

УДК 581.19:577.161

**ВЛИЯНИЕ РЯДА МЕТАБОЛИТОВ УГЛЕВОДНОГО  
ОБМЕНА НА АКТИВНОСТЬ НАДФ-ЗАВИСИМОЙ  
ИЗОЦИТРАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ  
ПЛОДОВ ЯБЛОНИ**

**С.Н.ОМАРОВА, Я.А.ОМАРОВ, З.А.ТАГИЗАДЕ, А.А.КУЛИЕВ**  
*Бакинский Государственный Университет*  
*saboma@rambler.ru*

*Изучено влияние на активность НАДФ-зависимой изоцитратдегидрогеназы (НАДФ-ИДГ) плодов яблони ряда метаболитов углеводного обмена. Установлено, что наиболее сильно выраженным ингибирующим эффектом на фермент (более, чем на 55%) характеризуется конкурентный ингибитор фермента – 2-оксоглутарат. Глиоксилат выступает в роли неконкурентного ингибитора НАДФ-ИДГ. Исследуемый фермент в равной степени ингибируется как глиоксилатом, так и оксалоацетатом, в случае же их одновременного добавления в среду они оказывают синергическое действие.*

**Ключевые слова:** НАДФ-зависимая изоцитратдегидрогеназа, яблоки, ингибиторы, глиоксилат, 2-оксоглутарат, углеводный обмен.

НАДФ-зависимая изоцитратдегидрогеназа принадлежит к семейству металлозависимых  $\beta$ -декарбоксилирующих дегидрогеназ и катализирует окислительное декарбоксилирование изолимонной кислоты до 2-оксоглутарата,  $\text{CO}_2$  и НАДФН. Несмотря на то, что изоцитратдегидрогеназная активность широко распространена в живых организмах, биохимическая роль этого фермента все еще полностью не выяснена. В литературе имеется значительное количество работ, посвященных изучению особенностей функционирования, регуляции, а также выяснению роли и места НАДФ-ИДГ в общем метаболизме клетки [2, 6, 8]. Однако, все имеющиеся на сегодняшний день данные носят противоречивый характер и требуют продолжения исследований в этом направлении.

Показано, что в бактериях НАДФ-ИДГ является ферментом цикла Кребса, активность которого регулируется путем фосфорилирования и дефосфорилирования под действием бифункциональной специфической киназы/фосфатазы изоцитратдегидрогеназы [7, 10]. Предполагается, что в митохондриях животных данный фермент вовлечен в процесс продук-

ции энергии, в то время как цитозольная форма снабжает этот клеточный компартмент НАДФН, необходимым для биосинтетических реакций [3]. Недавно обнаружено, что в тканях человека НАДФ-ИДГ вовлечен в процесс канцерогенеза [9]. Предполагается, что в высших растениях хлоропластная НАДФ-ИДГ может обеспечивать клетку 2-оксоглутаратом, необходимым для биосинтеза глутамата; функция же цитозольной НАДФ-ИДГ в клетках растений остается неясной и все еще является темой для размышления [4].

Учитывая тот факт, что выяснение особенностей регуляции активности НАДФ-ИДГ будет способствовать пониманию механизмов, посредством которых происходит объединение отдельных звеньев клеточного метаболизма в единую сеть метаболизма живой клетки, мы поставили перед собой целью изучить особенности регуляции активности данного фермента под действием ряда метаболитов углеводного метаболизма, в частности, метаболитов цикла лимонной кислоты и глиоксилатного цикла.

### **Объекты и методы исследования**

Объектами исследования служили плоды яблони (*Malus domestica* Borkh.) двух сортов – Антоновки и Ренет Симиренко, произрастающие в Губинском районе Азербайджана.

Получение активного ферментного препарата НАДФ-ИДГ из субэпидермальной ткани плодов яблони, его очистку и определение активности проводили, как описано ранее [1]. С целью изучения особенностей влияния на активность исследуемого фермента некоторых метаболитов углеводного обмена нами были использованы растворы глиоксилата, оксалоацетата, цитрата и 2-оксоглутарата. В инкубационную среду добавляли растворы соответствующих метаболитов в различных концентрациях. При определении активности фермента в присутствии указанных метаболитов концентрации прочих компонентов инкубационной среды оставались неизменными.

