

Архив журнала

Вопросы медицинской химии

ISSN 0042-8809

1985

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

Archive of journal

Voprosy meditsinskoi khimii

ISSN 0042-8809

1985

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

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

ТОМ XXXI

ВЫПУСК 5

СЕНТЯБРЬ — ОКТЯБРЬ

Двухмесячный научно-теоретический журнал

Основан в 1955 г.

ВОПРОСЫ
МЕДИЦИНСКОЙ
ХИМИИ



МОСКВА. МЕДИЦИНА. 1985



РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор С. С. ДЕБОВ

В. И. МАЗУРОВ (зам. главного редактора), Т. Т. БЕРЕЗОВ, Е. Н. ГЕРАСИ-
МОВА, В. З. ГОРКИН, И. Б. ЗБАРСКИЙ, А. Н. КЛИМОВ, Б. Ф. КОРОВКИН,
Л. А. ЛОКШИНА, В. Н. ОРЕХОВИЧ, Л. Ф. ПАНЧЕНКО, М. Ш. ПРОМЫСЛОВ,
Е. Л. РОЗЕНФЕЛЬД, Ю. А. РОМАКОВ (ответственный секретарь), В. А. САКС,
С. Е. СЕВЕРИН, В. Б. СПИРИЧЕВ

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)
ТАРАКУЛОВ Я. Х. (Ташкент)
ТЯХЕПЫЛЬД Л. Я. (Тарту)
УТЕВСКИЙ А. М. (Харьков)
ШАПОТ В. С. (Москва)
ЯКОВЛЕВ Н. Н. (Ленинград)
ЯСАЙТИС А. А. (Вильнюс)

Адрес редакции журнала:

Москва, Солянка, 14

АМН СССР

Тел. 297-16-44

Зав. редакцией Л. А. Фирсова

1983

тие заряда с фосфатных групп (например, путем синтеза метилированных и этилированных производных) может обеспечить лучшую проницаемость динуклеозидфосфатов и соответственно привести к усилению противовирусного эффекта этих соединений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Берлин Ю. А., Звонок Н. М., Каюшин А. Л. — Биоорг. химия, 1980, т. 6, № 8, с. 1182—1195.
2. Берлин Ю. А., Тактакишвили М. О., Колосов М. Н. и др. — Там же, 1981, т. 7, № 5, с. 710—720.
3. Галегов Г. А., Правдина Н. Ф. — Вopr. вирусол., 1982, № 5, с. 104—106.
4. Правдина Н. Ф., Веселовская Т. В., Пушкарская Н. Л. и др. — Вopr. мед. химии, 1972, т. 17, с. 158—161.
5. Правдина Н. Ф., Шобухов В. М., Галегов Г. А. — Докл. АН СССР, 1984, т. 274, № 4, с. 975—978.
6. Kingsbury D. W. — J. molec. Biol., 1966, v. 18, p. 195—203.

7. Stawinski J., Hozumi T., Narang S. A. et al. — Nucl. Acids Res., 1977, v. 4, p. 353—371.

Поступила 24.05.84

INHIBITORY EFFECT OF DEOXYADENILYL-(3,5)-DEOXYGUANOSINE ON THE ACTIVITY OF RNA POLYMERASE FROM THE INFLUENZA A VIRUS

N. F. Pravdina, T. V. Veselovskaya, V. D. Smirnov, G. A. Galegov

D. I. Ivanovsky Institute of Virology, Academy of Medical Sciences of the USSR, Moscow

Deoxyadenilylguanosine (dAdG, 0.2–0.4 mM), affecting the RNA polymerase activity, caused inhibition of transcription of the influenza A virus in presence of precursor AdG by 50–60% and a 80–85% inhibition in absence of the precursor. The inhibitor exhibited its effect independently on the time of addition into an incubation mixture. Addition of 0.5 mM inhibitor into a cultural medium inhibited reproduction of the influenza A virus in a culture of chicken embryonal fibroblasts.

