

Г. Т. АДУНЦ, А. А. СИМОНЯН

ИЗУЧЕНИЕ ДИНАМИКИ АКТИВНОСТИ  
ФОСФОПРОТЕИНФОСФАТАЗЫ В ТЕЧЕНИЕ РАЗВИТИЯ  
КУРИНОГО ЭМБРИОНА

Изучение динамики и механизма действия фермента фосфопротеинфосфатазы (ФПФ-азы) в эмбрионе имеет большое значение, поскольку оно тесно связано с вопросом о путях использования фосфора фосфопротеинов в тканях.

Исследованиями ряда авторов [1, 2, 3, 4] было показано, что фосфопротеиновая фракция животных тканей обладает высокой интенсивностью обмена фосфора, содержащегося в ней. Среди фосфорсодержащих белков, фракция фосфопротеинов отличается от других. Эта фракция содержит небольшое количество Р—4 мг%, тогда как дезоксирибонуклеиновый Р составляет примерно 10, а рибонуклеиновый—30 мг%. Но обмен фосфопротеинов протекает гораздо быстрее, чем обмен ДНК и РНК. В этом отношении фосфопротеины могут конкурировать с АТФ и фосфокреатином. По Г. Е. Владимирову [1] фосфопротеиновая фракция также важна при возбуждении нервной ткани, как миозин при сокращении мышц. Этим подтверждается концепция А. Я. Данилевского [5], выдвинутая еще в конце прошлого века, о том, что быстрая реакция нервной системы на внешние воздействия связана именно с группой белков, содержащих Р.

Белки фосфопротеиновой фракции связаны с более важными энергетическими процессами, происходящими в нервной клетке. Обмен фосфопротеинов тесно связан с окислительным метаболизмом нервной клетки, с процессами окислительного фосфорилирования.

Таким образом, в жизни клетки фосфопротеиновая фракция выполняет важную функцию. Поэтому представляет особый интерес проникновение в сущность тех процессов, в которых участвует фосфопротеиновая фракция.

В данной работе мы решили выяснить динамику активности ФПФ-азы за весь период развития куриного эмбриона и влияние активатора при этом.

Впервые четкие данные о наличии специфической ФПФ-азы были получены в 1946 г. Харрисом [7]. Этот фермент способен отщеплять неорганический фосфат от цельной белковой молекулы без предварительного протеолиза. Фосфопротеинфосфатазную активность в оплодотворенном курином яйце открыли Фуут и Кайнд [6]. ФПФ-аза в развивающемся эмбрионе играет важную роль. Об этом говорит тот факт, что в неоплодотворенном курином яйце ФПФ-аза отсутствует, а в оплодотво-

ренном яйце появляется с третьего дня инкубации как в желточном мешке, так и в эмбрионе [6].

В яйце имеется четыре вида фосфопротеинов: овальбумин (фосфопротеин яичного белка), вителлин, вителленин и фосвитин (фосфопротеины яичного желтка). Овальбумин составляет около 70% протеинов яйца, но в нем содержание фосфора невелико—0,1—0,13%.

Фосфопротеины яичного желтка составляют 33% сухого веса яйца и по своей химической структуре ближе к казеину. Они в основном связаны с липоидными компонентами. Вителлин содержит 1% Р, а вителленин—0,29. Было доказано также, что вителлин негомогенен, и при электрофорезе делится на две фракции [9]. Вителленин оказался практически гомогенным.

Фосвитин составляет 6—7% белков желтка и содержит 60—70% фосфора общих белков. Фосвитин также негомогенен и образуется из двух компонентов, которые имеют разную подвижность [10]. Изучение химической структуры фосвитина показало, что в нем содержится в большом количестве серин (в 30 раз больше, чем других аминокислот). Фосвитин, содержащий большое количество фосфора, является основным фосфопротеином яичного желтка.

Таким образом, в яйце содержатся очень важные фосфопротеины, которые обеспечивают питание развивающегося организма и количество расходуемой энергии.

### Методика

Активность ФПФ-азы определялась в оплодотворенных яйцах кур породы белый Leghorn при соответствующей инкубации.

Активность определялась методом, описанным Фуут-Кайндом [6] и Файнштейн-Фолком [11] с некоторыми изменениями. Этот метод основан на количественном определении истинного неорганического фосфора, отщепленного ФПФ-азой от фосфопротеинов (казеин молока, фосфопротеины яйца).

Фуут и Кайнд, Файнштейн и Фолк определяли активность ФПФ-азы, применяя метод экстракции ткани, с последующим фракционным осаждением ацетоном и сернокислым аммонием. Ацетоновый порошок ткани, полученный этим путем, был значительно активнее, чем фермент гомогената, и расщеплял Р казеина и фосвитина. Вместо ацетонового порошка ткани мы употребляли его свежий гомогенат (1 часть ткани разводилась с 10 частями дистиллированной воды). Для каждого опыта бралось 4—5 зародышей. Гомогенат приготавлялся при температуре 0—5°, так как при комнатной температуре ФПФ-аза значительно теряет свою активность [6].

В качестве субстрата брался казеин, ибо казеин по своей химической структуре очень близок к фосфопротеинам яйца. Так, японский биохимик Като Тэцуо [8] доказал, что фосфатаза фосфопротеина, присутствующая в экстрактах из ацетонового препарата печени кролика,

дефосфорилировала казеин и его компоненты ( $\alpha$  и  $\beta$ ) с гораздо большей скоростью, чем фосвитин желтка куриного яйца. Постернак [12] показал, что фосфатное ядро казеина образуется из остатков серин-fosфата, где Р соединен с серином эфирной связью.

Исследованиями ряда авторов [13, 14] доказано, что в тканях млекопитающих животных, в икре некоторых рыб и лягушек ФПФ-аза не обладает выраженной специфичностью. В литературе имеются данные, доказывающие специфичность ФПФ-азы [19], однако большинством исследователей это отрицается. Субстратом ФПФ-азы могут служить как разные фосфопротеины, так и фенилфосфат и неорганический пирофосфат. Но ФПФ-аза не оказывает действия на глицерофосфат, серинфосфат и треонинфосфат.

Казеин приготавляется на боратном буфере, pH=6,0—6,2, с концентрацией—10 мг казеина в 1 мл. Для этого 100 мг казеина полностью растворяется в 5 мл щелочного бората, затем осторожно (по каплям) добавляется 5 мл 0,1 HCl. Обеспечение нужного pH казеина важно для получения правильных данных. Известно, что оптимум pH для расщепления казеина и эндогенных субстратов ФПФ-азой животных тканей колеблется в довольно узких пределах—5,5—6,1 [4]. В исследованиях китайских авторов [2], а также Фуута и Кайнда, было показано, что оптимальным pH-ом для действия ФПФ-азы куриного эмбриона является 5,8—6,0, а константа Михаелиса— $1,6 \cdot 10^{-3}$  М казеин/P.

На каждую пробу опыта берется 5 мл казеинборатного субстрата и добавляется тканевой гомогенат в количестве 0,5 мл, соответствующий 50 мг свежей ткани.