### **Результаты и их обсуждение**

Так, нами было протестировано влияние на активность НАДФ-зависимой ИДГ субэпидермальной ткани плодов яблони таких метаболитов, как глиоксилат, оксалоацетат, цитрат и 2-оксоглутарат. Результаты проведенных экспериментов суммированы в таблице 1. Как видно из представленных данных, исследуемый фермент в равной степени ингибируется как глиоксилатом, так и оксалоацетатом. Степень ингибирования в обоих случаях при концентрации в среде ингибирующего агента, равной 0,1 мМ, составляла приблизительно 25%. Интересно отметить, что в случае их одновременного добавления в среду они оказывали синергическое действие. Ингибирование активности фермента в этом слу-

чае доходило до 64%. О наблюдаемом ингибировании НАДФ-ИДГ глиоксилатом и оксалоацетатом сообщается также в ряде работ [4].

Цитрат в концентрации 0,1 мМ ингибировал НАДФ-ИДГ плодов Ренет Симиренко и Антоновки всего лишь на 8% и 9%, соответственно.

Таблица 1

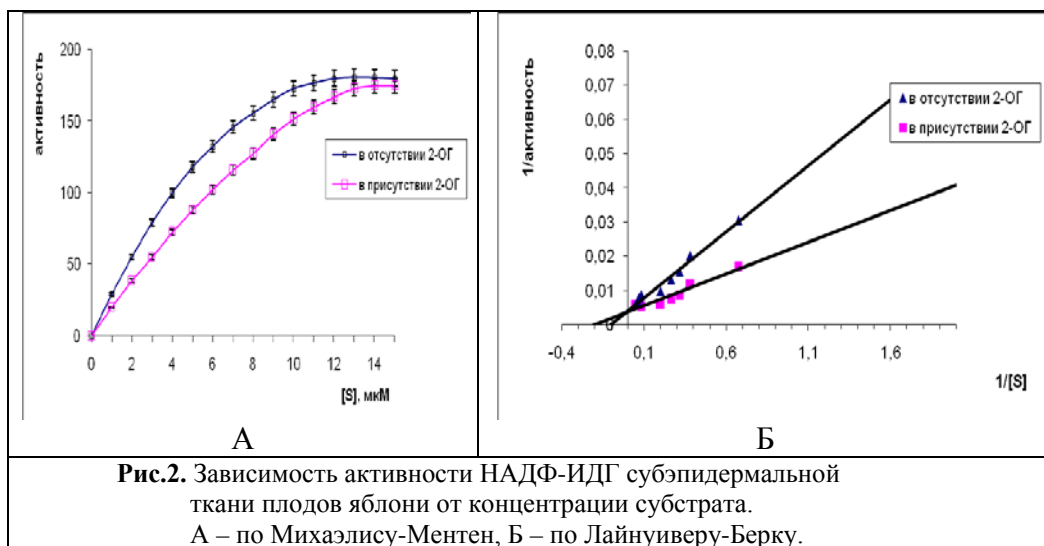
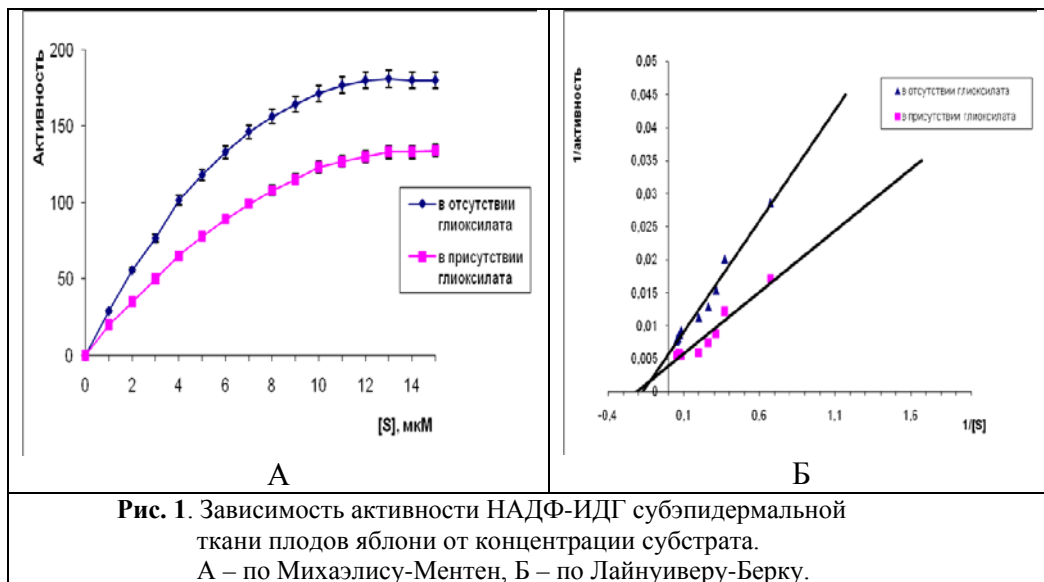
**Влияние некоторых метаболитов углеводного обмена на активность НАДФ-ИДГ плодов яблони**