УДК 612.411.015.1:577.152.344]-088.1

Л. А. Локшина, О. Н. Лубкова, Т. А. Гуреева, В. Н. Орехович

ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ И СПЕЦИФИЧНОСТИ КАТЕПСИНА Н ИЗ СЕЛЕЗЕНКИ БЫКА

Институт биологической и медицинской химии АМН СССР, Москва

На протяжении ряда лет в Институте биологической и медицинской химии проводятся исследования активных в нейтральной среде тиролевых протеиназ селезенки быка [4—8]. Два фермента, обозначенные как протеиназа I и II, выделены в практически гомогенном виде [6]. Изучение свойств протеиназы II, обладающей как аминопептидазной, так и эндонептидазной активностью, позволило заключить, что она является катепсином Н селезенки [6, 7]. Катепсин Н выделен в последние годы из ряда тканей животных и человека [11—13, 17—19, 21]. Этот фермент гидролизует некоторые белки и низкомолекулярные синтетические субстраты. Биологические функции катепсина Н пока не ясны. Показано, что фермент образует биологически активные пептиды из компонентов комплекса [16] и вызывает трансформацию лейкоцитов — медленно реагирующих субстанций анафилаксии [20]. Учитывая эти данные и полагая, что катепсин Н может участвовать в процес-

сах воспаления, мы исследовали его действие на ряд физиологически активных пептидов, изучали специфичность фермента и его распространение в некоторых тканях. Кроме того, мы считали целесообразным суммировать данные о свойствах этой протеиназы, представленные ранее в работах [6—8], и сопоставить их со свойствами катепсинов Н, выделенных из разных источников [11—13, 17—19, 21].

Методика

Выделение катепсина Н из селезенки быка проводили по методу, описанному ранее [6]. Активность фермента по гидролизу гистона, азоказина и β-нафтиламидов L-лейцина (Leu NA)¹ и других аминокислот («Serva») опре-

¹ Сокращения: Leu NA, Arg NA, Lys NA, Ala NA, BANA, — β-нафтиламиды L-лейцина, L-аргинина, L-лизина, L-аланина, N-бензоил-L-аргинина; БЛЭЭ-этиловый эфир N-бензоил-L-аргинина; БЛНА, БЛНА, LeuNA-п-нитроанилиды N-бензоил-L-аргинина, N-бензоил-L-лизина, L-лейцина; п-ХМБ-п-хлормеркурийбензоат, ДТТ-дитиотрентол

деляли при pH 7,2 в присутствии $5 \cdot 10^{-4}$ М ДТТ и ЭДТА по методам, описанным ранее [6]. Гидролиз тафцина («Serva»), энкефалина (Leu-энкефалин)², тетрапептида Gly-Gly-Phe-Leu и В-цепи окисленного инсулина («Serva») проводили в 0,05 М боратном буфере pH 7,2 в присутствии ДТТ и ЭДТА (10^{-4} М) при 37 °С; концентрация пептидов в пробе $1-3 \cdot 10^{-3}$ М, концентрация фермента $1-3 \times 10^{-6}$ М. Ферментативные гидролизаты анализировали методом тонкослойной хроматографии на пластинках силикагеля («Merck»). В качестве растворителей использовали смесь н-бутанол — CH_3COOH — вода (4 : 1 : 1) или н-бутанол — пиридин — CH_3COOH — вода (15 : 10 : 3 : 12). При расщеплении инсулина проба содержала 300 мкг В-цепи и 3 мкг фермента; через 30 и 60 мин отбирали аликвоты и в них определяли N-концевые аминокислоты дансильным методом [9]. ДНС-производные ферментативных гидролизатов анализировали до и после гидролиза 6 н. HCl. Хроматографию ДНС-производных проводили на полиамидных пластинках («Schleicher», «Schull») размером 7×7 см; в качестве растворителей применяли следующие системы: 86% муравьиная кислота — вода (1,5 : 100); бензол — CH_3COOH (9 : 1), n-гептан — н-бутанол — CH_3COOH (3 : 3 : 1).

Определение кинетических параметров для гидролиза LeuNA, ArgNA, LysNA и BANA проводили в диапазоне концентраций $10^{-3}-10^{-6}$ м; величины K_m и V_{\max} рассчитывали по методу Лайнуивера — Берка. Коллагенолитическую активность определяли по расщеплению ^{14}C -коллагена I типа при pH 3,5—7,5 [2]. Антисыворотку против катепсина Н получали по методу, описанному ранее [8]. Реакцию двойной диффузии в агаре проводили в микромодификации А. И. Гусева [1]. Для сравнения антигенных свойств катепсинов Н из разных органов использовали фракции белков, полученные из соответствующих экстрактов осаждением сульфатом аммония при 0,4—0,7 насыщения.

