



УДК 577.152.9.04

ВЛИЯНИЕ ВНЕШНИХ ФАКТОРОВ НА КИНЕТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА PGH-СИНТЕТАЗЫ

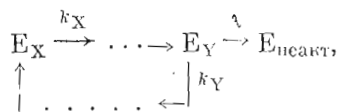
*Вржец П. В., Остапенко С. П., Гаврилюк В. Б.,
Мевх А. Т., Варфоломеев С. Д.*

*Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова,
Межфакультетская проблемная научно-исследовательская лаборатория
молекулярной биологии и биоорганической химии им. А. Н. Белозерского*

Исследовано влияние внешних факторов — температуры реакционной смеси, присутствия низкомолекулярных и высокомолекулярного (твин-20) органических компонентов, мочевины, высокой ионной силы раствора — на кинетические свойства (активность и стабильность в процессе реакции) PGH-синтетазы. Найдено, что некоторые факторы (высокая ионная сила, добавки органических веществ) могут замедлять наблюдаемые процессы необратимой инактивации PGH-синтетазы в ходе реакции. Чувствительность PGH-синтетазы к изменению ионной силы раствора зависит от внешнего окружения фермента — она повышается при солиubilизации микросомного фермента твином-20 и понижается при дальнейшем увеличении концентрации твина-20.

Ферментативный синтез простагландинов — это сложный высокоспецифический процесс, он осуществляется во всех исследованных органах и тканях высших животных и снабжает организм универсальными внутриклеточными регуляторами. Ферментативный синтез простагландинов имеет также важное значение для препаративного получения этих веществ [1, 2]. Простагландинсинтетазный комплекс из везикулярных желез и ряда других источников состоит из двух мембраносвязанных ферментов — скоростьлимитирующей простагландин-Н-синтетазы (PGH-синтетазы) (КФ 1.14.99.1), осуществляющей превращение арахидоновой кислоты в PGH₂, и PGE-изомеразы, катализирующей превращение PGH₂ в PGE₂ [3, 4]. Отличительной чертой первого фермента биферментной системы синтеза простагландинов наряду с большой сложностью катализируемых им превращений является его быстрая инактивация в процессе реакции [5]. Инактивации подвергаются как микросомные [6], так и солиubilизированные в раствор детергентом и очищенные до гомогенного состояния [5, 7] препараты. Анализ данных об инактивации PGH-синтетазы позволяет сделать вывод о том, что этот процесс тесно связан с актом ферментативного катализа и обусловлен инактивирующим действием некоего промежуточного продукта в активном центре фермента [1, 5, 8–11].

Схему функционирования PGH-синтетазы в условиях насыщения по субстратам можно представить в следующем виде [11]:



где E_X и E_Y — промежуточные формы фермента в процессе реакции; k_X — элементарная константа скорости лимитирующей стадии ферментативной реакции; λ — элементарная константа скорости инактивации промежуточной формы фермента E_Y , k_Y — элементарная константа скорости превращения промежуточной формы фермента E_Y в каталитическом процессе. В результате быстрой инактивации PGH-синтетазы в процессе реакции зависимость концентрации продукта (P) как функция времени (t) при условии малого расхода субстратов по сравнению с их начальными кон-

центрациями представляет собой экспоненту вида

$$P = \frac{v_0}{\Lambda} (1 - e^{-\Lambda t}), \quad (1)$$

где v_0 — начальная скорость ферментативной реакции, Λ — наблюдаемая константа скорости инактивации фермента в процессе реакции [10, 12]. При проведении ферментативной реакции вплоть до полной инактивации фермента можно экспериментально измерять еще один параметр — предельный выход продукта ферментативной реакции P_∞ (предел функции (1) по времени, равный v_0/Λ). Экспериментально наблюдаемые величины связаны с элементарными константами следующими соотношениями:

$$v_0 = E_0 k_x, \quad (2)$$

$$P_\infty = E_0 k_y / \lambda, \quad (3)$$

$$\Lambda = k_x \lambda / k_y, \quad (4)$$

где E_0 — общая концентрация фермента.

