

УДК 577.3

**К ВОПРОСУ О ФАКТОРАХ ДЕГРАДАЦИИ ТРАНСКЕТОЛАЗЫ  
ПЕЧЕНИ ЖИВОТНЫХ**

**Кубьшин В. Л., Томашева Е. В.**

УО «Гродненский государственный аграрный университет»  
г. Гродно, Республика Беларусь

Транскетолаза (ТК; D-седогеупулозо-7-фосфат, D-глицеральдегид-3-фосфат гликольальдегидтрансфераза, К.Ф. 2.2.1.1) – ключевой тиаминзависимый фермент неокислительной ветви пентозофосфатного пути (ПФП) обмена углеводов. В настоящее время ТК выделена и очищена из многих биологических источников, для некоторых из них расшифрована аминокислотная последовательность, структура активного центра [1], установлен механизм транскетолазной реакции [2]. Исследована активность фермента при различных физиологических и патологических состояниях. Метаболическая роль обратимых реакций, катализируемых транскетолазой, заключается в обеспечении клетки фосфорилированными моносахарами, а также осуществлении связи

ПФП и гликолиза. Транскетолазу можно рассматривать как фермент, занимающий ключевую позицию в переключении гликолитического метаболического потока на пентозофосфатный путь.

Неокислительные превращения фосфорилированных сахаров чрезвычайно динамичны и скоординированы согласно пластическому и энергетическому обмену клетки. Функционирование неокислительного звена ПФП во многом зависит от активности ТК, стационарное содержание которого в различных тканях животного и физиологического состояния определяется подвижным равновесием процессов биосинтез-деградации апофермента.

В данной работе исследовали факторы, определяющие время полужизни транскетолазы печени. В экспериментах, где исследовали ОТ в качестве антивитамина В<sub>1</sub>, установлено время полуобновления меченого антикофермента в составе апо-ТК 24-30 ч [3], что значительно ниже времени полуобновления кофермента в ТК интактных животных равное 153 ч [4]. Полученные данные свидетельствуют о повышенной лабильности комплекса окситиаминпирофосфат-апоТК *in vivo* и в то же время истинный кофермент и антикофермент способны стабилизировать структуру ТК *in vitro* [5]. Устойчивость к денатурации высокоочищенного фермента отмечена при его хранении в оптимальных условиях (10 мМ триэтаноламинный буфер 7,4 рН, 5% глицерина). Для характеристики каталитических свойств фермента осуществляли эксперименты *in vitro*, где после замены ТПФ на ОТПФ в ТК терялась возможность полного катализа ферментативной реакции при использовании таких субстратов, как рибозо-5-фосфат и ксилулозо-5-фосфат. При замене субстрата-донора гликолевого альдегида ксилулозо-5-фосфата на фруктозо-5-фосфат отмечалось формирование замещенной формы фермента, т. к. наблюдали окисление  $\alpha$ -карбанионного интермедиата, протекающего с высокой эффективностью в присутствии феррицианида. Отсюда следует, что модифицированный окситиаминдифосфатом фермент способен образовывать замещенную форму фермента, при этом дальнейший перенос гликолевого альдегида на субстрат-акцептор не возможен, а образовавшийся комплекс замещенная форма фермента может связывать с субстратом донором, образуя тупиковый комплекс с  $K_1 = 160$  мкМ для Ф-6-Ф, который внутри клетки может быть подвержен ускоренной деградации. Возможность образования тупикового комплекса показана в кинетических экспериментах [6].

Внутрибрюшинные инъекции тиаминазы-1 в общей дозе 1,5 ед. с двухразовым введением с интервалом 72 ч приводили к снижению активности фермента (Контроль –  $1,40 \pm 0,11$ ; Опыт –  $0,68 \pm 0,04$  мкмоль/мин), что соответствует 144 ч, в течение которых актив-

ность фермента снизилась на 50%, что несколько ниже, чем у интактных животных (153 ч). На основании полученных данных можно предположить усиление деградации модифицированного ОТДФ фермента. Механизм снижения активности ТК в результате воздействия тиамназы-1 обусловлен снижением уровня внутриклеточной концентрации тиамна и его коферментной формы и, как следствие, высокой лабильностью апоформы ТК [7].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Lars Mitschke at al. // The Journal Biological Chemistry. – 2010. – V.285. – № 41. – P. 31559–31570.
2. Williams J.F. at al. // Int. J. Biochem. – 1983. – V.15. – P.797–816.
3. Островский Ю. М., Воскобоев А. И., Горенштейн Б. И. // Биохимия. – 1979. – Т. 44. – №9. – С. 1551–1557.
4. Горбач, З. В. Кубышин В. Л., С. С. Маглыш, С. В. Забродская // Биохимия. – 1986. – Т.51, вып. 7. – С.1093-1099.
5. Кубышин В. Л., Горбач З. В. // Украинский биохимический журнал. – 1985. – Т 5. – С. 37-41.
6. Горбач З. В., Кубышин В. Л. // Биохимия. – 1989. – Т. 54. – №12. – С.1980-1984.
7. Катаева И. А., Финогенова Т. В. // Пробл. совр. биохимии и биотехнологии. Тез. докл.
- 8 Объед. симп. биохим. обществ СССР, ГДР. – 1985. – 232 с.