Результаты и обсуждение

Выделенный по методу, описанному ранее [6], препарат катепсина Н был практически гомогенен при электрофорезе в полиакриламидном геле в присутствии и в отсутствие додецилсульфата (ДДСNa). Активность фермента по гидролизу LeuNA составляла ~1,5 мкм/мин на 1 мг и была увеличена по сравнению с экстрактом в 250—300 раз. Мол. м. катепсина Н, определенная с помощью электрофореза в присутствии ДДСNa ~ 30 000; pI по

² Выражаем благодарность ст. науч. сотр. Института биорганической химии АН СССР Л. М. Гиноману за предоставление препарата энкефалина и ст. науч. сотр. Института биологической и медицинской химии АМН СССР В. Ф. Поздневу за препараты Gly-Gly-Phe-Leu и Tyr-Gly-Gly.

Т а б л и ц а 1

Гидролиз синтетических субстратов катепсином Н

Субстрат	Концентрация, мМ	Удельная активность, мкмоль/мин/мг	K_m , мМ	V_{\max} , мкмоль/мин/мг
ArgNA	0,2	1,1	0,05	1,53
BANA	0,2	0,33	0,087	0,53
LeuNA	0,2	1,0	0,058	1,4
LysNA	0,2	0,95	0,071	1,4
GlyNA	0,2	0,28		
AlaNA	0,2	0,42		
AspNA				
GluNA	0,2	0		
BANA	0,5	0		
LeuHA	1,0	0,39		
БЛНА	1,0	0		
БАЭЭ	1,0	0		

Примечание. Представлены данные для препарата фермента, активность которого несколько снижена при хранении.

данным изоэлектрофокусирования 6,8—6,9 [6].

Результаты действия катепсина Н на ряд синтетических субстратов приведены в табл. 1. Фермент хорошо расщепляет LeuNA, ArgNA, LysNA; BANA гидролизуетсся значительно слабее; л-нитроанилид лейцина расщепляется примерно в 3 раза хуже, чем соответствующий β-нафтиламид, тогда как БАНА и БЛНА практически не расщепляются. Катепсин Н не гидролизует БАЭЭ, а также β-нафтиламиды дикарбоновых кислот. Определены K_m и V для гидролиза LeuNA, ArgNA, LysNA, BANA (см. табл. 1). Сравнение этих величин для гидролиза ArgNA и BANA (K_m $5,0 \cdot 10^{-5}$ и $8,7 \cdot 10^{-5}$ М, V_{\max} 1,53 и 0,53 мкм/мин соответственно) показывает, что субстрат с N-замещенной группой гидролизуетсся катепсином Н с меньшей скоростью и несколько хуже связывается ферментом.

Оптимальный pH для гидролиза LeuNA, BANA и гистона катепсином Н находится в пределах 7,0—7,5 и практически одинаков для всех трех субстратов [6]. Катепсин Н гидролизует разные фракции гистонов, слабо расщепляет азоказеин и коллаген, не гидролизует гемоглобин, не инактивирует альдозазу и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназу, не активирует фосфодиэстеразу циклических нуклеотидов

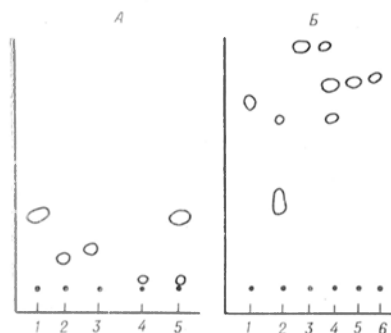


Рис. 1. Схемы хроматограмм продуктов 2-часового гидролиза тафциина (А) и энкефалина (Б) катепсином Н.

Хроматограммы на пластинках силикагеля (6×12 см) проявлены 0,2% раствором нингидрина. Используемые растворители: бутанол — CH_3COOH — вода (4 : 1 : 1; А); бутанол — пиридин — CH_3COOH — вода (15 : 10 : 3; 12; Б). А : 1 — треонин; 2 — лизин; 3 — аргинин; 4 — тафцин; 5 — тафцин + катепсин Н. Б : 1 — Tyr-Gly-Gly; 2 — тирозин + глицин; 3 — энкефалин; 4 — энкефалин + катепсин Н; 5 — Gly-Gly-Phe-Leu; 6 — Gly-Gly-Phe-Leu + катепсин Н.