Реакционная смесь инкубируется в течение 1 ч. при 37°, с последующим 10-минутным выдерживанием в ледяной бане. Белки осаждаются 40%-ной трихлоруксусной кислотой и выделяются фильтрованием. Количество истинного неорганического фосфора определяется в фильтрате по методу Лоури-Лопеса [15] с помощью красного фильтра ФЭК М-1.

Активность фермента выражается количеством мг/P, отщепленного от казеина неорганического фосфата в течение 1 ч., при температуре 37°, на 1 г свежей ткани.

### Результаты и обсуждение

ФПФ-азная активность в желтке и желточном мешке определялась с первого дня инкубирования яиц, в эмбрионе с пятого и в мозгу—с седьмого дня.

Полученные данные показывают, что в первый и второй день инкубации ФПФ-азная активность в курином яйце отсутствует (рис. 1). Активность фермента появляется с третьего дня развития в желточном мешке (0,04 мг/P).

Этот период развития птиц по М. Н. Рагозиной [16, 17] и Г. А. Шмидту [18] называется зародышевой стадией и длится 7 дней. В этом периоде несмотря на огромный запас питательных веществ желтка и белка

яйца, развитие эмбриона протекает очень медленно, уровень обмена веществ и дыхания очень низок. Об этом говорит тот факт, что до пятого дня в тканях эмбриона активность фермента незаметна и только на 6—7-й день достигает 0,54—0,68 мг/Р. На седьмой день инкубации в мозгу активность ФПФ-азы достигает 0,7 мг/Р. Что касается желтка яйца, то в течение всего развития эмбриона в нем ФПФ-азная активность не проявляется.

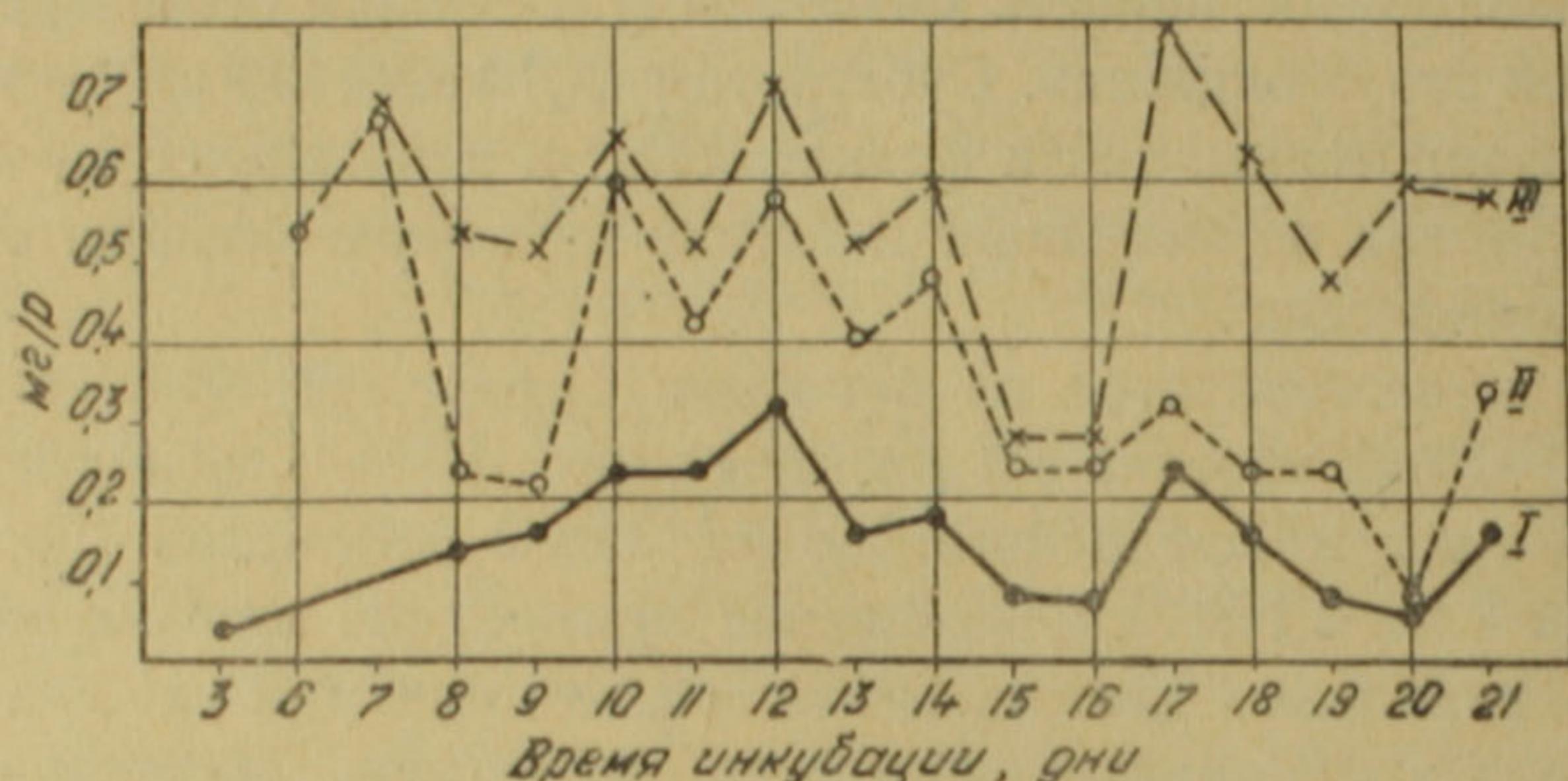


Рис. 1. Динамика активности ФПФ-азы в курином эмбрионе.  
I — желточный мешок, II — мышечная ткань, III — мозг.

В третьей — предплодной стадии развития, которая начинается с восьмого дня инкубации яиц и длится до 12-го дня, активность фермента повышается. В наших исследованиях было показано, что активность в желточном мешке на восьмой день составляет 0,14, на девятый — 0,16, на десятый и одиннадцатый — 0,24 и на двенадцатый день — 0,32 мг/Р на 1 г свежей ткани.

Как видно, в предплодной стадии активность ФПФ-азы в желточном мешке возрастает. Повышение активности фермента параллельно с интенсивностью обмена веществ в этой стадии связано с увеличением зародышевого диска, который охватывает всю массу желтка, создавая вокруг него замкнутый желточный мешок. Густые и жидкие части желтка начинают проникать в зародыш через клетки желточной энтодермы, затем через сосудистую систему зародышевого диска. В этой стадии в мышечной ткани зародыша активность ФПФ-азы составляет 0,22—0,60, в мозгу — 0,52—0,72 мг/Р на 1 г свежей ткани.

Нужно отметить, что активность ФПФ-азы в отдельные дни инкубации повышается не равномерно, а волнами. Так, активность фермента во всех тканях повышается в течение 10, 11, 12 и частично 13 дней. В этом периоде активность фермента в желточном мешке достигает своего максимума (0,32 мг/Р). Это объясняется тем, что развитие зародыша протекает более интенсивно. В этой стадии развития зародышу нужно большое количество фосфопротеинов и энергии. ФПФ-аза утилизирует фосфопротеины желтка, способствует усвоению содержимого желтка зародышем. С этой точки зрения наши опыты подтверждают данные, полученные китайскими учеными [19, 2].

