



УДК 547.466+541.64

ОБРАЗОВАНИЕ ПОЛИМЕРНОЙ СУБСТАНЦИИ С АКТИВНОСТЬЮ ГЛИЦИНДЕЗАМИНАЗЫ ПРИ УФ-ОБЛУЧЕНИИ РАСТВОРОВ АМИНОКИСЛОТ

© 1996 г. И. В. Баскаков, В. Л. Воейков*#

*Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва;*** Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет,
119899, Москва, Воробьевы горы*

Поступила в редакцию 24.04.95 г.

С использованием хроматографии на гидроксипатите и СМ-Тоуреарл показано, что после кратковременного облучения источником сверхслабого УФ-излучения водных растворов смеси аминокислот (Gly, L-Arg и L-Leu или Gly, L-Lys и L-Leu) в них образуются продукты с сорбционными свойствами, характерными для полимеров. Аналогичное облучение водного раствора глицина также вызывает образование в растворе субстанции, которая после концентрирования ультрафильтрацией на Amicon UM2 и обессоливания гель-фильтрацией на сефадексе G-10 проявляет активность дезаминазы при введении в свежеприготовленный раствор глицина.

Ключевые слова: дезаминирование, аммиак, реакция поликонденсации, сверхслабый УФ-свет.

В 30-х годах А.Г. Гурвич и Л.Д. Гурвич сообщили о возможности образования полимера пептидной природы при комнатной температуре в водных растворах аминокислот после кратковременного их облучения источником УФ-излучения сверхнизкой интенсивности (порядка 1 фотон/(с м²)) [1]. На пептидную природу указывал факт протеолиза субстанции под действием протеиназ желудочного сока. С использованием разработанного Гурвичем и Франком уникального "митогенетического спектрального анализа" [2] были получены свидетельства того, что образующаяся макромолекулярная субстанция способна к катализу окислительного дезаминирования аминокислот и к авторепродукции. Полимеры проявляли эти два вида активности вне зависимости от того, раствор какой аминокислоты использовался. Однако выход субстанции и ее каталитическая активность были чрезвычайно низки [3]. В литературе нет данных о воспроизведении этих работ Гурвича с использованием обычных химико-аналитических методов. Исключение составляет опубликованное в ведомственном сборнике исследование Кузина и Поляковой [4], в которой применялись стандартные биохимические методы и где основные выводы Гурвича были полностью подтверждены. С другой стороны, известно, что при температурах выше 100°C возможно протекание реакции поликонденсации аминокислот [5]. При этом наблюдается образование полипептидов с час-

точно упорядоченной структурой [6]. Однако механизм процесса, описанного Гурвичем, по-видимому, принципиально отличается от механизма термической поликонденсации, поскольку после инициации УФ-облучением процесс в растворе аминокислот протекает самопроизвольно.

В настоящей работе приводятся новые свидетельства того, что, во-первых, в водном растворе аминокислот* (Gly, Arg и Leu или Gly, Lys и Leu) при 18 - 20°C возможно образование продуктов, сравнимых по сорбционным свойствам с биополимерами; во-вторых, в растворе глицина образуется субстанция с молекулярной массой > 1 кДа, способная катализировать дезаминирование глицина. Поскольку, по данным Гурвича, образующаяся субстанция макромолекулярна и накапливается в реакционной смеси в незначительных количествах, для извлечения субстанции из раствора нами был выбран гидроксипатит, который сорбирует биополимеры довольно широкого спектра, например кислые и основные белки, но практически не удерживает незаряженные макромолекулы, а также короткие пептиды и аминокислоты [7]. В состав раствора помимо Gly (130 мМ) вводили основную аминокислоту Arg (10 мМ), Leu (6 мМ) и радиоактивно меченный D,L-[1-¹⁴C]Leu (3 мкМ). По меченому лейцину проводили детекцию продукта. Концентрация Gly была выбрана в соответствии с работами Гурвича, который использовал 1 - 2% растворы аминокислот. После

Автор для переписки.

* Где не указано особо, аминокислоты L-ряда.