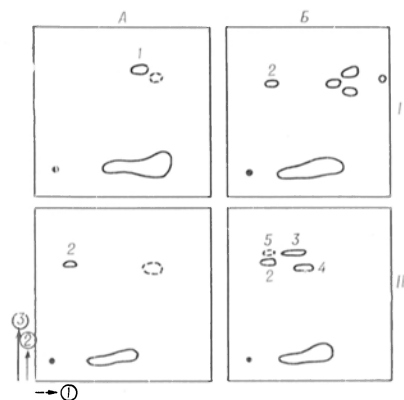


Рис. 2. Схемы хроматограмм дансильрованных В-цепи окисленного инсулина (А) и продуктов ее 60-минутного гидролиза катепсином Н (Б) до (I) и после (II) гидролиза 6 н HCl .

Хроматограммы на полиамидных пластинках (7×7 см). 1 — Dns-В-цепь инсулина; 2 — Dns-Phe; 3 — Dns-Val; 4 — Dns-Ala; 5 — Dns-Leu; пятна без номеров на рис. Б, I — Dns-пептиды. Используемые растворители указаны в разделе «Методика». (На рисунке даны арабскими цифрами в кружочках).

[6]; он не расщепляет фибронектин из сыворотки быка и кур [3].

Как установлено ранее, активность катепсина Н проявляется полностью в присутствии ДТТ и ЭДТА (10^{-3} — $5 \cdot 10^{-5}$); ингибиторами фермента являются п-ХМБ, иодуксусная кислота, лей-пептин и пурамицин [6]. В сыворотке крови присутствует ингибитор фермента [6]. Катепсин Н весьма лабилен и часто инактивируется в процессе выделения и при хранении. Он наиболее устойчив при pH 6—6,5.

Для выяснения возможных биологических функций катепсина Н и его специфичности изучали действие фермента на ряд физиологически активных пептидов и В-цепь окисленного инсулина. При действии катепсина Н на тетрапептид тафцин (Tyr-Lys-Pro-Arg), обладающий фагоцитоз-стимулирующей, хемотактической, иммуностимулирующей и некоторыми другими активностями [15], наблюдалось отщепление N-концевого треонина (рис. 1, а). Одна N-концевая аминокислота — тирозин — освобождалась и при гидролизе энкефалина — пентапептида с обратными свойствами (рис. 1, б). Образующийся при этом тетрапептид Gly-Gly-Phe-Leu не подвергался дальнейшей деградации (рис. 1, б). Поскольку удаление N-концевого тирозина приводит к утрате биологической активности энкефалина [10], а отщепление треонина от таф-

цина ведет к образованию его ингибитора [15], можно предположить, что катепсин Н может быть включен в инактивацию этих пептидов.

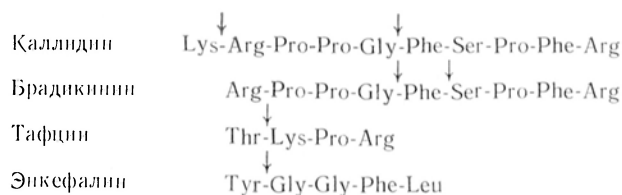
В отличие от тафцина и энкефалина, при расщеплении которых наблюдалась лишь аминопептидазная активность катепсина Н, при его действии на В-цепь окисленного инсулина отмечалась как аминопептидазная, так и эндонуклеидазная активность. Как видно из рис. 2, I, на хроматограмме ДНС-производных продуктов ферментативных гидролизатов В-цепи инсулина наряду с ДНС-пептидами был обнаружен ДНС-фенилаланин. Поскольку фенилаланин является N-концевой аминокислотой В-цепи, можно заключить, что он отщепляется катепсином Н. При анализе ДНС-аминокислот, которые появляются после соответствующего кислотного гидролиза дансильрованных продуктов ферментативного расщепления на хроматограммах, кроме ДНС-фенилаланина и ДНС-валина (являющихся N-концевой и следующей за ней аминокислотами В-цепи), были обнаружены ДНС-аланин и небольшие количества ДНС-лейцина (рис. 2, Б, II). Поскольку остатки аланина и лейцина расположены в средней части В-цепи инсулина, можно заключить, что катепсин Н гидролизует центрально расположенные пептидные связи (С-концевой аланин катепсином Н не отщепляется, поскольку среди продуктов

