



ПИСЬМА РЕДАКТОРУ

УДК 577.158.45

ВЛИЯНИЕ ПРИРОДЫ ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩЕГО КРАСИТЕЛЯ
НА КАЖУЩЕЕСЯ ЗНАЧЕНИЕ pK ОСТАТКА ГИСТИДИНА
В ФЕРМЕНТЕ

Механик М. Л., Синицына И. И., Торчинский Ю. М.

Институт молекулярной биологии Академии наук СССР, Москва

Ранее нами было показано, что при фотоокислении цитозольной аспарат-трансаминазы сердца кур (КФ 2.6.1.1) происходит инактивация фермента, которая сопровождается разрушением одного остатка гистидина и одного остатка триптофана в расчете на субъединицу [1]. Поскольку фотоокисление триптофана мало зависит от pH [2], наличие зависимости скорости фотоинактивации от pH указывало на то, что причиной потери активности являлось разрушение гистидина. Известно, что фотоокислению подвергается лишь протонированная форма имидазольного кольца гистидина [2, 3]; поэтому определение зависимости скорости фотоинактивации фермента от pH позволяет судить о кажущемся значении pK ($pK_{\text{каж}}$) окисляемого остатка гистидина. В работе [1] было показано, что доступный фотоокислению остаток гистидина в трансаминазе характеризуется аномально низким значением $pK_{\text{каж}}$: ~ 5 . В качестве фотосенсибилизирующего красителя использовали бенгальский розовый с pK 4,3 [4]. В связи с этим возникло предположение, что найденная pH-зависимость может отражать ионизацию использованного красителя, а не остатка гистидина в ферменте. С целью проверки этого предположения нами были проведены две серии опытов по фотоокислению аспарат-трансаминазы кур. В одной серии окисление проводили в присутствии анионного красителя бенгальского розового, в другой в качестве фотосенсибилизатора использовали катионный краситель метиленовый синий.

Фотоокислению подвергали раствор фермента (0,6 мг/мл) при 16° С в 0,1 М калий-фосфатном буфере (при $pH \geq 6$) или в 0,1 М натрий-ацетатном буфере (при $pH < 6$). Остальные условия опытов описаны в работе [1]. Полученные результаты представлены на рис. 1 и 2. Из рис. 1 видно, что ход кривых зависимости скорости фотоинактивации трансаминазы от pH практически не зависит от концентрации бенгальского розового, хотя скорость окисления возрастает с увеличением концентрации краски. Скорость фотоокисления почти не меняется в интервале pH от 8 до 6, но резко уменьшается при дальнейшем снижении pH; кривая pH-зависимости соответствует ионизации группы с $pK_{\text{каж}}$ 4,8. Иная зависимость от pH наблюдалась при проведении фотоокисления фермента в присутствии метиленового синего (рис. 2). В этом случае кривая соответствует ионизации группы с $pK_{\text{каж}}$ 7,2, характерным для имидазольного кольца гистидина. Таким образом, полученные в настоящей работе данные подтверждают вывод о том, что причиной инактивации аспарат-трансаминазы при

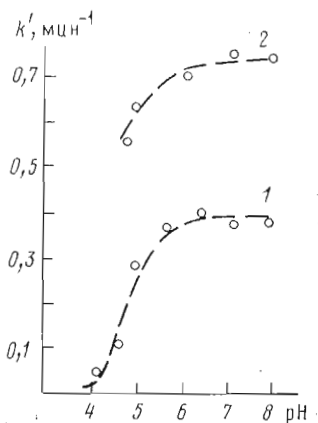


Рис. 1

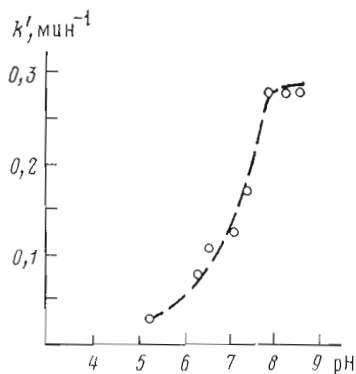


Рис. 2

Рис. 1. Зависимость скорости фотоинактивации аспарат-трансаминазы от pH в присутствии бенгальского розового при его концентрации 0,0013 (1) и 0,0039% (2). Мольное соотношение фермента и красителя 1:1 (1)

Рис. 2. Зависимость скорости фотоинактивации аспарат-трансаминазы от pH в присутствии 0,001% метиленового синего. Мольное соотношение фермента и красителя 1:3

Фотоокисления является разрушение остатка гистидина. Различная pH-зависимость фотоокисления фермента в присутствии метиленового синего и бенгальского розового может быть обусловлена различием в заряде краски, который влияет на образование комплекса между краской и белком. Эти данные представляют интерес для понимания механизма фотосенсибилизующего действия красителей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Азарян А. В., Егоров Ц. А., Механик М. Л., Торчинский Ю. М. (1977) Молекулярн. биология, 11, 1137—1146.
2. Westhead E. W. (1965) Biochemistry, 4, 2139—2144.
3. Кобылянская К. Р., Кочетов Г. А. (1971) Успехи биол. химии, 12, 97—118.
4. Bellin J. S., Yankus C. A. (1968) Arch. Biochem. and Biophys., 123, 18—28.

Поступило в редакцию
23.IX.1980

EFFECT OF THE NATURE OF PHOTSENSITIZING DYE ON THE APPARENT pK VALUE OF A HISTIDINE RESIDUE IN THE ENZYME

МЕХАНИК М. Л., СИНИТСЫНА Н. И., ТОРЧИНСКИЙ Ю. М.

*Institute of Molecular Biology, Academy of Sciences
of the USSR, Moscow*

The effects of pH on the rate of photo-induced inactivation of aspartate transaminase from chicken heart cytosol were shown to depend on the nature of sensitizing dye. The half-maximal rates of inactivation were attained at pH 4,8 in the case of Rose bengal-sensitized photooxidation and at pH 7,2 with methylene blue as sensitizer. This difference may reflect the influence of the dye's charge on its binding by the protein.