Третий период развития куриного эмбриона — плодная стадия, кото-

ая охватывает 13—19 дни инкубирования яиц. В этом периоде развития эмбрион питается в основном за счет усвоения остатков густого белка. В конце этой стадии в условиях правильной инкубации белок полностью усваивается зародышем. Вес белка (у кур составляет 19% общего веса яйца) в конце этой стадии развития падает и приравнивается к нулю [2]. Вес желточного мешка и его содержимого в этой стадии не подвергается существенным изменениям.

Эти глубокие биологические изменения оказывают воздействие также и на активность ФПФ-азы. Из наших опытов явствует, что в плодной стадии активность в желточном мешке заметно понижается и в течение отдельных дней составляет 0,06—0,16 мг/Р. Только на семнадцатый день наблюдалась высокая активность (0,24 мг/Р). В мышечной ткани и в мозгу, наоборот, в этом периоде наблюдается повышение активности фермента. Так, в плодной стадии в разные дни активность ФПФ-азы в мышечной ткани составляла 0,24—0,48, в мозгу—0,28—0,80 мг/Р. Высокая активность наблюдалась особенно на 17-ый день инкубации (в мышечной ткани 0,32 и в мозгу 0,80 мг/Р). Сравнительно низкой активность была на 15-й и 16-й день в мышечной ткани — 0,24 и в мозгу — 0,28 мг/Р).

Основным источником питания плода в этой стадии является белок, но, как дополнительный источник питательных веществ, более или менее усваивается и содержимое желточного мешка. Это подтверждается тем, что в плодной стадии активность ФПФ-азы в желточном мешке исчезает не полностью, а несколько сохраняется, что свидетельствует о факте использования зародышем фосфопротеинов и их энергии.

В последней стадии—стадии вылупления, которая начинается после освоения основной массы белка плодом, питание цыпленка также происходит за счет питательных веществ желточного мешка. Этот источник питания теперь становится основным, а белок—второстепенным.

В этой стадии развития эмбриона активность ФПФ-азы в желточном мешке снова повышается и на 21-й день достигает 0,16 мг/Р. В мышечной ткани в течение 20—21 дня активность фермента достигает 0,08—0,34, а в мозгу—0,60—0,58 мг/Р.

Интересно отметить, что этот способ питания зародыша, который существует в стадии вылупления, сохраняется и после его вылупления, вплоть до начала активного питания цыпленка, которое начинается примерно на второй день после вылупления из яйца.

В желточном мешке однодневного цыпленка активность ФПФ-азы заметно понижается — 0,04 мг/Р (рис. 2), а в мозгу повышается—0,54—0,56 мг/Р (рис. 3). В мышцах активность фермента составляет 0,16—0,24 мг/Р (рис. 4). У шестидневных цыплят в мозгу ФПФ-азная активность составляет 0,34, а в мышечной ткани—0,28 мг/Р.

Вторая часть работы посвящена изучению влияния активатора на активность ФПФ-азы в течение развития куриного эмбриона.

Работами ряда исследователей [9] было показано, что активность ФПФ-азы повышается в присутствии ионов двухвалентных элементов:

$\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Ba}^{++}$ ,  $\text{Mn}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$ . Пейджен [10] заметил, что этот фермент активируется также ионом  $\text{Cu}^{++}$ . Деятельность фермента активируют также аскорбиновая кислота (витамин С) и цистеин. Активность фермента ингибируется ионами  $\text{K}^+$ ,  $\text{Fe}^{++}$ ,  $\text{Ni}^{++}$ ,  $\text{Co}^{++}$ ,  $\text{Zn}^{++}$ ,  $\text{Hg}^{++}$  и  $\text{F}^-$  являются мощными ингибиторами фосфопротеинфосфатазы. Это указывает на участие SH-групп в активности фермента [8].

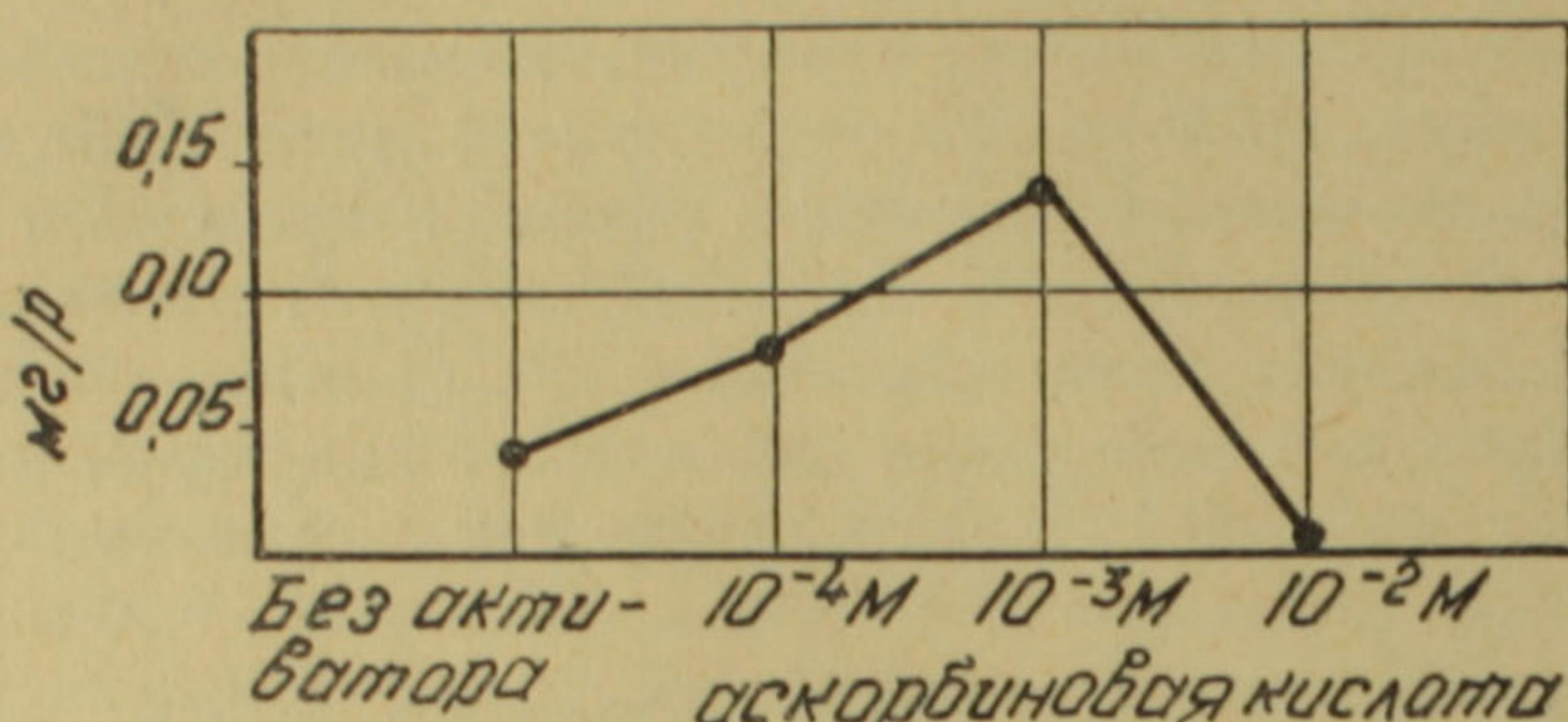


Рис. 2. Динамика активности ФПФ-азы в желточном мешке однодневного цыпленка и влияние аскорбиновой кислоты на активность фермента.