ферментативного расщепления не был обнаружен свободный аланин). Связи, гидролизующиеся катепсином Н, в молекуле В-цепи инсулина не были локализованы ввиду неомогенности препарата субстрата. Аминоэндопептидазная активность катепсина Н была обнаружена ранее при изучении его действия на вазоактивные пептиды [7]. Установлено, что катепсин Н отщепляет от каллидина N-концевой лизин и превращает его в брадикинин. Затем он инактивирует брадикинин на 50%, гидролизуя в нем центрально расположенные связи Gly₄-Phe₅ и Phe₅-Ser₆ [7]. В этой же работе было обнаружено, что ангиотензины I и II катепсином Н не расщепляются [7].

Суммируя приведенные выше данные, можно сделать некоторое заключение о специфичности катепсина Н: 1) фермент обладает аминокатепсиназной активностью, причем аминокатепсиназная активность, по-видимому, несколько превалирует над эндопептидазной. На это указывают данные о расщеплении каллидина и кинетические параметры гидролиза ArgNA и BANA; 2) катепсин Н преимущественно гидролизует связи основных и гидрофобных аминокислот. Связи дикарбоновых аминокислот ферментом не расщепляются; 3) остатки пролина ограничивают действие катепсина Н, о чем свидетельствуют данные о гидролизе тафцина, каллидина и брадикинина (см. схему); 4) катепсин Н расщепляет, по-видимому, пептиды и небольшие белки типа гистонов. Более крупные белки гидролизуются, очевидно, очень избирательно.

ролиза одних и тех же субстратов и главное характеризуются разной активностью по отношению к BANA и LeuNA. Это является важным фактором, так как указывает на различное соотношение эндопептидазной и аминокатепсиназной активности. Самые высокоактивные препараты катепсина Н, выделенные из печени крыс [12] и легких кролика [18], гидролизуют BANA лучше, чем LeuNA, тогда как ферменты из печени человека [17], лимфатических узлов [21] и селезенки быка предпочтительно расщепляли субстрат со свободной NH₂-группой (см. табл. 2). Различия отмечались и в коллагенолитической активности катепсинов Н. Так, например, фермент, выделенный из легких кролика, в отличие от большинства других хорошо гидролизует коллаген в кислой среде [18]. Возможно, это могло быть обусловлено примесью в препарате еще одной тиролизинной протеиназы-катепсина L, который обладает высокой коллагенолитической активностью [14].

О некотором различии катепсинов Н в разных органах свидетельствуют результаты иммунохимических исследований. Ранее была получена кроличья антисыворотка против катепсина Н из селезенки быка [8]. Она была использована для изучения распространения катепсина Н в разных тканях и сравнения его антигенных свойств с двумя другими тиролизинными протеиназами селезенки — катепсинами В и L (протеиназой I). Как видно из данных иммунодиффузионного анализа, катепсин Н отличается по своим антигенным свойствам от катепсина В и L, которые



Сравнение свойств катепсинов Н, выделенных из разных источников, показывает, что все ферменты имеют близкую молекулярную массу (26 000—30 000), близкие изоэлектрические точки, но различаются наличием отдельных изоформ и стабильностью (табл. 2). Некоторые различия наблюдаются и в энзиматических свойствах: ферменты отличаются оптимальным рН для гидро-

не реагируют с антисывороткой (рис. 3, а). В печени, легких и почках присутствуют ферменты, идентичные катепсину Н селезенки (рис. 3, б). Кроме того, в почках и, возможно, в легких обнаружены формы, частично идентичные ферменту селезенки (см. рис. 3, б). Почка, по-видимому, наиболее богата катепсином Н, тогда как в мозге он содержится в небольшом количестве или