Таким образом, уравнения (2)–(4) являются отражением связи между экспериментально наблюдаемыми величинами v_0 , P_∞ и Λ и элементарными каталитическими и инактивационными процессами, характеризуемыми константами k_x , k_y и λ . Цель настоящей работы — исследование влияния внешних факторов — температуры реакционной смеси, присутствия низкомолекулярных и высокомолекулярного (твин-20) органических компонентов, хаотропного агента — мочевины, изменения ионной силы раствора — на каталитические и инактивационные свойства фермента PGN-синтетазы.

В работе использовали солиubilизированные и микросомные препараты PGN-синтетазы в условиях насыщения фермента по всем субстратам и с такими количествами фермента, при которых расход субстратов был мал по сравнению с их начальными концентрациями. Кинетика накопления продукта (расхода субстрата) описывалась уравнением (1), из которого определяли параметры v_0 , P_∞ и Λ [10].

Из зависимости параметров v_0 и Λ от температуры найдено, что наблюдаемые энергии активации составляют 19 ± 1 и 17 ± 1 ккал/моль соответственно. Близость этих значений указывает на практическое отсутствие зависимости P_∞ от температуры. При повышении температуры от 15 до 38°C P_∞ меняется всего на 30% , в то время как v_0 — в 10 раз. Этот результат согласуется с данными авторов работы [13], в которой показано, что суммарный выход простагландинов, синтезируемых в присутствии простагландинсинтетазы из печени крыс, слабо зависит от температуры.

Использование добавок смешивающихся с водой органических растворителей и других органических веществ предоставляет широкие возможности для варьирования свойств среды реакции. Влияние добавок низкомолекулярного органического компонента (НОК) на каталитические свойства солиubilизированной PGN-синтетазы было исследовано спектрофотометрическим методом с использованием в качестве донора электронов ферроцианида калия. Начальная скорость ферментативной реакции как функция концентрации НОК представляла собой кривую с максимумом, причем при увеличении гидрофобности НОК активность PGN-синтетазы изменяется в более узком диапазоне концентрации НОК (рис. 1а). Видимо, такое влияние НОК (метанол, этанол, *n*-пропанол, *n*-бутанол и ацетон) является неспецифическим и определяется исключительно гидрофобностью НОК. Эффективность влияния НОК (десятичный логарифм концентрации НОК, приводящей к 20% активации PGN-синтетазы, $C_{20\%}$) линейно зависит от его гидрофобности (тангенс угла наклона прямой $-1,5 \pm 0,06$) (рис. 1б).

Реакционная смесь, в которой происходит реакция, катализируемая PGN-синтетазой, содержит высокомолекулярный органический компонент — твин-20, необходимый для солиubilизации фермента [15]. Поэто-

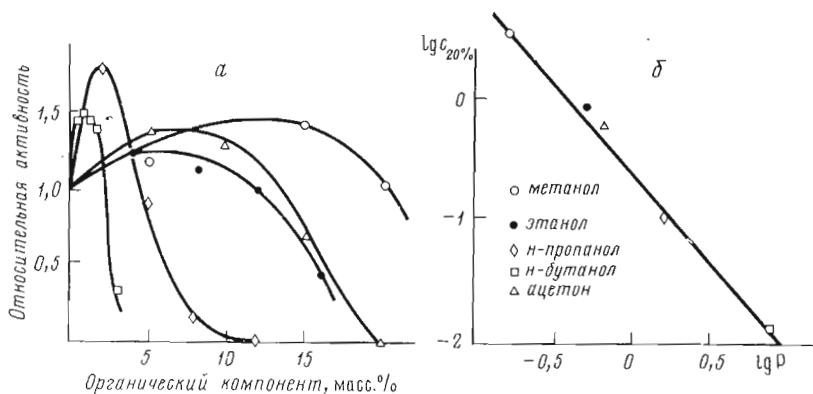


Рис. 1. а — зависимость активности РGH-синтегазы от концентрации НОК; б — зависимость эффективности влияния НОК ($\lg c_{20\%}$) от его гидрофобности ($\lg P$). Условия реакции: 31°C , твин-20 — 0,005%, гемин — 2 мкМ, ферроцианид калия — 4 мМ, арахидоновая кислота — 0,15 мМ, солиоблизированный препарат РGH-синтегазы — 37 мкг белка/мл. Данные по гидрофобности НОК взяты из работы [14]