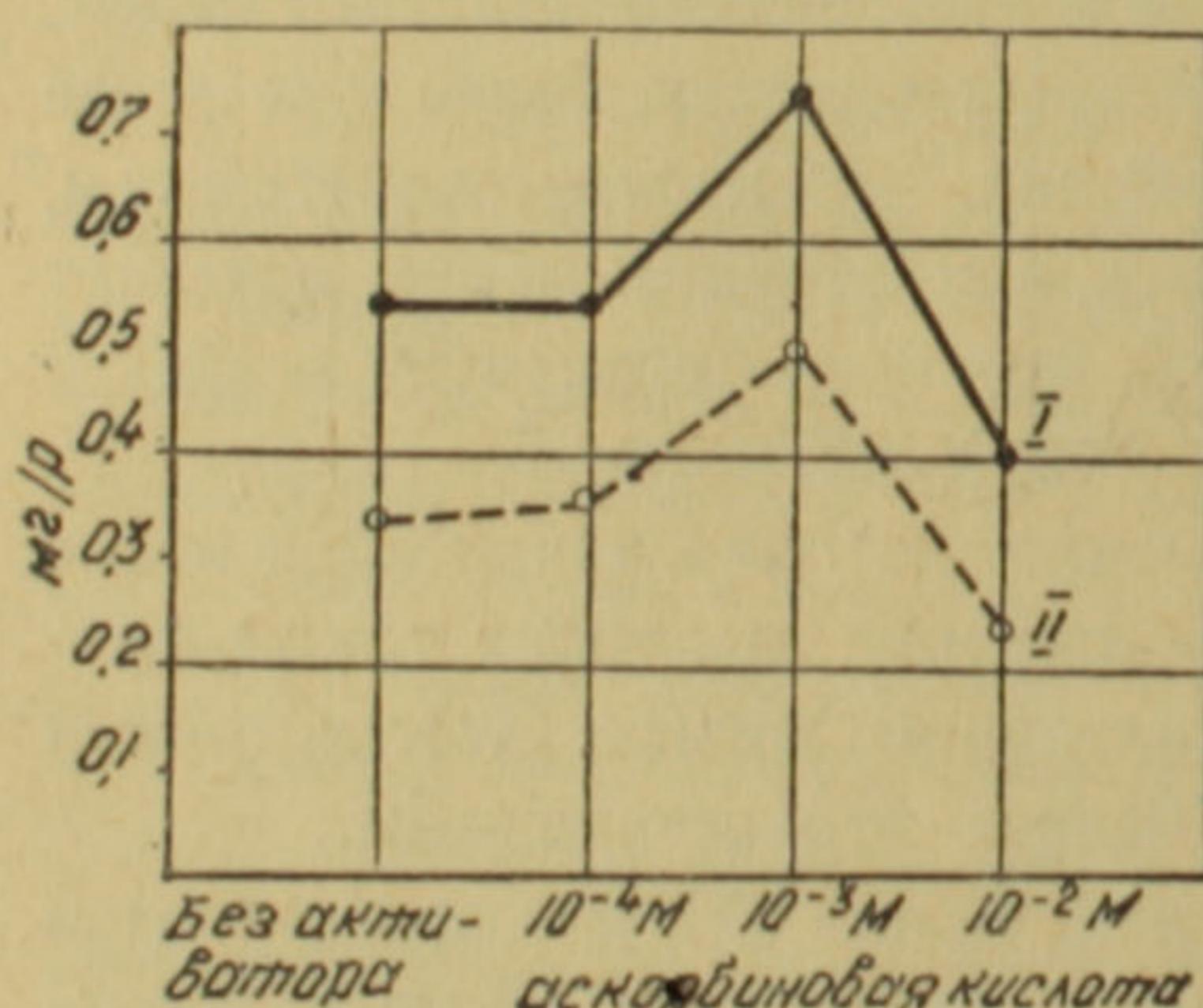


Рис. 3. Динамика активности ФПФ-азы в мозгу цыпленка и влияние аскорбиновой кислоты на активность фермента. I—однодневный цыпленок, II—шестидневный цыпленок.