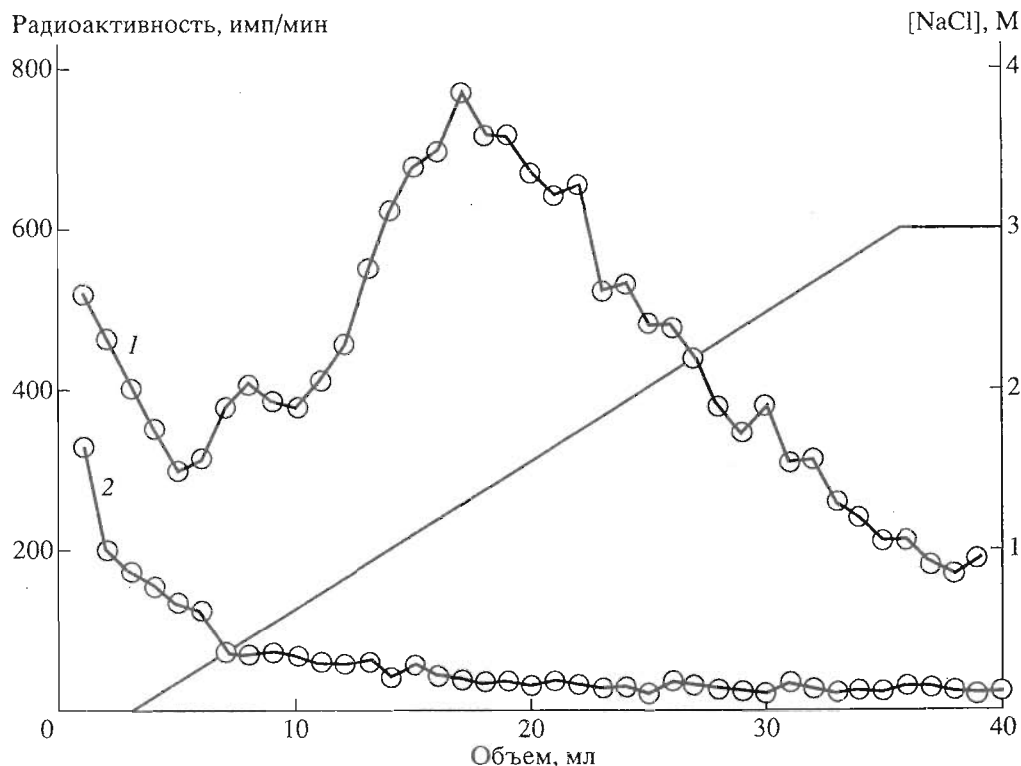


Рис. 1. Хроматография продуктов поликонденсации (90 мин после УФ-инициации) смеси аминокислот на гидроксиапатите. Состав исходной смеси: 1 – Gly, Arg, Leu, D,L-[1-¹⁴C]Leu; 2 – то же без аргинина. Элюцию вели 5 мМ Na-фосфатным буфером (рН 7.0) в линейном градиенте концентрации NaCl (0 – 3 М). Скорость элюции 0.3 мл/мин (см. “Экспериментальную часть”).

приготовления раствор аминокислот облучали сверхслабым УФ-светом в течение 1 мин и затем сразу или спустя 30, 60 и 90 мин после облучения к нему добавляли гидроксиапатит. Результаты всех экспериментов (табл. 1) показывают достоверное увеличение сорбции радиоактивной метки с увеличением продолжительности инкубации смеси аминокислот, хотя следует отметить, что от опыта к опыту, которые проводились в идентичных условиях и с использованием одних и тех же реагентов, наблюдаются значительные вариации как в контроле, так и в облученных образцах. Наиболее вероятное объяснение этого факта заключается в том, что в состав образующейся субстанции включается как меченый [¹⁴C]лейцин, так и немеченый аргинин, но при этом скорость образования продукта и его выход зависят от мало контролируемых факторов. Включенный в полимер аргинин придает ему основные свойства, повышающие способность продукта сорбироваться на гидроксиапатите.

Для оценки сорбционных свойств продукта была проведена его градиентная элюция с гидроксиапатита (рис. 1). Из хроматограммы (кривая 1) видно, что максимум радиоактивности детектируется в пробах при концентрации NaCl около 1 М. Для сравнения, например, такие основные белки,

как гистоны H1 и H5, снимаются 0.63 М NaCl в К-фосфатном буфере (0.1 М, рН 6.7), H2A и H2B – 0.93 М NaCl в том же буфере, а гистоны H3 и H4 – 2 М NaCl [8]. Чтобы выяснить, действительно ли сорбция радиоактивной метки обусловлена основным характером продукта, по той же схеме был проведен эксперимент с раствором, не содержащим аргинина. Из кривой 2 (рис. 1) следует,