му для исследования влияния НОК на P_∞ было признано целесообразным варьировать одновременно два параметра — содержание НОК и содержание твина-20. При графическом представлении значения P_∞ для этих систем образуют поверхность в координатах [твин-20]—[НОК], построенную на основании 25–30 измерений. На рис. 2 приведен результат одного из таких экспериментов — зависимость P_∞ от концентраций твина-20 и этанола. Было показано, что независимо от природы НОК на поверхности, представляющей P_∞ , имеется максимум в области малых концентраций твина-20 и больших концентраций НОК. Из данных этой серии экспериментов следует, что наиболее эффективным агентом увеличения выхода продукта реакции в нашей системе является этиловый спирт — увеличение выхода составляет 59% (табл. 1).

С ростом концентрации мочевины — хаотропного агента, в значительной степени изменяющего конформацию белковых молекул [16] в реакционной среде, увеличивается наблюдаемая константа скорости необратимой инактивации РGH-синтегазы (Λ), в то время как начальная скорость ферментативной реакции (v_0) остается практически без изменений (рис. 3).

Влияние ионной силы раствора на ферментативный синтез простаглан-

Таблица 1

Влияние содержания в реакционной смеси твина-20 и низкомолекулярного органического компонента на предельный выход продукта в реакции, катализируемой РGH-синтегазой *

Указаны условия, при которых достигается наибольшее увеличение P_∞ , и приведены численные значения этого увеличения

Низкомолекулярный органический компонент	150 мМ арахидоновая кислота			500 мМ арахидоновая кислота		
	НОК, %	твин-20	отн. увеличение P_∞ , %	НОК, %	твин-20	отн. увеличение P_∞ , %
1. Метанол	15	0,02	30	10	0,1	14
2. Этанол	8	0,1	59	8	0,1	29
3. n-Пропанол	2	0,1	16	2	0,1	0
4. n-Бутанол	1	0,1	25	0,5	0,1	0
5. Ацетон	7,5	0,02	44	5	0,5	16
6. Сахароза	30	1,0	1	—	—	—
7. Глицерин	—	—	—	10	1,0	1

* Выход продукта при 1% твина-20 и 0% НОК условно принят за 100%.

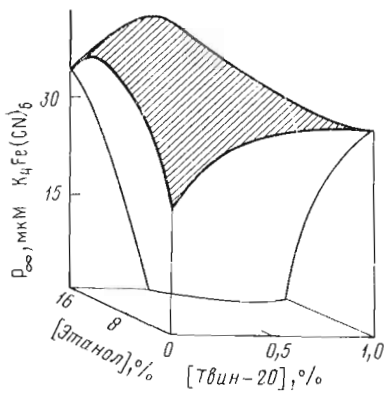


Рис. 2

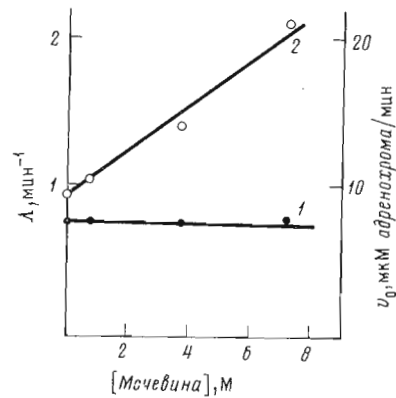


Рис. 3

Рис. 2. Зависимость предельного выхода продукта реакции, катализируемой РGH-синтетазой, от концентраций твина-20 и этанола. Условия см. в подписи к рис. 1

Рис. 3. Зависимость начальной скорости (1) реакции, катализируемой РGH-синтетазой, и наблюдаемой константы скорости инактивации фермента (2) от концентрации мочевины в реакционной среде. Условия реакции: 31°С, твин-20 – 1%, гемин – 3,2 мкМ, адреналин – 2 мМ, арахидоновая кислота – 0,14 мМ, солиобилизированный препарат РGH-синтетазы – 5 мкг белка/мл

