

BADANIA NAD BIOCHEMICZNYMI FUNKCJAMI „AKTYWNEJ METIONINY“ I JEJ ANALOGÓW

J. SKUPIN

Katedra Technologii Rolnej, WSR, Poznań

Dotychczasowe badania nad biologiczną rolą tak zwanej „aktywnej metioniny” czyli (-)S-(5'-dezoksyadenozyno-5')-L-metioniny wykazały, że związek ten jest potencjalnym donatorem grupy metylowej w różnych reakcjach enzymatycznych określanym mianem transmetylacji (5). Stwierdzono również, że związek ten, zwany w skrócie S-adenozyl-L-metioniną jest stymulatorem wzrostu różnych mikroorganizmów (4).

Badania przeprowadzone w naszym laboratorium wykazały, że S-adenozyl-L-metionina wyraźnie podnosi wydajność biosyntezy korynoidów u *Propionibacterium shermanii* (3). Analogicznie prowadzona biosynteza korynoidów z dodatkiem L-metioniny charakteryzowała się znacznie niższą wydajnością aniżeli w wypadku wzbogacenia środowiska w „aktywną metioninę”. Doświadczenia te potwierdziły konieczność enzymatycznej aktywacji L-metioniny, której rezultatem jest właśnie utworzenie się połączenia sulfoniowego: (-)S-(5'-dezoksyadenozyno-5')-L-metioniny, dysponującego labilną grupą metylową. Nietrwałość struktury „aktywnej metioniny” potwierdzona została w naszym laboratorium w ramach podjętych prób nad opracowaniem nowej metody identyfikacji i ilościowego oznaczenia tego związku przy pomocy chromatografii kolumnowej, stosując żywicę jonowymienną Amberlite IR 120, według adaptowanej przez nas metody Moore'a i Stein'a (2, 6). Z uwagi na dużą labilność struktury sulfoniowej „aktywnej metioniny” okazało się konieczne uproszczenie i zmodyfikowanie metody Schlenka i współ. wyodrębnienia tego związku z drożdży *Saccharomyces cerevisiae* (1).

Wcześniejsze badania wykazały, że S-adenozyl-metionina otrzymana na drodze enzymatycznej z L-metioniny i ATP jest około 50% aktywniejszym czynnikiem transmetylującym od produktu syntezy chemicznej. Można to wytłumaczyć selektywnością enzymu „metyloferazy” wo-

bec określonej tylko formy diastereoizomerycznej S-adenozylometioniny. Jak wiadomo — produktem syntezy chemicznej jest racemat „aktywnej metioniny”. Akceptorem grupy metylowej w tych badaniach był amid kwasu nikotynowego. Z analogów „aktywnej metioniny” na szczególną uwagę zasługuje Se-(5'-dezoksyadenozyno-5')-selenometionina. Związek ten otrzymano na drodze biosyntezy z selenometioniny i ATP oraz po raz pierwszy syntezą chemiczną (7).

Syntetyczna tzw. aktywna selenometionina jest jednocześnie nukleozydem i aminokwasem, posiada strukturę selenoniową oraz wykazuje podobne własności fizyko-chemiczne do otrzymanej na drodze syntezy chemicznej i w warunkach enzymatycznych S-(5'-dezoksyadenozyno-5')-metioniny.

Se-metionina oraz jej forma aktywna spełniają metaboliczne funkcje swoich siarkowych analogów w reakcjach transmetylacji. Okazało się, że seleniowy analog „aktywnej metioniny” jest około 30% bardziej aktywnym donatorem grupy metylowej niż jej strukturalny analog sulfoniowy w enzymatycznej reakcji z udziałem amidu kwasu nikotynowego jako akceptora metylu (8). Ustalenie struktury chemicznej tzw. aktywnej selenometioniny oraz stwierdzenie aktywności transmetylującej może mieć doniosłe znaczenie w dalszych badaniach nad rolą selenometioniny jako czynnika wzrostowego, metabolizmem selenowych analogów aminokwasów siarkowych oraz biologicznymi funkcjami selenu jako głównego pierwiastka śladowego.

Jak wykazały badania prowadzone w naszym laboratorium, zarówno „aktywna metionina” (syntetyczna oraz otrzymana enzymatycznie) jak i jej analog seleniowy wykazują pewien potencjał metylujący również i w warunkach nieenzymatycznych. Akceptorami labilnej grupy metylowej mogą być aminokwasy sulfhydrylowe takie jak cysteina, homocysteina oraz glutation zredukowany. Reakcje te posiadają duże znaczenie w świetle powszechności występowania „aktywnej metioniny” i to zarówno w organizmach zwierzęcych, roślinnych jak i u mikroorganizmów oraz z uwagi na możliwość powstawania „bloków metabolicznych” w przemianach, w których wspomniane związki spełniają rolę aktywatorów. Stopień metylacji określono na drodze miareczkowania amperometrycznego oraz metodą spektrometryczną, natomiast produkty metylacji zidentyfikowano jakościowo i ilościowo metodą chromatografii bibułowej (wstępnie) oraz kolumnowej¹.

Stwierdzono również, że S-adenozylometionina oraz jej seleniowy analog są inhibitorami sulfhydrylowych enzymów proteolitycznych.

¹ Metylocysteinę oraz metyloglutation stosowane przy identyfikacji produktów metylacji otrzymano syntetycznie.

Zarówno papaina jak i proteaza bakteryjna oraz frakcje enzymów proteolitycznych wyodrębnione z pszenicy (po raz pierwszy) wykazywały znaczny spadek aktywności w wyniku inkubacji z „aktywną metioniną”. Przez zastosowanie odpowiedniego stężenia inhibitora uzyskano całkowitą, nieodwracalną inaktywację enzymów. Mechanizm tych reakcji podobny jest do działania na enzymy sulfhydrylowe takimi specyficznymi czynnikami blokującymi jak kwas jodooctowy, kwas p-chlorortęciowo-benzoowy, N-etylomaleimid itp. Dalsze badania nad kinetyką i mechanizmem tych reakcji obejmować będą zastosowanie znakowanej na węglu izotopowej metioniny.

PIŚMIENNICTWO

1. Janicki J., Skupin J., Kowalczyk J.: *Chemia Analit.* **7**, 1167 (1962).
2. Janicki J., Skupin J., Kowalczyk J., Gołąb Z.: *Roczniki WSR.* Poznań, **13**, 271 (1962).
3. Janicki J., Skupin J., Nowakowska K.: *Bull. de L'Acad. Polon. Sci.* Cl. V. — **11**, No. 1, 19 (1963).
4. Shapiro S. K.: *J. Bacteriol.* **83**, 169 (1962).
5. Shapiro S. K., Schlenk F.: *Advances in Enzymol.* **22**, 237 (1960).
6. Skupin J.: — dane niepublikowane.
7. Skupin J.: *Roczniki Chemii* **36**, 631 (1962).
8. Skupin J.: *Acta Biochimica Polonica*, **9**, 253 (1962).