Таблица 1. Сорбция* на гидроксиапатите ¹⁴C в зависимости от времени инкубации реакционной пробы после УФ-облучения

Номер опыта	Радиоактивность, 10 ⁴ имп/мин (% от контроля)			
	Время инкубации, мин			
	0	30	60	90
1	1.28 (100)	1.63 (123)	1.54 (120)	1.67 (130)
2	1.77 (100)	2.56 (145)	2.69 (152)	3.77 (212)
3	1.26 (100)	1.53 (121)	2.12 (160)	2.30 (182)
4	1.03 (100)	1.85 (179)	2.22 (215)	
Среднее, %	100	142 ± 26	161 ± 39	174 ± 41

* Время сорбции для всех проб было одинаковым и составляло 15 мин.

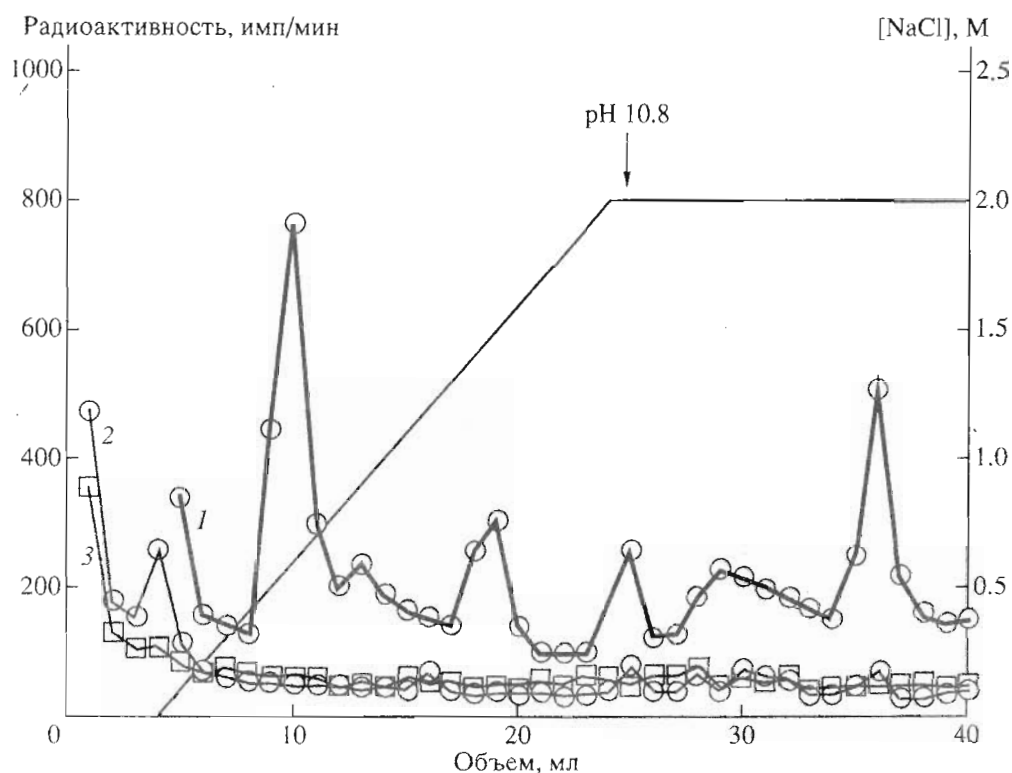


Рис. 2. Ионообменная хроматография продуктов поликонденсации (90 мин после УФ-инициации) на колонке (10×20 мм) CM-Toyorearl. Состав исходной смеси: 1 – 70 мМ Gly, 10 мМ Lys, 6 мМ Leu, 3 мкМ D,L -[1- 14 C]Leu; 2 – то же без лизина; 3 – рехроматография элюата образца 2 после внесения в него лизина до концентрации 10 мМ и УФ-инициации (условия элюции см. “Экспериментальную часть”).

что если в отсутствие основной аминокислоты и происходит образование продукта, содержащего радиоактивную метку, то он очень слабо сорбируется на гидроксиапатите. Тем не менее нельзя исключить, что во втором образце также произошло образование субстанции, но с заметно худшими сорбционными свойствами. Сравнение двух хроматограмм свидетельствует, что детекцию радиоактивности при хроматографии образца, содержащего аргинин, нельзя объяснить сорбционными свойствами D,L -[1- 14 C]лейцина как отдельной молекулы.