динов мы исследовали с использованием как солиобилизованных препаратов РGH-синтетазы, так и гомогената везикулярных желез (содержащего вместе с РGH-синтетазой и РGE-изомеразу). За ходом реакции следили по поглощению в системе кислорода или по накоплению конечного продукта биферментной системы – РGE₂. Как видно из рис. 4, увеличение концентрации КСl приводит к уменьшению Λ (в 2 раза при 0,05% твина-20 и в 1,3 раза при 1% твина-20). Изменение v_0 и в том, и в другом случае незначительно. Нами было проведено исследование влияния КСl на кинетические параметры РGH-синтетазы в гомогенате везикулярных желез. Оказалось, что эта РGH-синтеза гораздо менее чувствительна к КСl, чем солиобилизованная. Чувствительность к КСl обоих препаратов РGH-синтетазы уменьшается с увеличением концентрации твина-20 (табл. 2). Уменьшение чувствительности РGH-синтетазы к КСl при наличии мембранного окружения и при увеличении содержания твина-20 может быть объяснено тем, что и мембранное окружение, и соединенный с молекулой фермента детергент (в 0,1% растворе твина-20 РGH-синтеза связана с детергентом в соотношении 1:0,69 по массе [15]) являются своеобразными защитными оболочками, которые препятствуют влиянию высокой концентрации ионов на конформацию белка.

Таблица 2

Влияние присутствия 3М КСl в реакционной смеси на v_0 и P_∞ для солиобилизованного и микросомного препаратов РGH-синтетазы в зависимости от концентрации твина-20 *

Препарат РGH-синтетазы	Концентрация твина-20, %					
	0,01	0,1	1	0,01	0,1	1
	v_0			P_∞		
Солиобилизованный	1,1±0,05	1,15±0,05	1,2±0,05	2,8±0,1	2,1±0,1	1,6±0,1
Гомогенат	0,7±0,05	0,65±0,05	—	1,6±0,1	1,0±0,1	—

* За 1 приняты значения параметров в отсутствие КСl.

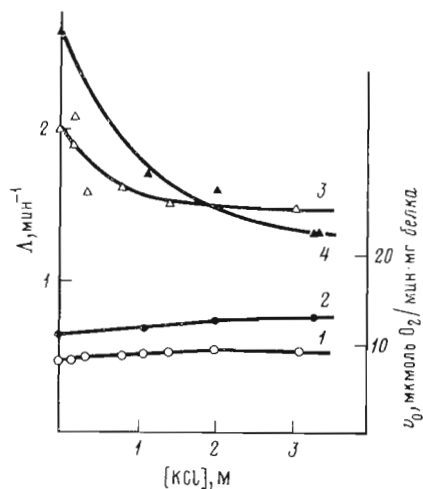


Рис. 4

Рис. 4. Зависимость начальной скорости (1 и 2) реакций, катализируемой PGN-синтетазой, и наблюдаемой константы скорости инактивации фермента (3 и 4) от концентрации KCl. Условия реакции 31° С, гемин — 1 мкМ, адреналин — 1 мМ, арахидоновая кислота — 0,546 мМ, твин-20 — 1% (1 и 3) и 0,05% (2 и 4), солибилизованный препарат PGN-синтазы — 24,4 (1 и 3) и 9,8 мкг белка/мл (2 и 4)

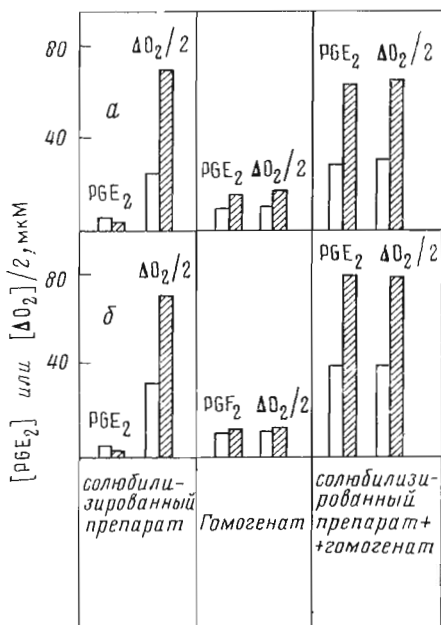


Рис. 5

Рис. 5. Влияние присутствия в реакционной смеси KCl на предельное поглощение кислорода и предельный выход в реакции биосинтеза PGE_2 при использовании различных ферментных препаратов. Белый прямоугольник — без KCl, черный прямоугольник — 3 М KCl. Условия реакции: 25° С, восстановленный глутатион — 1 мМ, гемин — 1 мкМ, адреналин — 1 мМ, арахидоновая кислота — 0,24 мМ, твин-20 — 0,01% (а) и 0,1% (б), концентрация гомогената соответствовала 8 мг исходных желез/мл, концентрация солибилизованного препарата — 43 (а) и 32 (б) мкг белка/мл; продолжительность ферментативной реакции 7 мин