Сравнение свойств катепсина Н из различных источников

Источник	Молекулярная масса, D	Изоформы pI	Субстрат				Источник информации	
			BANA		Leu NA			белки
			удельная активность	оптимальный pH	удельная активность	оптимальный pH		оптимальный pH
Лизосомы печени крыс	28 000	3 формы pI _{осн} 7,1	9,7	6,0	7,2	6,0	Азоказеин 6,0 Глюкагон 6,0 Гистон 6,0 Инсулин 6,0 Гемоглобин 6,0 Азоказеин 5,5	[12; 19]
Печень человека	28 000	4 формы pI 6,0—6,4	1,73	6,8	1,95	6,8		[17]
Кожа крыс	27 000	2 формы pI 6,2 и 7,5		5,8		7,0		[11]
Легкие кролика	26 000—27 000	6 форм pI 5,9—6,5	7,6	6,5	6,6	7,0	Коллаген 3,5	[18]
Лимфоузлы быка	30 800	2 формы pI 7,1 и 7,35	1,96	6,0	2,15	6,0	Азоказеин 6,0 Гемоглобин 6,5—7,0	[21]
Селезенка быка	28 000 30 000	2 формы: pI 7,1 и 7,3		7,0		8,0	Азоказеин 6,0	[13]
Данные настоящей работы	30 000	р _{осн} формы 6,8—6,9	0,95	7,2	1,7	7,2	Гистон 7,2 Азоказеин 5,0 Коллаген 5,0	

* Удельная активность выражена в мкмольх освобожденного β-нафтиламина на 1 мг фермента в 1 мин.

отличается по своим антигенным свойствам (см. рис. 3, б).

Следует отметить, что большинство исследований катепсина Н было направлено на отделение этого фермента от катепсина В и L и его идентификацию. Работ, посвященных выяснению биологической роли катепсина Н, до последнего времени не было. Представленные результаты относительно образования брадикинина из каллидина и последующей инактивации пептида [7], а также данные о гидролизе тафцина и энкефалина, указывают на то, что катепсин Н может быть включен в образование и инактивацию физиологически активных пептидов. В пользу этого свидетельствуют и опубликован-

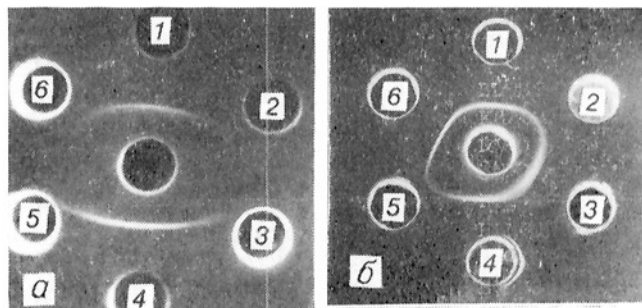
ные недавно данные о том, что катепсин Н из печени крыс вызывает образование биологически активного пептида (или пептидов) из C₅ компонента комплемента, а потом постепенно их инактивирует [16]. Можно предполагать, что, освобождаясь из клеток при их повреждении и некоторых патологических состояниях, катепсин Н участвует как в генерировании, так и деградации медиаторов воспаления.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гусев А. И. — В кн.: Иммунохимический анализ. М., 1968, с. 99.
2. Златопольский А. Д., Белкин В. М., Зыкова Т. А. и др. — Вopr. мед. химии. 1982, № 2, с. 108—114.

Рис. 3. Антигенный анализ катепсинов Н. В. 1 (А) и катепсинов Н (Б) из разных органов.

В центральной лунке — АС. против катепсина Н селезенки. А: 1 и 4 — антиген 50 и 100 мкг/мл соответственно; 2 и 3 — катепсин В исходный и денатурированный (125 мкг/мл); 5 — катепсин (протеиназа I) 100 мкг/мл; 6 — катепсин Н из другого выделения, инактивированный 100 мкг/мл. Б: 1 и 4 — частично очищенные препараты катепсина Н из селезенки — (1 мкг/мл); 2, 3, 5 и 6 — то же печени (1,5 мкг/мл), почек (600 мкг/мл), мозга (2 мкг/мл) и легких (750 мкг/мл).