Чтобы оценить количество образовавшегося продукта, было сделано допущение, что все аминокислоты включаются в продукт пропорционально их молярной концентрации в растворе. В этом случае верхний предел содержания продукта, образующегося в 50 мл раствора, составил бы около 4 мкг (см. “Экспериментальную часть”). Нельзя исключить, что, если процесс носит избирательный по отношению к отдельной аминокислоте характер, эта величина будет несколько иной. Таким образом, сорбция на гидроксиапатите 14 C-меченой субстанции наблюдается, лишь если в исходном растворе присутствует и аминокислота с основными свойствами. Исследуемая субстанция элюируется в широком диапазоне концентраций

соли. Эти данные позволяют предположить, что в исследуемом растворе аминокислот происходит образование полимеров.

Грубая оценка показывает, что в сорбируемый на гидроксиапатите продукт включаются из раствора не более чем 0.002% (в мольном отношении) аминокислот. Как известно, многоточечный характер связывания с сорбентом, свойственный полимерным молекулам, на несколько порядков увеличивает сродство полимера к сорбенту по сравнению с мономерными молекулами, входящими в его состав. Поэтому для проверки предположения о включении в состав полимера заряженной аминокислоты в качестве второго сорбента, характеризующегося высокой селективностью по отношению к заряженным полимерам по сравнению с заряженными мономерами, был использован ионообменник CM-Toyorearl (рис. 2). Раствор аминокислот, используемый для опыта, содержал глицин, лизин, лейцин и D,L -[1- 14 C]лейцин (кривая 1). Контрольный раствор не содержал лизина (кривая 2).

Условия проведения реакции были аналогичны предыдущим экспериментам. После нанесения на сорбент реакционной смеси колонку промывали Na-карбонатным буфером, pH 9.2. В этих условиях лейцин (pI 6.04) имеет суммарный отрицательный

заряд. Однако поскольку аминогруппа лейцина имеет значение pK_a 9.74, то некоторая, хотя и очень небольшая, часть его молекул не несет отрицательного заряда и может слабо сорбироваться на неподвижной фазе. Возможно, поэтому в момент подачи градиента появляется пик (кривые 1 и 2, рис. 2) или небольшое плечо (кривая 3, рис. 2), соответствующие *D,L*-[1- 14 C]лейцину, остающемуся на смоле после ее предварительной промывки Na-карбонатным буфером (pH 9.2). При хроматографии образца, содержавшего в инкубационной смеси после облучения полный набор аминокислот (включая лизин), с повышением в элюенте концентрации соли наблюдается элюция хорошо разделяемых продуктов реакции (рис. 2). Элюция радиоактивно меченной субстанции продолжается даже после повышения pH до 10.8 в 2 М NaCl. Напротив, при хроматографии образца, не содержавшего при инкубации лизин, достоверных пиков радиоактивности не наблюдается ни при повышении концентрации соли, ни при последующем повышении значения pH элюента (кривая 2, рис. 2).

Таким образом, радиоактивные продукты, образующиеся в образце, содержащем лизин, и столь прочно связывающиеся с CM-Toyorearl, должны иметь в своем составе как минимум несколько положительно заряженных группировок при значениях pH до 10.8. Учитывая, что pK_a ϵ -аминогруппы лизина равна 10.54, исследуемая субстанция помимо глицина и радиоактивного *D,L*-[1- 14 C]лейцина содержит остатки лизина.

При хроматографическом разделении опытных образцов, которые содержали аргинин вместо лизина, элюцию некоторых продуктов реакции удавалось осуществить только в 3 М NaCl при pH 13.0 (данные не представлены). Такими сильными сорбционными свойствами должна обладать субстанция, имеющая в своем составе несколько гуанидиновых группировок (pK_a 12.48).