В наших экспериментах было показано, что присутствие Na_2SO_4 в реакционной среде приводит к такому же влиянию на кинетику PGN-синтезной реакции, как добавление KCl. Это позволяет считать, что влияние KCl является неспецифическим и обусловлено повышением ионной силы раствора.

Непрерывный метод регистрации кислорода в реакционной смеси удобен для анализа кинетики действия быстро инактивирующегося фермента PGN-синтазы, однако он не позволяет детектировать конечный продукт превращения арахидоновой кислоты. Конечный продукт PGN-синтезной реакции, PGH_2 , нестабилен и распадается с образованием спектра продуктов (PGE_2 , $PGF_{2\alpha}$, PGD_2 , малонового диальдегида и 12-оксигептадекатриеновой кислоты) [17], что затрудняет исследование интегральной кинетики его накопления. Для наблюдения за накоплением конечного продукта мы переводили нестабильный PGH_2 в стабильный PGE_2 , проводя PGN-синтезную реакцию в присутствии глутатиона и свежеприготовленного гомогената везикулярных желез барана, содержащего PGE-изомеразу. Оказалось, что высокая ионная сила среды реакции способствует существенному уменьшению значения инактивационных процессов при сохранении свойства PGN-синтазы конвертировать арахидоновую кислоту с образованием PGH_2 (рис. 5).

Таким образом, кинетические эксперименты в корректных условиях (насыщающие концентрации субстратов и малый расход субстратов в ходе реакции) позволяют проследить за изменением каталитических и инактивационных свойств PGN-синтазы в ответ на влияние внешних

факторов в той мере, в какой это находит свое отражение в изменении параметров v_0 , P_∞ и Λ . Параметр v_0 является чисто каталитическим и характеризует лимитирующую скорость стадию процесса катализа. Влияние внешних факторов только на элементарную стадию инактивации, характеризующую константой скорости λ , невозможно оценить, так как в выражениях для экспериментально наблюдаемых величин (уравнения 3 и 4) λ всегда входит вместе с каталитической константой k_x . Физический смысл соотношения k_x/λ следующий: это число каталитических актов фермента, осуществленных им до полной инактивации.

Следует отметить, что из трех экспериментально наблюдаемых параметров (v_0 , Λ и P_∞) только два являются независимыми, третий представляет собой функцию двух других. Уравнения (2)–(4) показывают, что в рамках рассматриваемой схемы формально независимы v_0 (функция k_x) и P_∞ (функция k_x/λ). Наблюдаемая константа скорости инактивации фермента в процессе реакции Λ — зависимый от v_0 и P_∞ параметр, так как является функцией k_x и k_x/λ . Конкретные условия опытов обуславливают выбор экспериментально определяемых параметров (v_0 и P_∞ или v_0 и Λ), однако для интерпретации влияния внешних условий на каталитические свойства самоинактивирующегося фермента следует рассматривать параметры v_0 и P_∞ .

Изученные в работе внешние факторы по влиянию на кинетические свойства PGN-синтазы могут быть разделены на следующие группы:

1) фактор влияет на каталитические свойства фермента, не влияя на инактивационные (изменяет k_x и не изменяет k_x/λ). Таким фактором является температура реакционной смеси — при ее изменении существенно меняется v_0 , а P_∞ меняется слабо;

2) фактор влияет на k_x/λ и не влияет на k_x . К таким факторам следует отнести наличие в среде реакции хаотропного агента — мочевины и высокой ионной силы раствора;

3) фактор влияет и на k_x , и на k_x/λ . Таким фактором является наличие в среде реакции органических веществ.

Авторы выражают благодарность сотруднику НИЛ им. А. Н. Белозерского А. А. Трушанову за изготовление электрода Кларка.

