972. — Vol. 25. — P. 515—522.
17. Shifrin S., Solis B. G. // J. biol. Chem. — 1972. — Vol. 247, N 13. — P. 4121—4125.
18. Simpson R. T., Riordan J. F., Vallee B. L. // Biochemistry (Wash.). — 1963. — Vol. 2. — P. 616.
19. Sokolovsky M., Fuchs M., Riordan J. F. // FEBS Lett. — 1970. — Vol. 7. — P. 167—170.
20. Sokolovsky M., Harell D., Riordan J. F. // Biochemistry (Wash.). — 1969. — Vol. 8. — P. 4740—4745.
21. Sokolovsky M., Riordan J. F., Vallee B. L. // Ibid. — 1966. — Vol. 5. — P. 3582—3589.
22. Vincent J. P., Lazdunski M., Delaage M. // Europ. J. Biochem. — 1970. — Vol. 12. — P. 250—257.

Поступила 22.12.87

THE MODIFYING EFFECT OF TETRANITROMETHANE ON MICROCOCCAL HISTIDINE DECARBOXYLASE

N. A. Gonchar, O. G. Grebenshikova, N. V. Zaslavskaya

Institute of Medical Enzymology, Academy of Medical Sciences of the USSR, Moscow

Tetranitromethane inhibited distinctly the histidine decarboxylase activity at pH above 7.0. Spectral and fluorescence properties as well as amino acid composition of the transformed enzyme were studied. Nitration of tyrosine residues occurred simultaneously with oxidation of cysteine in a molecule of histidine decarboxylase treated with tetranitromethane, while the other amino acids such as tryptophane, histidine and methionine were not altered. The histidine decarboxylase pretreated with dithiothreitol, became insensitive to the tetranitromethane effect but complete inactivation of the enzyme was observed under these conditions. Possible mechanisms of the histidine decarboxylase inactivation are discussed.