По данным А.Г. Гурвича и Л.Д. Гурвич, концентрация полимера в растворе остается на очень низком уровне даже при больших концентрациях свободных аминокислот. Но реакция возобновляется, если к реакционной смеси добавить свежий раствор аминокислот либо перенести аликвоту реакционного раствора в свежеприготовленный раствор аминокислот, т.е. понизить концентрацию полимера [3]. Значит, фактором, тормозящим процесс накопления продукта, является именно концентрация самого продукта. Для проверки этих данных Гурвича в элюат, полученный после нанесения на CM-Toyorearl образца, в котором лизин изначально отсутствовал (образец 2, рис. 2) и в котором не произошло образования радиоактивно меченного продукта с основными свойствами, добавили лизин до концентрации 10 мМ. Концентрация остальных аминокислот в элюате не

изменилась по сравнению с первоначальной. После облучения и стандартной инкубации этого раствора его вновь подвергли хроматографии на CM-Toyorearl. Как следует из рис. 2 (кривая 3), в этих условиях не происходит образования продукта, содержащего в своем составе одновременно радиоактивную метку и основную аминокислоту. Эти данные свидетельствуют, во-первых, что пики на хроматограммах опытного образца 1 действительно отвечают продуктам реакции, способным к многоточечному связыванию с сорбентом, а не каким-либо сложным ассоциатам отдельных аминокислот, а во-вторых, что процесс образования этих продуктов останавливается при очень низкой их концентрации независимо от концентрации аминокислот в растворе.

В соответствии с данными А.Г. Гурвича полимерная субстанция обладает каталитической активностью дезаминазы по отношению к аминокислотам [3]. Этот факт представляет особый интерес и нуждается в дальнейшей проверке. Как нами уже сообщалось в предыдущей работе [9], в 100 мМ растворе глицина в первые 30 мин после кратковременного облучения сверхслабым УФ-светом концентрация аммиака достоверно возрастает по сравнению с контролем без облучения. Абсолютные значения концентрации аммиака на 30-й мин после УФ-инициации соответствуют $(1 - 2) \times 10^{-5}$ М.

Чтобы выяснить, участвует ли в катализе окислительного дезаминирования аминокислот полимерная субстанция, образующаяся в облученном растворе аминокислот, использовали 190 мМ раствор глицина, очищенный от возможного микробиологического загрязнения и высокомолекулярных соединений последовательной фильтрацией через стерилизующий фильтр Millipore (0.22 мкм) и через фильтр Amicon UM2. Далее, спустя 1.5 ч после облучения сверхслабым УФ-светом, раствор подвергли ультрафильтрации на фильтре Amicon UM2. Раствор, содержащий субстанцию, не проходящую через поры фильтра (ретант), лиофилизовали и определяли в нем дезаминазную активность по накоплению аммиака (регистрируемого методом Несслера) в свежеприготовленном растворе 100 мМ глицина (25°C, pH 6.0). В качестве одного из контролей использовали раствор глицина (100 мМ), в который ретант не добавляли.

Другим контролем служил ретант, полученный из облученного 190 мМ раствора ϵ -аминокапроновой кислоты. Результаты представлены в виде разницы оптического поглощения, регистрируемого при определении аммиака в растворах глицина, в которые вносили ретанты, и в растворах глицина без ретантов (перевод в абсолютные значения концентрации аммиака был бы некорректным вследствие того, что полученные значения

Таблица 2. Изменение оптического поглощения по сравнению с контрольными образцами, регистрируемое при определении аммиака в растворе Gly после добавления ретанта (см. "Экспериментальную часть")

Время, ч	Изменение оптического поглощения (A_{405})	
	Ретант ϵ -аминокапроновой кислоты	Ретант Gly
0	0.002 ± 0.005	0.005 ± 0.003
1.5	0.000 ± 0.004	0.013 ± 0.010
3	-0.001 ± 0.006	0.025 ± 0.013

оптического поглощения близки к пределу чувствительности метода и соответствуют нелинейной части калибровочной кривой) (табл. 2). В случае, когда использовался ретант из облученного раствора глицина, в тест-системе наблюдался очень небольшой, но достоверный прирост аммиака.

Прирост аммиака за 3 ч составил не более 50 нмоль в 1 мл. Пересчет на удельную активность катализатора с использованием сделанной выше оценки количества нарабатываемой субстанции (4 мкг) дает значение 0.07 ед. акт./мг (при 25°C, pH 6.0, глицин – субстрат). Эта величина на два порядка ниже удельной активности некоторых известных оксидаз аминокислот. Например, коммерческий препарат оксидазы *L*-аминокислот из яда змеи *Crotalus durissus* (КФ 1.4.3.2, Boehringer-Mannheim GmbH) имеет удельную активность 7 ед. акт./мг (25°C, pH 6, *L*-Leu – субстрат).