3. Златопольский А. Д., Зыкова Т. А., Локишина Л. А. и др. — Биохимия, 1984, т. 49, № 9, с. 1128—1132.
4. Локишина Л. А., Рифтина Ф. Д., Орехович В. Н. — Там же, 1976, т. 41, № 8, с. 1412—1414.
5. Локишина Л. А., Гуреева Т. А., Орехович В. Н. — Там же, 1979, т. 44, № 2, с. 264—271.
6. Локишина Л. А., Гуреева Т. А., Лубкова О. Н. и др. — Там же, 1982, т. 47, № 8, с. 1299—1307.
7. Локишина Л. А., Егорова Т. П., Орехович В. Н. — Там же, 1983, т. 48, № 6, с. 951—957.
8. Локишина Л. А., Тарханова Н. А., Лубкова О. Н. и др. — Бюл. экспер. биол., 1983, № 10, с. 50—52.
9. Gray W. — Meth. Enzymol., 1972, v. 25, p. 121—138.
10. Persh L. B., Mekelvy J. F. — J. Neurochem., 1981, v. 36, p. 171—178.
11. Jarvinen M., Hopsu-Havu V. K. — Acta chem. scand., 1975, v. 29-B., p. 772—780.
12. Kirschke H., Langner J., Wiederanders B. et al. — Acta biol. med. germ., 1977, Bd 36, S. 185—189.
13. Kregar J. P., Locnikar T., Popovic A. et al. — Ibid., 1981, Bd 40, S. 1433—1438.
14. Mason R., Taylor M., Etherington D. — FEBS LETT., 1982, v. 146, p. 33—36.
15. Najjar V. A. — In: The Reticuloendothelial System. New York, 1980, v. 2, p. 45—71.
16. Perez H., Ohtani O., Banda D. et al. — J. Immunol., 1983, v. 131, p. 397.
17. Schwartz W. N., Barrett A. J. — Biochem. J., 1980, v. 191, p. 487—497.
18. Singh H., Kalnitsky G. — J. biol. Chem., 1980, v. 255, p. 369—374.
19. Towatari T., Tanaka K., Yoschikawa D. et al. — J. Biochem. (Tokyo), 1978, v. 84, p. 659—671.
20. Yokota K., Shono F., Yamamoto S. et al. — Ibid., 1983, v. 94, p. 1173.
21. Zvonar—Popovic T., Lah T., Kregar J. et al. — Croat. chem. Acta, 1980, v. 53, p. 509—517.

Поступила 23.05.84

STUDY OF PROPERTIES AND SPECIFICITY OF CATHEPSIN II FROM BOVINE SPLEEN

L. A. Lokshina, O. N. Lubkova,
T. A. Gureeva, V. N. Orekhovich

Institute of Biological and Medical Chemistry,
Academy of Medical Sciences of the USSR,
Moscow

Action of cathepsin II from bovine spleen on tuftsin, enkephalin, the oxidized B chain of insulin and a variety of synthetic substrates was studied. Cathepsin II splits off only one N-terminal amino acid from each tuftsin and enkephalin, which, according to the literature, led to inactivation of peptides. The enzyme acts on the oxidized B chain of insulin as an aminopeptidase: it splits off the N-terminal phenylalanine and the centrally located bond(s). K_m and V_{max} for the cathepsin II catalyzed hydrolysis of LeuNA, ArgNA, LysNA and BANA were determined. Substrates with the free NH₂ group were hydrolyzed at a higher rate. Based on the data obtained and the previously reported results on conversion of kallidin into bradykinin, the specificity of cathepsin II and its possible biological functions were discussed. Cathepsin II appears to participate in formation and inactivation of physiologically active peptides. Using the antiserum to spleen cathepsin II it was found that liver, kidney and lung tissues contained the enzymes identical and/or partially identical to cathepsin II from spleen. The data on the properties of cathepsin II from various sources are summarized.

УДК 615.355:577.152.1[.017:915.277.3].012.8:[582.282-119: 577.152.1

С. Х. Хадиев, Е. В. Лукашева, И. П. Смирнова, Т. Т. Березов

ВЫДЕЛЕНИЕ И ОЧИСТКА L-ЛИЗИН- α -ОКСИДАЗЫ ИЗ TRICHOSTERMA sp.

Кафедра биохимии Университета дружбы народов им. П. Лумумбы, Москва

Исключение из диеты животных с перевивными опухолями L-лизина (как и любой другой незаменимой аминокислоты) приводит к торможению роста опухолей и увеличению продолжительности жизни животных [7, 14]. Эти и некоторые другие результаты побудили исследователей к поиску ферментов, катализирующих необратимый распад незаменимых аминокислот и соответственно снижающих концентрацию их до минимального уровня, а также к применению чистых фермент-

ных препаратов в лечении опухолевых заболеваний животных и человека [1, 3, 4, 10—13].

Одним из таких ферментов, перспективных в проблеме энзимотерапии опухолей, является L-лизин- α -оксидаза, который катализирует окислительное дезаминирование L-лизина с образованием α -кето- ϵ -аминокапроновой кислоты, аммиака и перекиси водорода.

Указанная реакция в тканях животных не имеет места, поскольку аналогичного фермента не обнаружено, а