Концентрация, мМ/л	Активность фермента, % от контроля							
	Ренет Симиренко				Антоновка			
	глиоксилат	ЩУК	цитрат	2-ОГ	глиоксилат	ЩУК	цитрат	2-ОГ
0,01	100±3,9	100±4,0	100±3,9	98±3,9	100±4,0	100±4,1	100±4,0	95±3,8
0,02	100±3,9	100±4,0	98±3,9	93±3,8	100±4,0	100±4,0	99±3,9	93±3,7
0,03	100±3,8	100±3,9	98±3,9	90±3,6	99±3,9	98±3,9	98±3,9	89±3,7
0,04	99±3,9	100±3,9	96±3,7	81±3,5	98±3,9	97±3,9	97±3,8	82±3,6
0,05	99±3,8	98±3,8	95±3,7	62±2,9	98±3,9	95±3,8	97±3,8	75±3,2
0,06	91±3,7	90±3,7	95±3,7	57±2,6	90±3,7	91±3,7	96±3,8	64±2,9
0,07	85±3,5	86±3,7	95±3,8	55±2,1	87±3,7	87±3,7	95±3,8	57±2,5
0,08	81±3,4	81±3,5	94±3,7	51±2,0	80±3,5	82±3,6	93±3,7	52±2,1
0,09	78±3,0	79±3,1	93±3,7	46±1,8	77±3,3	78±3,4	92±3,7	44±1,8
0,1	74±3,0	75±3,0	92±3,6	43±1,8	75±3,1	75±3,2	91±3,6	42±1,7

Поскольку в присутствии в среде глиоксилата существенно снижалось значение максимальной скорости ферментативной реакции, то мы пришли к такому заключению, что глиоксилат является неконкурентным ингибитором НАДФ-ИДГ плодов яблони (рис. 1). Однако имеются и сообщения, согласно которым глиоксилат и оксалоацетат не оказывали на данный фермент ингибирующего влияния [5].

Среди протестированных метаболитов углеводного обмена наиболее сильно выраженным ингибирующим эффектом на фермент характеризовался продукт катализируемой НАДФ-ИДГ реакции – 2-оксоглутарат. Активность НАДФ-ИДГ обоих сортов яблок под влиянием этого метаболита в концентрации 0,1 мМ снижалась более, чем на 55%. Поскольку результаты проведенных экспериментов показали, что 2-оксоглутарат, практически не оказывая влияния на значение максимальной скорости ферментативной реакции, приводил к повышению значения  $K_m$ , то было сделано заключение, что 2-оксоглутарат является конкурентным ингибитором НАДФ-ИДГ плодов яблони (рис.2).

Очевидно, ингибирование ферментативной активности 2-оксоглутаратом осуществляется посредством одного из универсальных механизмов регуляции активности ферментов, а именно по принципу обратной связи. Это может иметь важное значение с точки зрения регуляции азотного обмена, так как 2-оксоглутарат является предшественником глутаминовой кислоты и основным акцептором азота в реакциях переаминирования.