Таким образом, в результате ультрафильтрации на мембране UM2 была получена фракция, обладающая способностью катализировать дезаминирование глицина, хотя и с очень низкой

удельной активностью. Учитывая, что процесс дезаминирования проходил в присутствии кислорода (более того, дезаминирование глицина без его окисления невозможно), полученная субстанция, вероятнее всего, обладает активностью оксидазы глицина.

Вследствие того что в ретанте, полученном при фракционировании на мембране UM2, все же остается некоторое количество аминокислоты, результаты предыдущего эксперимента не могут интерпретироваться однозначно. Поэтому следующий этап фракционирования состоял в хроматографии ретанта на колонке с сефадексом G-10 (рис. 3а). Фракции, полученные после гель-фильтрации, лиофилизировали и тестировали на дезаминазную активность, как описано в предыдущем эксперименте (рис. 3б). Достоверный прирост аммиака вызывают фракции 10, 11, которые соответствуют веществу, выходящему в свободном объеме колонки. Процедура фракционирования посредством ультрафильтрации и последующей гель-фильтрации была проделана для 9 образцов. В 6 случаях тест на окислительное дезаминирование выявил достоверные отличия фракций, выходящих в свободном объеме при фракционировании на сефадексе, от остальных фракций. В 3 случаях разница была недостоверной.

Полученные данные позволяют сделать вывод, что в водном растворе аминокислот после кратковременного облучения сверхслабым УФ-светом образуется субстанция с характерными для биополимеров сорбционными свойствами по отношению к гидроксипатиту и ионообменной смоле. В растворе глицина образуется субстанция с мол. массой >1 кДа, обладающая активностью оксидазы аминокислот. Аналогичная дезаминазная

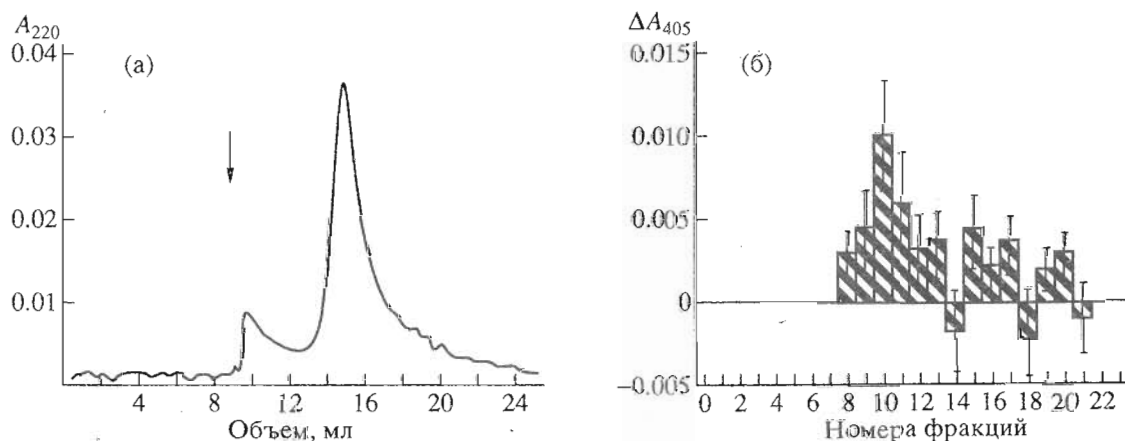


Рис. 3. Гель-фильтрация лиофилизованного после ультрафильтрации на UM2 ретанта. Колонка (10 × 350 мм) с сефадексом G-10, подвижная фаза – 0.1 M NaCl, скорость элюции 0.36 мл/мин. Стрелкой указан свободный объем (а). Результаты теста на окислительное дезаминирование фракций после гель-фильтрации, полученные путем определения аммиака по Несслеру и представленные в виде разницы оптического поглощения, регистрируемого в пробе в момент добавления фракций в раствор Gly и по прошествии 3 ч (б).

каталитическая активность была обнаружена при исследовании свойств полипептидов, образующихся при температурах $>100^{\circ}\text{C}$ [10]. В работе [11] приводятся данные о том, что реакция поликонденсации протекает в водном растворе аминокислот также при воздействии низкочастотного электромагнитного поля. Авторы высказывают предположение, что в процессе реакции образуется высокомолекулярный продукт полипептидной природы с выходом около 12%.