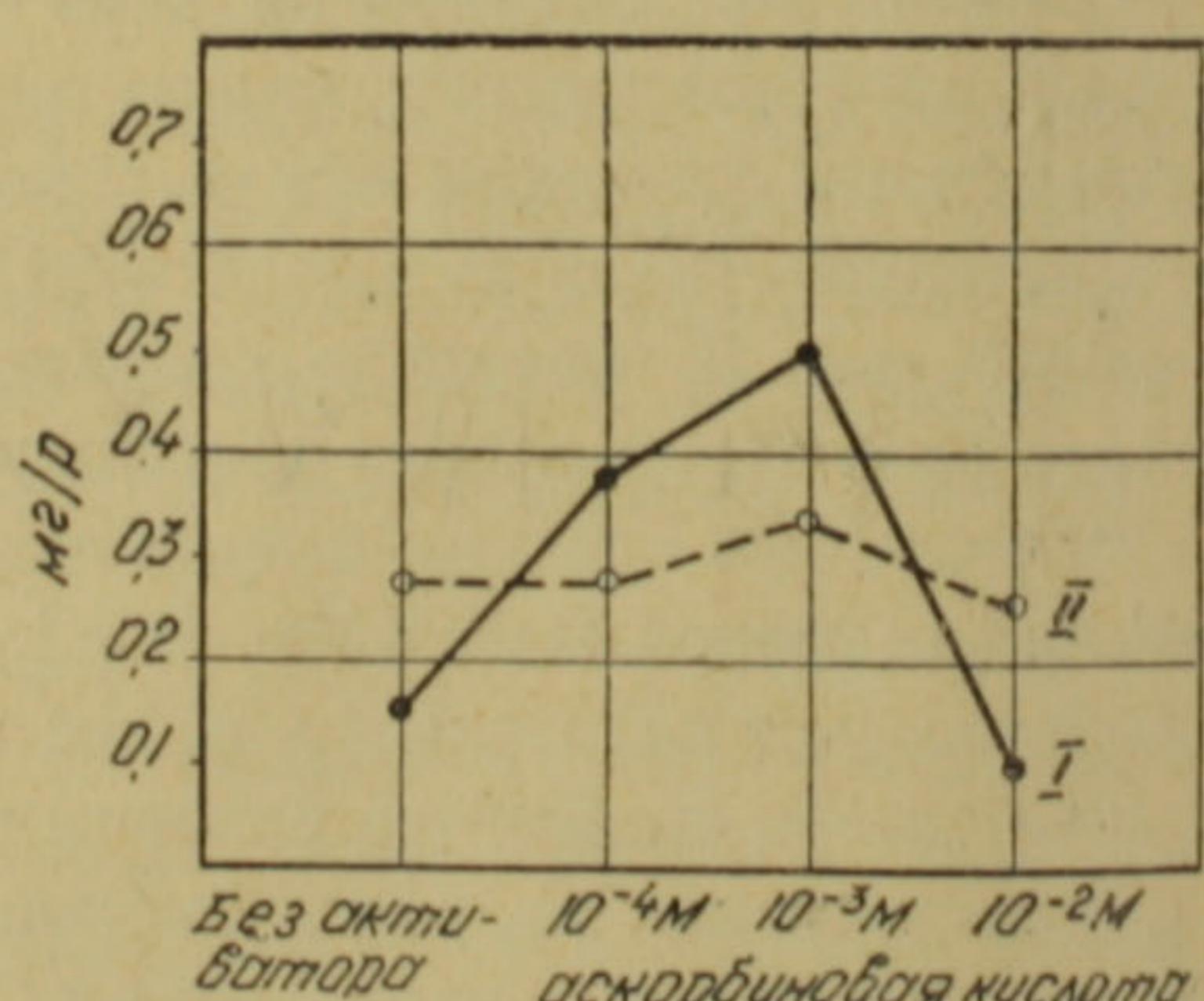


Рис. 4. Динамика активности ФПФ-азы в мышечной ткани цыпленка и влияние аскорбиновой кислоты на активность фермента. I—однодневный цыпленок, II—шестидневный цыпленок.

В качестве активатора ФПФ-азы мы использовали  $10^{-4}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-2}$  молярные растворы аскорбиновой кислоты, которые добавлялись к каждой пробе в количестве 0,5 мл.

Результаты проведенных исследований показывают, что по сравнению с пробами без активатора, аскорбиновая кислота  $10^{-4}$ ,  $10^{-3}$  М значительно повышает деятельность фермента. В разные дни инкубации  $10^{-4}\text{M}$  раствор аскорбиновой кислоты повышает активность ФПФ-азы желточного мешка, по сравнению с контрольными пробами, на 12,5—233,3, мышечной ткани—на 8,8—275,0, мозга—на 2,8—100% (рис. 5, 6, 7).

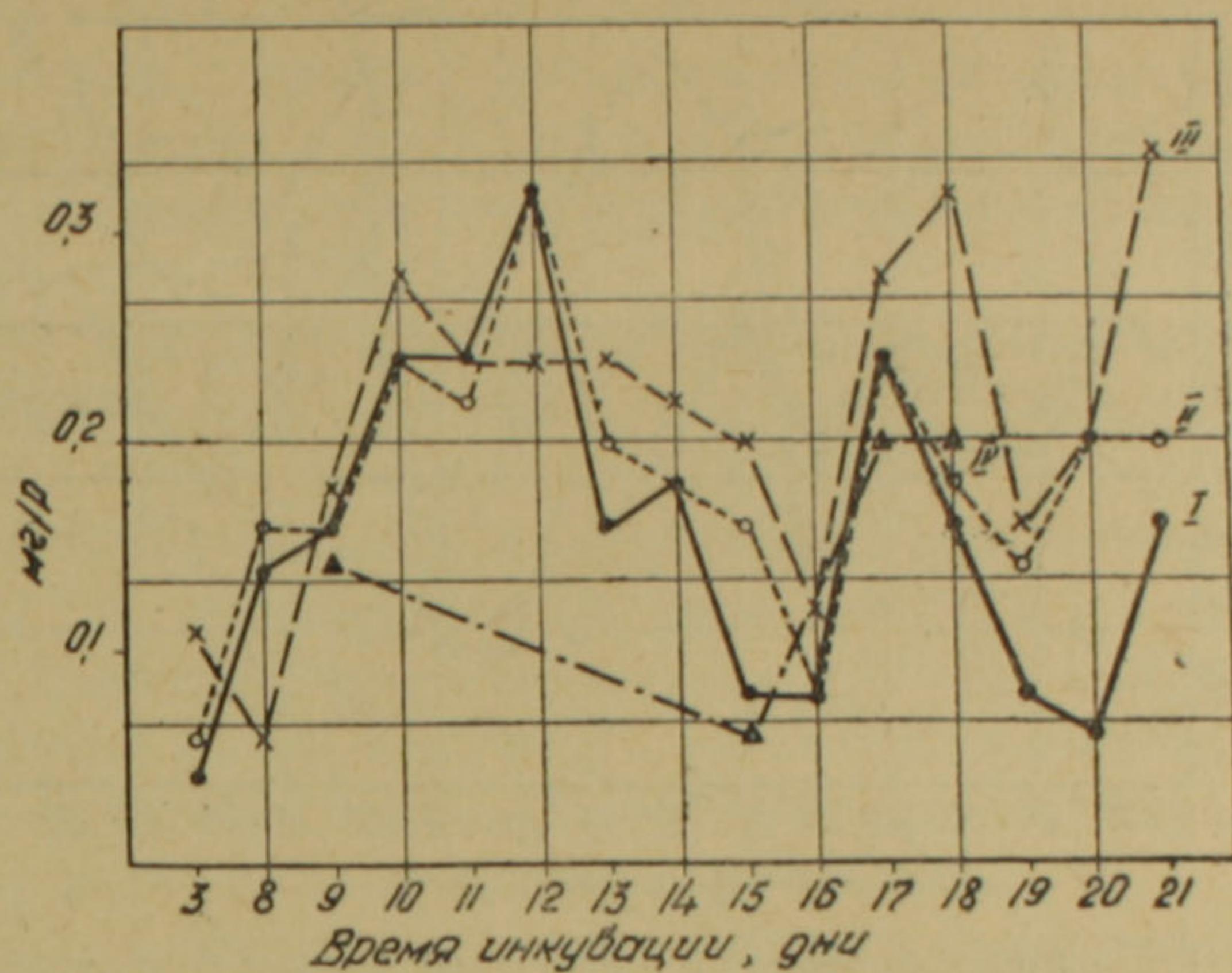


Рис. 5. Динамика активности ФПФ-азы в желточном мешке куриного эмбриона и влияние аскорбиновой кислоты на активность фермента. I—без активатора, II—с  $10^{-4}$  М аскорбиновой кислотой; III—с  $10^{-3}$  М аскорбиновой кислотой, IV—с  $10^{-2}$  М аскорбиновой кислотой