Экспериментальная часть

Арахидоновую кислоту (Fluka, Швейцария) дополнительно очищали на колонке с силикагелем L 100/160 мкм (ЧССР) [18]. В качестве рабочего использовали 100–200 мМ раствор арахидоновой кислоты в этаноле. Растворы гемина (Sigma, США) готовили по методике [19] — с. 181. L-адреналин — препарат фирмы Merck (ФРГ), в качестве рабочего использовали 100 мМ раствор в 0,1 н. HCl. Полиоксипиридин монолаурат (твин-20) — Ferak (Зап. Берлин), простагландин E₂ — отечественного производства; 4-бромфенацилбромид (Serva, ФРГ) дважды перекристаллизовывали из этанола. Употребляли свежеприготовленные растворы бромфенацилбромида в абсолютном ацетонитриле. Триэтиламин отечественного производства марки ч. подвергали двукратной перегонке, растворы готовили в абсолютном ацетонитриле. Ацетонитрил (Koch-Light, ФРГ) перегоняли над P₂O₅ и хранили над молекулярными ситами 4 Å (Germed, ГДР). Трис(оксиметиламинометан) (трис), восстановленный глутатион — препараты фирмы Sigma (США), ферро- и феррицианид калия — отечественного производства марки х.ч., мочевины и хлористый калий — марки ос.ч.

В качестве источника выделения ферментных препаратов использовали везикулярные железы баранов, полученные на Алма-Атинском мясоконсервном комбинате. Железы хранили при –40° С. Выделение проводили по методу [15]. В работе использовали супернатант после центрифугирования измельченных желез при 10 000g (гомогенат) и солиоблизированные твинном-20 микросомы (солиоблизированный препарат) с активностью 2–4 мкмоль O₂/мин·мг белка при 25° С.

За ходом PGI-синтезазной реакции следили либо по поглощению кислорода, либо по накоплению в реакционной смеси окисленной формы донора электронов. Концентрацию кислорода определяли полярографически с помощью газодиффузионного платино-хлорсеребряного электрода Кларка [20] с использованием полярографа ОН-105 (Radelkis, ВНР). Накопление окисленной формы донора электронов регистрировали спектрофотометрически с применением спектрофотометра Hitachi-124 (Япония). Коэффициент экстинкции адренохрома принимали равным $4000 \text{ M}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ при 480 нм [21], коэффициент экстинкции феррицианида был равен $1040 \pm \pm 60 \text{ M}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ при 420 нм. Реакцию проводили в 50 мМ трис-НСl-буфере, рН 8, и инициировали прибавлением аликвоты фермента. Объем реакционной смеси 1,0 мл в случае определения концентрации кислорода и 2,5 мл в случае спектрофотометрической регистрации.

Концентрацию PGE₂ определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии [22]. Реакционную смесь (1 мл) подкисляли 25 мкл 8% муравьиной кислоты до рН 3,5 и экстрагировали 5 мл этилацетата. 3 мл осушенной с помощью Na₂SO₄ органической фазы уааривали в вакууме, к сухому остатку добавляли 180 мкл раствора бромфенацилбромида (5 мг/мл) и 20 мкл раствора триэтиламина (14 мг/мл), инкубировали при 20° С 3 ч, 10 мкл полученной смеси анализировали хроматографически на колонке (4,6×250 мм), заполненной носителем Ultrasphere-ODS, 5 мкм (Altex), элюент — метанол: вода (80:20), 1 мл/мин, регистрация спектрофотометрическая (λ 260 нм). В работе был использован комплекс хроматографического оборудования Beckman-344 (Beckman Instruments, Австрия). Перед употреблением элюент фильтровали через фильтр GF/F (Whatman, Англия) с размером пор 0,7 мкм. Для построения калибровочного графика использовали коммерческий препарат PGE₂. Белок определяли по модифицированному для мембранных белков методу Лоури с прибавлением дезоксихолата [23].