Таким образом, в результате проведенных экспериментов нами было установлено, что различные метаболиты ряда путей обмена углеводов, в частности, глиоксилатного цикла и цикла лимонной кислоты, оказывают влияние на активность НАДФ-ИДГ плодов яблони, а это может играть немаловажную роль в регуляции активности НАДФ-ИДГ и служить доказательством того, что исследуемый нами фермент функционирует в точке пересечения вышеуказанных метаболических путей.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Омарова С.Н., Омаров Я.А., Мамедов З.М., Кулиев А.А. Динамика изменения кинетических характеристик НАДФ-зависимой изоцитратдегидрогеназы при созревании плодов яблони // Сельскохозяйственная биология, 2011, № 1, с.98-103.
2. Abiko T., Obara M., Ushioda A. et al. Localization of NADP-isocitrate dehydrogenase and glutamate dehydrogenase in rice roots: candidates for providing carbon skeletons to NADH-glutamate synthase // Plant Cell Physiol., 2005, v. 46, p.1724-1734.
3. Aubert S., Bligny R., Douce R. et al. Contribution of glutamate dehydrogenase to mitochondrial glutamate metabolism studied by  $^{13}\text{C}$  and  $^{31}\text{P}$  nuclear magnetic resonance // J.Exp.Bot., 2001, v. 52, p. 37-45.
4. Fernie A., Carrari F., Sweetlove L. Respiratory metabolism: glycolysis, the TCA cycle and mitochondrial electron transport chain // Curr. Opin. Plant Biol., 2004, No 7, p.254-261.
5. Hodges M. Enzyme redundancy and the importance of 2-oxoglutarate in plant ammonium assimilation // Enzyme J. Exp. Bot., 2002, v. 53, No 370, p. 905-916.
6. Inoue H., Tamura T., Ehara N. et al. Biochemical and molecular characterization of the NADP-dependent isocitrate dehydrogenase from the chemolithotroph *Acidithiobacillus thiooxidans* // FEMS Microbiol. Let., 2002, v.214, p.127-132.
7. Kamzolova S., Finogenova T., Morgunov I. Microbiological production of citric and isocitric acids from sunflower oil // Food Technol. Biotechnol., 2008, v.46, No 1, p.51-59.
8. Marino D., Gonzalez E., Frendo P. et al. NADPH recycling systems in oxidative stressed pea nodules: a key role for the NADP<sup>+</sup>-dependent isocitrate dehydrogenase // Planta, 2002, v.225, No 2, p.413-421.
9. Yang B., Zhong C., Peng Y. et al. Molecular mechanisms of “off-on switch” of activities of human IDH1 by tumor-associated mutation R132H // Cell Research, 2010, v.20, p. 1188-1200.
10. Zheng J., Jia Z. Structure of the bifunctional isocitrate dehydrogenase kinase/phosphatase // Nature, 2010, v.465, p.961-965.

## ALMA MEYVƏLƏRİNDƏN ALINMIŞ NADF-ASILI İZOSİTRATDEHİDROGENAZANIN FƏALLIĞINA KARBOHİDRAT MÜBADİLƏSİNİN BƏZİ METABOLİTLƏRİNİN TƏSİRİ

S.N.ÖMƏROVA, Y.A.ÖMƏROV, Z.A.TAĞIZADƏ, A.Ə.QULİYEV

### XÜLASƏ

Alma meyvələrindən alınmış NADF-asılı izositratdehidrogenazanın (NADF-İDH) fəallığına karbohidratlar mübadiləsinin bəzi metabolitlərinin təsiri öyrənilmişdir. Müəyyən edilmişdir ki, fermentə qarşı ən güclü inhibirləşdirici effekt ilə (55%-dən artıq) onun rəqabətli inhibitoru olan 2-oksoqlutarat xarakterizə olunur. Qlioksilat NADF-İDH-nın qeyri-rəqabətli inhibitoru qismində çıxış edir. Tədqiq edilən ferment qlioksilat və oksaloasetatla eyni dərəcədə inhibirləşir, lakin onların mühitə eyni zamanda əlavə olunması nəticəsində sinergik təsir müşahidə olunur.

**Açar sözlər:** NADP-asılı izositratdehidrogenaza, alma meyvələri, inhibitorlar, qlioksilat, 2-oksoqlutarat, karbohidrat mübadiləsi.

**THE EFFECT OF SOME METABOLITES OF CARBOHYDRATE  
METABOLISM ON THE ACTIVITY OF THE NADP-DEPENDENT  
ISOCITRATE DEHYDROGENASE OF APPLES**

**S.N.OMAROVA, Y.A.OMAROV, Z.A.TAGHIZADEH, A.A.GULIYEV**

**SUMMARY**

The paper studies the influence on the activity of NADP-dependent isocitrate dehydrogenase (NADP-IDH) apple fruits of several metabolites of carbohydrate metabolism. It was investigated that 2-oxoglutarate is a competitive inhibitor of the enzyme and is characterized by strong inhibitory effect on the enzyme activity (more than 55%). Glyoxylate is a non-competitive inhibitor of NADP-IDH. The enzyme was equally inhibited by both glyoxylate and oxaloacetate, and in the case of simultaneous addition of these metabolites they have a synergistic effect on the NADP-IDH.

**Key words:** NAD-H-dependent isocitrate dehydrogenase, apples, inhibitors, glyoxylate, 2- oxaloacetate, carbohydrate metabolism.

*Поступила в редакцию: 05.12.2012 г.*

*Подписано к печати: 14.02.2013 г.*