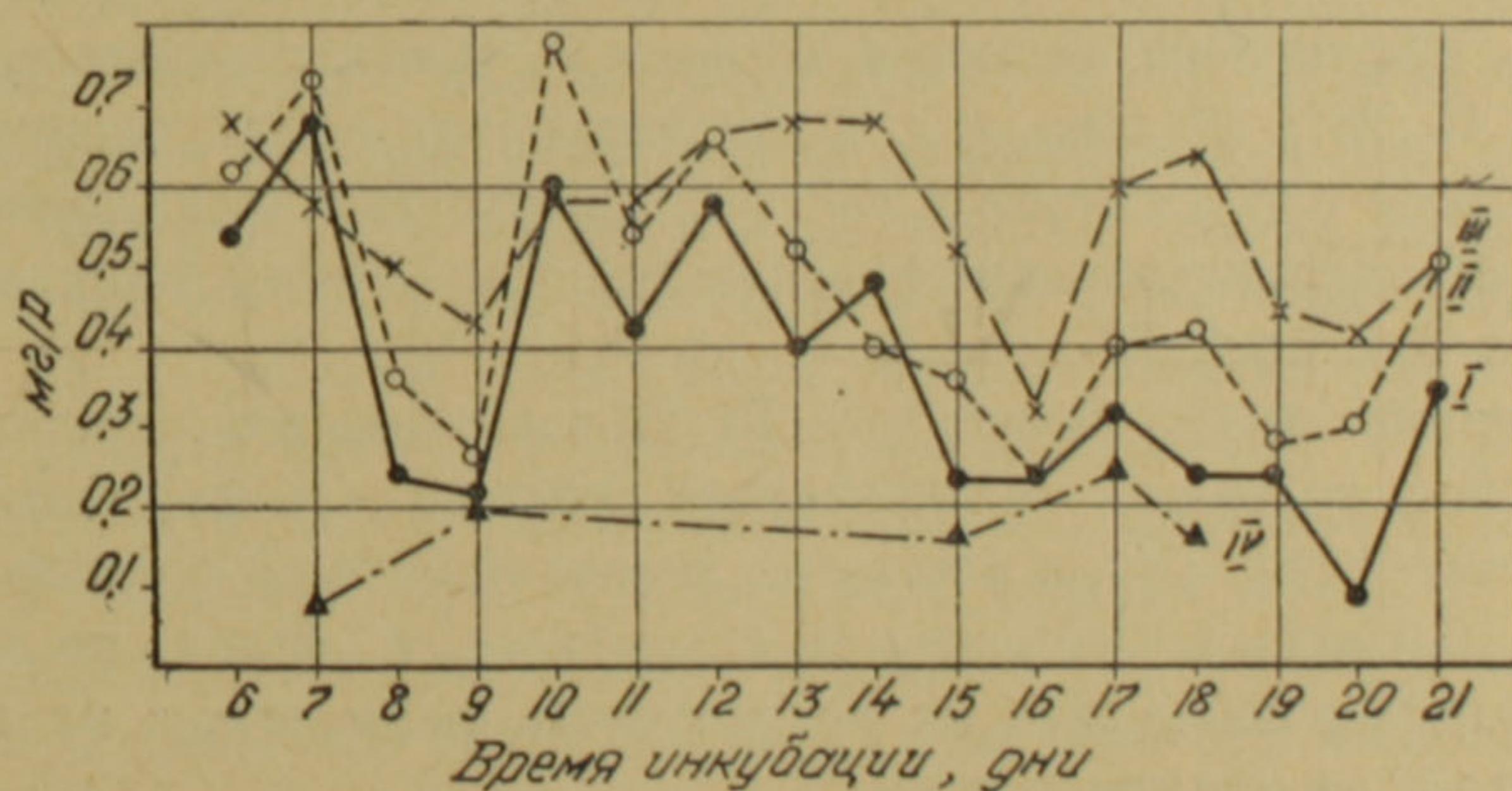


Рис. 6. Динамика активности ФПФ-азы в мышечной ткани куриного эмбриона и влияние аскорбиновой кислоты на активность фермента. I—без активатора, II—с  $10^{-4}$  М аскорбиновой кислотой, III—с  $10^{-3}$  М аскорбиновой кислотой, IV—с  $10^{-2}$  М аскорбиновой кислотой.

$10^{-4}$  М аскорбиновая кислота, при сравнении с пробами без активатора, увеличивает ФПФ-азную активность желточного мешка при 20-и дневной инкубации на 233,3%, при 15-и дневной—на 100,0, при 19-и дневной—на 75,0 и при 3-х дневной—на 50,0%. В мышечной ткани, как показали наши исследования, ФПФ-азная активность на 20-й день повышается на 275,0%, на 18-й—на 75,0, на 8-й и на 15-й—на 50,0 и на 21-й день—на 47,0%. В мозгу  $10^{-4}$  М аскорбиновая кислота повышает активность фермента на 15-й день на 100,0%, на 13-й—на 38,4 и на 21-й—на 31,0%.