Результаты нашей работы подтверждают возможность образования полимерных субстанций. Однако чрезвычайно низкая каталитическая активность, близкая к пределу чувствительности метода определения аммиака, ограничивает использование одной и той же фракции, получаемой на стадии ультрафильтрации. Кроме того, в дальнейших экспериментах с использованием ВЭЖХ и электрофореза в денатурирующих условиях было показано, что стабильность образующейся субстанции очень низка. Это накладывает существенные ограничения при использовании стандартных физико-химических методов, разработанных для выделения и очистки полимеров биологического происхождения. Поэтому прогресс в изучении структуры продуктов реакции будет возможен с оптимизацией условий обработки продукта и разработкой специальных методов выделения, учитывающих специфику исследуемого процесса.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовались следующие реактивы: Gly (ICN, analytical grade, США), L-Lys, L-Arg (Merck, analytical grade, ФРГ), D,L-[1- ^{14}C]Leu (1890 ГБк/моль, г. Обнинск), H_2O_2 (х. ч., "Реахим"), NaCl, ацетат натрия, реактив Несслера (Sigma, США), сцинтиллятор Supersolve X (Koch-Light Ltd, Англия), Bio-Gel HTP (Bio-Rad, США), CM-Toyopearl (Toyo Soda, Япония). Другие реактивы отечественного производства имели квалификацию х. ч. или ос. ч.

Сорбция на гидроксипатите проводилась в растворе при перемешивании на шейкере (по типу batch wise) в Na-фосфатном буфере (1 мМ, pH 7.0) в объеме 50 мл из расчета 4 мг сухого сорбента на 1 мл раствора в течение 15 мин. Затем сорбент промывался на бумажном фильтре Whatman 3MM 10 \times 3 мл Na-фосфатного буфера (1 мМ, pH 7.0) и высушивался в сушильном шкафу при 60°C до постоянной массы. Сухой сорбент помещался в сцинтилляционную смесь (5 мл). Радиоактивность регистрировалась в жидкостном сцинтилляционном счетчике Rack-Beta 1217 (ЛКВ, Швеция).

Элюцию с гидроксипатита проводили в микроколонке (10 \times 13 мм) с объемом сорбента 1 мл. Сорбент промывали 20 мл Na-фосфатного буфе-

ра (5 мМ, pH 7.0). Элюцию вели градиентом концентрации NaCl от 0 до 3 М в указанном буфере со скоростью 0.33 мл/мин. К собранным фракциям объемом 1 мл добавляли сцинтиллятор (9 мл) и регистрировали радиоактивность.

Хроматографию на CM-Toyopearl проводили на колонке размером 10 \times 20 мм. Сорбент (Na-форма) уравнивали буфером Na_2CO_3 - NaHCO_3 (50 мМ, pH 9.2). Нанесение образца осуществляли в течение 12 ч методом рециркуляции. Затем сорбент промывали 21 мл буфера Na_2CO_3 - NaHCO_3 (50 мМ, pH 9.2). Элюцию вели градиентом NaCl от 0 до 2 М в указанном буфере, а после достижения 2 М концентрации соли – буфером Na_2CO_3 - NaHCO_3 (50 мМ, pH 10.8) при сохранении постоянной ионной силы. Скорость потока составляла 0.3 мл/мин. Фракции просчитывали на радиоактивность, как указано выше.

Растворы аминокислот готовили непосредственно перед экспериментом в темной комнате при слабом красном свете. Сухую навеску аминокислоты растворяли в дистиллированной воде, раствор пропускали через стерильный микробиологический фильтр Millex-GV 0.22 мкм (Millipore, США), а затем подвергали ультрафильтрации сквозь мембрану UM2 (предел исключения 1 кДа) (Amicon, США) под давлением азота.

Фракционирование по молекулярной массе осуществляли с использованием ультрафильтрации на мембране UM2. В процессе ультрафильтрации раствор разбавляли водой Milli-Q (Millipore, США). Реагент лиофилизировали. Высушенный образец растворяли в 0.1 М NaCl и фракционировали геле-фильтрацией на сефадексе G-10 (Sigma, США) в 0.1 М NaCl на колонке (10 \times 350 мм) при скорости потока 0.36 мл/мин. Детекцию осуществляли спектрофотометрически по поглощению при 220 нм с использованием Spectrochrom M (Gilson, США).