ЛИТЕРАТУРА

1. Мевз А. Т., Вржец П. В., Басевич В. В., Варфоломеев С. Д. В кн.: Химическая и биологическая кинетика/Ред. Эмануэль Н. М., Березини И. В., Варфоломеев С. Д. М.: Изд-во МГУ, 1983, с. 224–292.
2. Лилле Ю., Мянник А., Ягомаги А., Самель Н., Сакс Т. Изв. АН ЭССР. Химия, 1979, т. 28, № 3, с. 145–150.
3. Ogino N., Miyamoto T., Yamamoto S., Hayaishi O. J. Biol. Chem., 1977, v. 252, № 3, p. 890–895.
4. Cheng W. Y., Wyshe A., Lysz Th., Needleman P. J. Biol. Chem., 1982, v. 257, № 24, p. 14632–14634.
5. Smith W. L., Lands W. E. M. Biochemistry, 1972, v. 11, № 17, p. 3276–3285.
6. Egan R. W., Pazton J., Kuehl F. A., Jr. J. Biol. Chem., 1976, v. 251, № 23, p. 7329–7335.
7. Hemler M. E., Graff G., Lands W. E. M. Biochem. and Biophys. Res. Commun., 1978, v. 85, № 4, p. 1325–1331.
8. Hemler M. E., Lands W. E. M. J. Biol. Chem., 1980, v. 255, № 13, p. 6253–6261.
9. Kalyanaraman B., Mason R. P., Tainer B., Eling T. E. J. Biol. Chem., 1982, v. 257, № 9, p. 4764–4768.
10. Мевз А. Т., Вржец П. В., Шведас В. Ю.-К., Варфоломеев С. Д., Мяжкова Г. П., Якушева Л. А. Биоорган. химия, 1981, т. 7, № 5, с. 695–702.
11. Вржец П. В. Кинетика и механизм действия PGN-синтезазы. Дис. . . канд. хим. наук. М.: МГУ, 1983.
12. Вржец П. В., Варфоломеев С. Д. Биохимия, 1985, т. 50, № 1, с. 139–147.
13. Morita I., Morita S. Eur. J. Biochem., 1978, v. 90, № 3, p. 441–449.
14. Singer S. J. In: Advances in protein chemistry. N. Y.: Acad. Press., 1959, v. 17, p. 1–68.
15. van der Ouderan F. J., Buytenhek M., Nugteren D. H., van Dorp D. A. Biochim. et biophys. acta, 1977, v. 487, № 2, p. 315–331.
16. Хиннель П., Шлейх Т. В кн.: Структура и стабильность биологических макромолекул/Ред. Тимашев С. Н., Фасман Г. Д. М.: Мир, 1973, с. 325.
17. Nugteren D. H., Hazelhof E. Biochim. et biophys. acta, 1973, v. 326, № 3, p. 448–461.
18. Flower R. J., Cheung H. S., Cusman D. W. Prostaglandins, 1973, v. 4, № 3, p. 325–341.
19. Falk J. E. Porphyrins and metalloporphyrins. Amsterdam, N. Y.—L.: Elsevier, 1964, v. 2, p. 253.

20. Руководство по изучению биологического окисления полярографическим методом/Отв. ред. Франк Г. М., ред. Кондрашова М. Н., Мохова Е. Н., Ротенберг Ю. С. М.: Наука, 1973. 220 с.
21. Green S., Masur A., Shorr E. J. Biol. Chem., 1956, v. 220, № 1, p. 237-255.
22. Ganjian I., Loner W., Kubo I. J. Chromatogr., 1981, v. 216, № 2, p. 380-384.
23. Биохимическое исследование мембран/Ред. Мэдди Э. М.: Мир, 1979, с. 219.

Поступила в редакцию:
25.IV.1985

После доработки:
10.VI.1985

THE EFFECT OF EXTERNAL FACTORS ON KINETIC PROPERTIES OF PGH SYNTHETASE

VRZHESHCH P. V., OSTAPENKO S. P., GAVRILYUK V. B., MEVKH A. T.,
VARFOLOMEEV S. D.

*A. N. Belozersky Laboratory of Molecular Biology and Bioorganic Chemistry,
M. V. Lomonosov Moscow State University, Moscow*

The influence of external factors, viz. reaction mixture temperature, presence of low- and high-molecular (tween-20) organic compounds, urea and the solution high ionic strength on kinetic properties of PGH synthetase has been studied. Some factors (high ionic strength, addition of organic compounds) were found to slow down irreversible inactivation of PGH synthetase in the course of the reaction. Sensitivity of the enzyme to the change of the solution ionic strength depends on environmental factors, rising on the microsomal enzyme solubilization with tween-20 and decreasing on further enhancement of the tween-20 concentration.