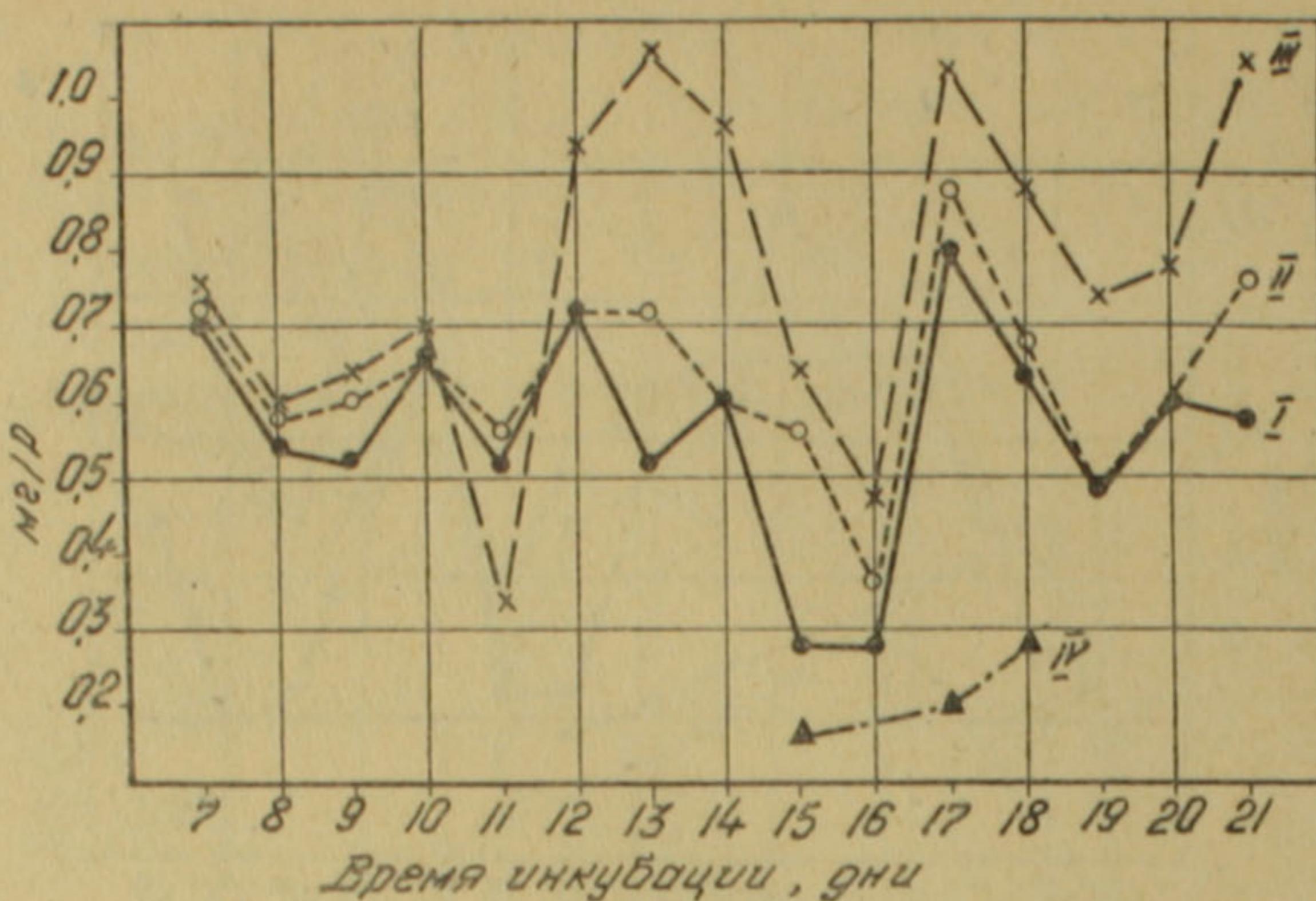


Рис. 7. Динамика активности ФПФ-азы в мозгу куриного эмбриона и влияние аскорбиновой кислоты на активность фермента. I—без активатора, II—с  $10^{-4}$  М аскорбиновой кислотой, III—с  $10^{-3}$  М аскорбиновой кислотой, IV—с  $10^{-2}$  М аскорбиновой кислотой.

Как видно, под действием  $10^{-4}$  М аскорбиновой кислоты ФПФ-азная активность желточного мешка и мышечной ткани максимально повышается на 15, 20 и 21 день, т. е. в стадиях плода и вылупления. Аналогичная картина наблюдается в мозгу в присутствии активатора, где активность фермента интенсивно повышается опять-таки в плодной стадии и в период вылупления.

Из рисунков видно также, что  $10^{-4}$  М аскорбиновая кислота в некоторых случаях не только не активирует деятельность фермента, а, наоборот, подавляет ее. Так, в наших исследованиях было показано, что на 10, 12, 14, 16-й день инкубации яиц аскорбиновая кислота не оказывает активирующего воздействия на деятельность фермента, а на 11-й день даже угнетает ее примерно на 9,5%.

По сравнению с пробами без активатора, в мышечной ткани  $10^{-4}$  М аскорбиновая кислота на 16-й день не изменяет активности ФПФ-азы, а в мозгу—на 10, 12, 14, 19-й день.

Под действием  $10^{-3}$  М (или миллимоль) аскорбиновой кислоты активность фермента повышается более, чем при  $10^{-4}$  М. Так, в желточном мешке, по сравнению с пробами без активатора, под влиянием  $10^{-3}$  М аскорбиновой кислоты активность ФПФ-азы повышается на 12,4—233,3%, в мышечной ткани—на 13,8—412,5 и в мозгу—на 6,0—128,0%.  $10^{-3}$  М аскорбиновая кислота на 20-й день инкубации яйца повышает ФПФ-азную активность в желточном мешке на 233,3%, на 3-й день—на 175,0, на 15-й день—на 150,0, на 21-й день—на 112,5, а на 18- и 19-й дни—на 100,0%. Активность фермента в мышечной ткани под действием  $10^{-3}$  М аскорбиновой кислоты повышается на 20-ый день на 412,5%, на 15 и 18-й день—на 116,6, на 8-й день—на 108,3%; в мозгу на 15-й день—на 128,4, на 13-й день—на 103,8, на 21-й день на 81,0, на 16-й день—на

71,4 %. Как видно из данных, под влиянием  $10^{-3}$  М аскорбиновой кислоты, по сравнению с пробами без активатора, активность ФПФ-азы интенсивно увеличивается в стадиях плодной и вылупления.

$10^{-3}$  М аскорбиновая кислота также в течение отдельных дней парализует активность ФПФ-азы.

$10^{-2}$  М аскорбиновая кислота почти во всех опытах парализует деятельность ФПФ-азы: в желточном мешке на 12,5—25,0 %, в мышечной ткани—на 8,1—88,3, и в мозгу—на 24,9—75,0 %.

Тканевая ФПФ-аза одно- и шестидневных цыплят также активируется  $10^{-4}$  и  $10^{-3}$  М аскорбиновой кислотой (рис. 2, 3 и 4). Так, ФПФ-аза желточного мешка однодневного цыпленка  $10^{-4}$  М аскорбиновой кислотой активируется на 100,0, а  $10^{-3}$  М —на 150,0 %, в мышечной ткани соответственно—на 137,5 и 212,5 %. Такая закономерность наблюдается также в тканях шестидневных цыплят.

$10^{-2}$  М аскорбиновая кислота сильно подавляет активность тканевой ФПФ-азы.

Предварительное изучение влияния диализа на деятельность ФПФ-азы, не дало четких результатов.

### Выводы

Проведенные нами опыты показывают, что активность ФПФ-азы в развивающемся курином эмбрионе проявляется с 3-го дня инкубирования яиц. До пятого дня активность фермента в тканях зародыша незаметна, только с 6—7-го дня она проявляется и достигает своего максимума на 10—13 день—в стадии интенсивного развития эмбриона. Динамика активности фермента протекает не равномерно, а волнообразно. Активность ФПФ-азы в предплодной стадии в желточном мешке возрастает, она повышается также в мышечной ткани и в мозгу.

В плодной стадии активность фермента в желточном мешке понижается, а в мышечной ткани и в мозгу—не меняется. В последней стадии—стадии вылупления—активность ФПФ-азы в желточном мешке снова повышается.

У однодневных цыплят в желточном мешке активность фермента заметно понижается, а в мышцах и в мозгу повышается.

Из всех тканей куриного эмбриона высокой ФПФ-азной активностью обладает мозг, низкой—желточный мешок, среднее положение занимает мышечная ткань.

$10^{-4}$  М,  $10^{-3}$  М аскорбиновая кислота заметно активирует ФПФ-азу куриного эмбриона. Активность особенно повышается в стадиях плодной и вылупления развития эмбриона.  $10^{-2}$  М аскорбиновая кислота, наоборот, подавляет активность фермента. Та же закономерность существует при действии тканевой ФПФ-азы 1—6 дневных цыплят.

Диализ не оказывает влияния на ФПФ-азную активность.

Դ. Թ. ԱԴՈՆՑ, Ա. Ա. ՍԻՄՈՆՅԱՆ

ՖՈՍՖՈՓՐՈՏԵԽՈՍՖՈՍԱՏԱԶԱՅԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ԴԻՆԱՄԻԿԱՅԻ  
ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ ՀԱՎԻ ՍԱՂՄԻ ԶԱՐԳԱՑՄԱՆ ԸՆԹԱՑՔՈՒՄ

Ա մ փ ռ փ ռ ւ մ

Մեր նպատակն է եղել պարզել ֆոսֆոպրոտեխնֆոսֆատազի (ՖՊՖ-ազայի) ակտիվության դինամիկան հավի սաղմի զարգացման ընթացքում և ակտիվատորի ազդեցությունը այդ դինամիկայի վրա՝ ձվերի ինկուբացման ամբողջ շրջանում։ Ֆերմենտի ակտիվության որոշումը կատարվել է ըստ Ֆութքայնդի [6] և Ֆայնշտեյն—Ֆոլկի [7] նկարագրած մեթոդի՝ որոշակի ձևափոխություններով։ Որպես սուբստրատ օգտագործվել է կազեինի բորատային բուֆերը (pH 6,0—6,2):