Источником сверхслабого УФ-излучения служила химическая реакция окисления двухвалентного иона железа: 1 М H_2O_2 , 100 мкМ FeSO_4 . Реакцию проводили в объеме 3 мл в кварцевой кювете с использованием дистиллированной воды. Интенсивность излучения в УФ-области измеряли в сцинтилляционном счетчике радиоактивности Mark-2 (Nuclear-Chicago) в режиме счета одиночных фотонов в стеклянных и кварцевых флаконах. Разница в счете, соответствующая УФ-фотонам (длина волны менее 320 нм), составляла 100 - 1000 имп./с см^2 . Кварцевую кювету устанавливали на расстоянии 5 см от поверхности раствора аминокислоты и облучение проводили в течение 1 мин при рассеянном дневном освещении.

Тест на окислительное дезаминирование проводили в объеме 1 мл в 100 мМ Gly, pH 6 (25°C). К раствору Gly добавляли исследуемую фракцию

(лиофилизованную и перерастворенную в 100 мкл воды) и определяли накопление аммиака через 1.5 и 3 ч по методу Несслера. По 20 мкл образца помещали в лунки полипропиленовых плашек для иммуноферментного анализа с плоским дном, добавляли 360 мкл воды и 20 мкл реагента Несслера. По прошествии 10 мин измеряли оптическое поглощение при 405 нм на приборе Microelisa Autoreader MR 580 (Dynatech, США). Воспроизводимость результатов при повторных считываниях поглощения в одних и тех же пробах была не ниже 0.002 ОЕ. Все процедуры осуществляли, используя воду, очищенную в системе Milli-Q. Средние значения и квадратичные отклонения определяли из шести повторностей (табл. 2).

Авторы выражают благодарность К. Кафкалиасу (МГУ) за помощь в проведении экспериментов и Ф.-А. Поппу (Международный институт биофизики, Кайзерслаутерн, Германия) за любезно предоставленные реактивы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Gurwitsch A.G., Gurwitsch L.D. // *Enzymologia*. 1938. V. 5. P. 17 - 25.
2. Gurwitsch A.G., Frank G.M. // *Compt. Rend. Acad. Sci.* 1927. V. 184. P. 903 - 904.
3. Гурвич А.Г., Гурвич Л.Д. Митогенетическое излучение, физико-химические основы и приложения в биологии и медицине. М.: Медгиз, 1945. С. 32 - 56.
4. Кузин А.М., Полякова О.И. // Сборник работ по митогенезу и теории биологического поля / Ред. А.Г. Гурвич. М.: Изд. АМН СССР, 1947. С. 54 - 64.
5. Фокс С., Доде К. Молекулярная эволюция и возникновение жизни. М.: Мир, 1975. С. 153 - 193.
6. Fox S.W., Harada K. // *Science*. 1958. V. 128. P. 1214.
7. Остерман Л.А. Хроматография белков и нуклеиновых кислот. М.: Наука, 1985. С. 225 - 236.
8. Simon R.H., Felsenfeld G. // *Nucleic Acids Res.* 1979. V. 6. P. 689 - 696.
9. Воейков В.Л., Баскаков И.В., Кафкалиас К., Налетов В.И. // *Биоорганическая химия*. 1996. Т. 22. С. 39 - 47.
10. Krampiz G., Haas W., Vaars-Diehl S. // *Naturwissenschaften*. 1968. V. 55. P. 345.
11. Новиков В.В. // *Биофизика*. 1994. Т. 39. С. 825 - 830.

Formation of a Polymer with the Activity of Glycine Deaminase upon UV Irradiation of Solutions of Amino Acids

I. V. Baskakov* and V. L. Voeikov**¹

* *Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, ul. Miklukho-Maklaya 16/10, Moscow, GSP-7, 117871, Russia*

** *Moscow State University, Biological Faculty, Vorob'evy Gory, Moscow, GSP-1, 119899 Russia*

Abstract—By chromatography on hydroxylapatite and CM-Toyopearl, it was shown that, after short irradiation of aqueous solutions of a mixture of amino acids (glycine, *L*-arginine, and *L*-leucine or glycine, *L*-lysine, and *L*-leucine) by ultraweak UV light, products with the adsorption characteristics of polymers are formed. Similar irradiation of the aqueous solution of glycine also resulted in the formation of a substance which, after being concentrated by ultrafiltration on Amicon UM2 and desalted by gel filtration on Sephadex G-10, exhibits deaminase activity upon addition to a freshly prepared solution of glycine.

Key words: deamination, ammonia, reaction of polycondensation, ultraweak UV irradiation.

¹ To whom correspondence should be addressed.