

## ЩЕЛОЧНАЯ pH-ЗАВИСИМАЯ ПРОЛИЛКАРБОКСИПЕПТИДАЗА АДЕНОГИПОФИЗА

*Алексеевко Л. П., Золотов Н. Н., Балаевская Т. О.,  
Орехович В. Н.*

*Институт биологической и медицинской химии  
Академии медицинских наук СССР, Москва*

Исследуя водный экстракт аденогипофиза крупного рогатого скота, мы обнаружили активность двух пролилкарбоксипептидаз, отличающихся по свойствам от ранее описанных ферментов этого типа [1—5]. Ферменты частично очищены нами путем адсорбции на DEAE-сефадексе А-50 при pH 7,5 в 0,02 М медиал-НСI буфере и последующей элюции буферными растворами возрастающей ионной силы, фракционированием полученного белкового раствора с помощью  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  и гель-фильтрации на сефадексе G-75. Пролкарбоксипептидаза-I без предварительной активации расщепляет дипептиды Cbz-Pro-Phe при pH 5,0—5,5, Cbz-Pro-Ala при pH 4,5 и трипептид Cbz-Gly-Pro-Ala при pH 4,5—5,0. Фермент не активируется ионами  $\text{Mn}^{2+}$  ( $6 \cdot 10^{-5}$  —  $1 \cdot 10^{-2}$  М). На его активность не влияют 2-меркаптоэтанол ( $1,5 \cdot 10^{-2}$  М), N-тозил-L-фенилаланилхлорметилкетон ( $1,7 \cdot 10^{-4}$  М), N-тозил-L-лизилхлорметилкетон ( $3 \cdot 10^{-4}$  М). Активность пролилкарбоксипептидазы-I тормозится на 70% диизопропилфторфосфатом ( $1 \cdot 10^{-3}$  М). Активность ее в экстракте аденогипофиза составляет 0,6—0,8 мкмоль аланина  $\cdot$  мг<sup>-1</sup> белка  $\cdot$  мин<sup>-1</sup>. По своим свойствам пролилкарбоксипептидаза-I сходна с пролилкарбоксипептидазой из почек [1, 4, 5]. В присутствии 2-меркаптоэтанол обнаруживается активность еще одной пролилкарбоксипептидазы, обладающей свойствами, существенно отличающимися от ранее описанных карбоксипептидаз [1—7]. Этот фермент, названный нами пролилкарбоксипептидазой-II, в щелочной среде в присутствии  $(1,5—2,0) \cdot 10^{-2}$  М 2-меркаптоэтанол отщепляет от  $\alpha$ -N-замещенных пептидов Cbz-Gly-Pro-Gly и Cbz-Gly-Pro-Ala соответственно глицин и аланин, как это было показано нами хроматографически. Образующийся дипептид Cbz-Gly-Pro далее этим ферментом не расщепляется, поскольку даже при длительных сроках инкубации мы не наблюдали появления пролина в инкубационных смесях. Максимальная активность пролилкарбоксипептидазы-II по данным субстратам проявляется при pH 8,0—8,5 в 0,1 М боратном буфере. В более щелочной среде активность фермента резко падает, а при pH 9,5 пролилкарбоксипептидаза-II полностью неактивна. В кислой зоне активность фермента также резко падает: при pH 6,0 активность по Cbz-Gly-Pro-Gly в 5 раз ниже, чем при pH 8,5. При pH 4,5—5,0 по этому субстрату пролилкарбоксипептидаза-II полностью неактивна. Фермент не расщепляет  $\alpha$ -N-замещенные дипептиды Cbz-Pro-Ala и Cbz-Pro-Phe. Пролкарбоксипептидаза-II, по-видимому, не расщепляет также дипептид Cbz-Pro-Arg. Следовая активность по этому субстрату обнаруживается при pH 7,0—9,0 как в экстракте аденогипофиза, так и в частично очищенном препарате, но величина этой активности в присутствии и отсутствии 2-меркаптоэтанол практически одинакова. В отличие от  $\text{Mn}^{2+}$ -зависимой микросомальной карбоксипептидазы P [2] пролилкарбоксипептидаза-II не активируется ионами  $\text{Mn}^{2+}$  ( $6 \cdot 10^{-5}$  —  $1 \cdot 10^{-2}$  М). Активность этого фермента тормозилась диизопропилфторфосфатом ( $1 \cdot 10^{-3}$  М) на 80%; йодоуксусной кислотой ( $1 \cdot 10^{-3}$  М) на 95; и N-тозил-L-фенилаланилхлорметилкетон ( $1,7 \cdot 10^{-4}$  М) на 60—65%. N-тозил-L-лизилхлорметилкетон на активность пролилкарбоксипептидазы-II не влияли. Физиологическая роль пролилкарбоксипептидаз в аденогипофизе пока еще не ясна. Возмож-

но, что, действуя в системе с другими протеолитическими ферментами, они участвуют в превращениях гипофизарных гормонов белковой и пептидной природы.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Yang V. F., Erdos E. G., Chiang T. S. (1968) *Nature*, **218**, 1224—1226.
2. Dehm P., Nordwig A. (1970) *Eur. J. Biochem.*, **17**, 372—377.
3. Taylor S. L., Tappel A. L. (1974) *Biochim. et biophys. acta*, **341**, 99—111.
4. Yang H. Y. T., Erdos E. G., Chiang T. S., Jenssen T. A., Rodgers J. G. (1970) *Biochem. Pharmacol.*, **19**, 1201—1211.
5. Kakimoto T., Oshima G., H. S. Y. Yen, Erdos E. G. (1972) *Biochim. et biophys. acta*, **302**, 178—182.
6. Hayashi R., Moore S., Stein W. H. (1973) *J. Biol. Chem.*, **248**, 2296—2302.
7. Kuhn R. W., Walsh K. A., Neurath H. (1974) *Biochemistry*, **13**, 3871—3877.

Поступило в редакцию  
13.I.1975

---

Технический редактор *Е. С. Кузьмишкина*

---

|                              |                                      |                                |   |
|------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------|---|
| Сдано в набор 20/III-1975 г. | Т-06455                              | Подписано к печати 4/V-1975 г. | Тираж 720 экз.                            |
| Зак. 1894                    | Формат бумаги 70×108 <sup>1/16</sup> | Усл. печ. л. 12,6              | Бум. л. 4 <sup>1/2</sup> Уч.-изд. л. 12,3 |

---

2-я типография издательства «Наука». Москва, Шубинский пер., 10