Փորձերից ստացված արդյունքները ցույց են տալիս, որ ինկուբացիայի 1-ին և 2-րդ օրերի ընթացքում ՖՊՖ-ազային ակտիվությունը հավի ձվում բացակայում է։ Ֆերմենտի գործունեությունն սկսվում է զարգացման 3-րդ օրից՝ դեղնուցային պարկում՝ 0,04 մգ/Պ 1 գ թարմ հյուսվածքին (ճտի զարգացման սաղմնային ստադիա)։ Մինչև 5-րդ օրը սաղմի հյուսվածքներում ՖՊՖ-ազայի ակտիվությունը շատ աննշան է և միայն 6—7-րդ օրերի ընթացքում այն հասնում է 0,54—0,68 մգ/Պ։

Սաղմի զարգացման 2-րդ՝ նախապտղային ստադիայում (8—12-րդ օրերը) ֆերմենտի ակտիվությունը դեղնուցային պարկում գնալով աճում է (0,14—0,32 մգ/Պ)։ Այս ստադիայում սաղմի մկանային հյուսվածքում ՖՊՖ-ազայի ակտիվությունը կազմել է 0,22—0,60, իսկ ուղեղում՝ 0,52—0,72 մգ/Պ 1 գ թարմ հյուսվածքին։

Զարգացման 3-րդ՝ պտղային ստադիայում, որն ընդգրկում է 13—19-րդ օրերը, ֆերմենտի ակտիվությունը դեղնուցային պարկում նկատելիորեն իշնում է և առանձին օրերի ընթացքում հասնում 0,06—0,18 մգ/Պ։ Մկանային հյուսվածքում և ուղեղում, ընդհակառակը, այդ շրջանում նկատվում է ֆերմենտի ակտիվության բարձրացում (ուղեղում՝ 0,28—0,80, մկաններում՝ 0,24—0,48 մգ/Պ)։

Զարգացման վերջին՝ ճտի դուրս գալու ստադիայում դեղնուցային պարկում ՖՊՖ-ազայի ակտիվությունը նորից բարձրանում է և 21-րդ օրը հասնում 0,16 մգ/Պ։ Մկանային հյուսվածքում 20—21-րդ օրերի ընթացքում ֆերմենտի ակտիվությունը կազմել է 0,08—0,34, իսկ ուղեղում՝ 0,06—0,58 մգ/Պ)։

Մեկ օրական ճտերի դեղնուցային պարկում ՖՊՖ-ազայի ակտիվությունն զգալիորեն իշնում է՝ 0,04 մգ/Պ, իսկ ուղեղում բարձրանում՝ 0,54—0,56 մգ/Պ։ Մկաններում ֆերմենտի ակտիվությունը կազմել է 0,16—0,24 մգ/Պ։ Վեց օրական ճտերի ուղեղում ՖՊՖ-ազայի ակտիվությունը կազմել է 0,34, իսկ մկանային հյուսվածքում՝ 0,28 մգ/Պ։

Հավի սաղմի բոլոր հյուսվածքներից բարձր ՖՊՖ-ազային ակտիվությամբ օժտված է ուղեղը, ցածր՝ դեղնուցային պարկը, իսկ միջին տեղը բոնում է մկանային հյուսվածքը։

Կատարված աշխատանքները ցույց են տալիս, որ դիալիզը ՖՊՖ-ազայի ակտիվության վրա ազդեցություն չի թողնում։

Փորձերի արդյունքները ցույց են տալիս նաև, որ  $10^{-4}$  և  $10^{-3}\text{M}$  ասկոր-  
բինաթթուն ակտիվացնում է ֆերմենտի գործունեությունը:  $10^{-4}\text{M}$  ասկորբինա-  
թթուն, ինկուբացման տարրեր օրերի ընթացքում, ղեղնուցային պարկի ՖՊ-  
ազայի ակտիվությունը, առանց ակտիվատորի նմուշների համեմատությամբ,  
բարձրացել է  $12,5-233,3\%$ -ով, մկանային հյուսվածքինը՝  $8,8-275,0$ , ուղե-  
ղինը՝  $2,8-100,0\%$ -ով:

$10^{-3}$ М ասկորբինաթթվի ազդեցությամբ ֆՊՖ-ազան ավելի շատ է ակտիվանում, քան՝  $10^{-4}$ М -ի։ Այսպես, դեղնուցային պարկում, առանց ակտիվատորի նմուշների համեմատությամբ,  $10^{-3}$ М ասկորբինաթթվի ազդեցությամբ ֆՊՖ-ազայի ակտիվությունը բարձրացել է  $12,4—233,3\%$ -ով, մկանային հյուսվածքում՝  $13,8—412,5$ , իսկ ուղեղում՝  $6,0—128,0\%$ -ով։

$10^{-2}$  Մասկորբինաթթուն դրեթե բոլոր փորձերում խիստ ընկճել է ՖՊՖ-աղայի ակտիվությունը:

Մեկ և վեց օրական ճտերի հյուսվածքների ՅՊՅ-աղան նույնպես ակտիվացել  $\pm 10^{-4}$  և  $10^{-3}$ М ասկորբինաթթվեց, իսկ  $10^{-2}$ М -ից՝ ճնշվել:

## Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Владимицов Г. Е. Физиол. Ж., 39, I, 1953.
  2. Li Si-O h a. Ho Jen-Sen., Acta Biochim. Sinica, I, I, 95, 1958.
  3. Лисовская Н. П. ДАН СССР, 95, 5, 1033—1036, 1954.
  4. Лисовская Н. П. Биохимия, 19, 5, 626—627, 1954.
  5. Данилевский А. Я. Физиол. сб., 2, 141, 1891.
  6. Foote M. W., Kind C. A., Arch. Biochem. a. Biophys, 46, 254, 1953.
  7. Harris D. L., J. Chem., 165, 541, 1946.
  8. Като Т. „Гуфу ика дайгаку киё, Acta scholae med. Gifu\*, 8, № 3, 712—725, 1960.
  9. Sugano H. J., Biochem. (Japan), 44, 205, 1957.
  10. Paigen K., J. Biol. Chem., 233, 388, 1958.
  11. Feinstein R. N., a. Volk M. E., J. Biol. Chem., 177, 339, 1949.
  12. Posternak S., Biochem. J., 27, 289, 1927.
  13. Hofman T., Biochem. J., 69, 135, 1958.
  14. Sundaragajan T. A., Sarma P. S., Biochem. J., 71, 537, 1959.
  15. Lowry H. O., Lopez J. A., J. Biol. Chem., 162, 421, 1946.
  16. Рогозина М. Н. Изв. АН СССР, с. биол., 4, 95—111, 1955.
  17. Рогозина М. Н. ДАН СССР, 89, 4, 1953.
  18. Шмидт Г. А. Труды ин-та морф. живот. им. А. И. Северцова, 12, 1954.
  19. Li Si-O h, Chang Wei-Jing, Ho Jen-Sen, Acta Biochim. Sinica. 1, 107—111, 1958.