



УДК 577.156

ВЫДЕЛЕНИЕ И НЕКОТОРЫЕ СВОЙСТВА КАТЕПТИЧЕСКОЙ
КАРБОКСИПЕПТИДАЗЫ А *

Дикчюте Р. А.

*Институт биологической и медицинской химии
Академии медицинских наук СССР, Москва*

Предложен относительно простой метод выделения высокоочищенной катептической карбоксипептидазы А из печени курицы. Дана физико-химическая характеристика этого фермента. Изучена специфичность, отношение к ингибиторам и активаторам. Установлено присутствие в молекуле фермента углеводного компонента. Сопоставление свойств катепсина А и катептической карбоксипептидазы А дало основание считать, что выделенный фермент отличается от катепсина А и существует в ткани наряду с ним.

В настоящее время известны две тканевые карбоксипептидазы — катепсин А и катептическая карбоксипептидаза А, расщепляющие один и тот же субстрат при разных значениях рН. Катепсин А по сравнению с катептической карбоксипептидазой А изучен более подробно. Разработаны достаточно эффективные методы его выделения из селезенки, мышц, печени [1, 2, 3], в то время как катептическая карбоксипептидаза А до сих пор не была получена в высокоочищенном состоянии. В Hg-этаноловой фракции селезенки быка [4], мозгу и селезенке человека [5], в лизосомах печени крысы [6] обнаружена активность этого фермента. Однако, так как свойства фермента изучали на недостаточно очищенных препаратах, вопрос о различиях катептической карбоксипептидазы А и катепсина А не был решен.

В статье сообщаются данные о новом методе получения катептической карбоксипептидазы А из печени и о некоторых свойствах этого фермента.

В качестве источника фермента использовали свежую ткань печени курицы, так как предварительная обработка печени ацетоном снижала активность препарата в 3—4 раза.

Степень очистки фермента примерно в 60 раз нельзя считать истинной, поскольку субстрат Z-Glu-Tyr не является специфическим и в исходном экстракте существует несколько пептидаз, обладающих аналогичной активностью (табл. 1).

Фракционирование сульфатом аммония оказалось более эффективным по сравнению с применявшимся нами ранее фракционированием органическими растворителями. Основная масса катептической карбоксипептидазы оставалась во фракции 0—40% насыщения солью; эта фракция лишь в малой степени расщепляет гемоглобин. На этой стадии очистки нам удалось частично отделить катептическую карбоксипептидазу от катепсина D, обычно сопутствующего этому ферменту.

* Сокращения: ПЭГ — полиэтиленгликоль; ТХУ — трихлоруксусная кислота; ПХМБ — *n*-хлормеркурибензоат; ЭДТА — этилендиаминтетрауксусная кислота; ДФФ — дивозпропилфторфосфат; ТФХК — тозилфенилаланилхлорметилкетон.

Очистка катептической карбоксипептидазы А из печени

Стадия очистки	Объем, мл	Количество белка		Удельная активность *, мкмоль тирозина/мг·ч ⁻¹	Суммарная активность	Степень очистки	Выход, %
		мг/мл	общее, мг				
Экстракт	600	20,5	12 300	0,30	3960		100
Фракция 0—40%-ного насыщения (NH ₄) ₂ SO ₄ после обессоливания	50	10,5	500	3,37	1685	11,2	45,7
после концентрирования в ПЭГ	6	57,8	347	3,35	1162	11,1	31,2
Гель-фильтрация через сефадекс G-150	28	1,3	36,4	10,0	364	33	9,8
Хроматография на СМ-целлюлозе	16	0,25	4,0	16,0	64	53	1,62
Гель-фильтрация через сефадекс G-150	10	0,21	2,1	17,6	37	58,7	0,93

* В качестве субстрата использовался Z-Glu-Tyr (см. «Экспериментальную часть»).

Несмотря на некоторую потерю белка, концентрирование диализом против ПЭГ дало хорошие результаты, так как при этом активность белка практически не изменялась. Другие методы концентрирования (лиофилизация, осаждение спиртом) были малопригодны.

На рис. 1 представлена кривая выхода белковых фракций при гель-фильтрации и распределение удельных активностей катепсинов В, С, D и катептической карбоксипептидазы. Активность по расщеплению Z-Glu-Tyr наблюдали в двух пиках (кривая 5). Для дальнейшей очистки отбирали фракцию (20—25), обладающую наибольшей активностью по расщеплению дипептида и практически не расщепляющую гемоглобин.

При выборе ионообменника для дальнейших исследований мы остановились на СМ-целлюлозе. Мы не могли использовать DEAE-целлюлозу из-за инактивации фермента положительно заряженными группами ионообменника и из-за неустойчивости белка в нейтральной области рН. На рис. 2 представлена кривая выхода фермента при хроматографии на СМ-целлюлозе. Как видно, активная фракция элюировалась 0,2 М раствором NaCl (1 пик). После повторной гель-фильтрации через сефадекс G-150 (рис. 3) был получен гомогенный препарат катептической карбоксипептидазы. При электрофорезе в полиакриламидном геле обнаружена только одна полоса.

Были изучены свойства полученного фермента. Фермент, инкубированный в 0,1 М ацетатном буфере с субстратом Z-Glu-Tyr при разных значениях рН, проявляет максимальную активность при рН 3,8. В 0,1 М растворе ацетатного буфера фермент в 2—3 раза активнее, чем в 0,1 М растворе цитратного буфера при тех же значениях рН.

Катептическая карбоксипептидаза является термолабильным белком. Активность фермента начинает понижаться при выдерживании его при 45° в течение 10 мин, фермент инактивируется на 90% при 60° в течение 10 мин. Изучая стабильность фермента в зависимости от рН среды, мы установили, что катептическая карбоксипептидаза устойчива в растворе при рН 3,0—6,5. В нейтральной и слабощелочной области рН фермент быстро инактивировался. В течение 1 ч в растворе рН 8,0 при комнатной

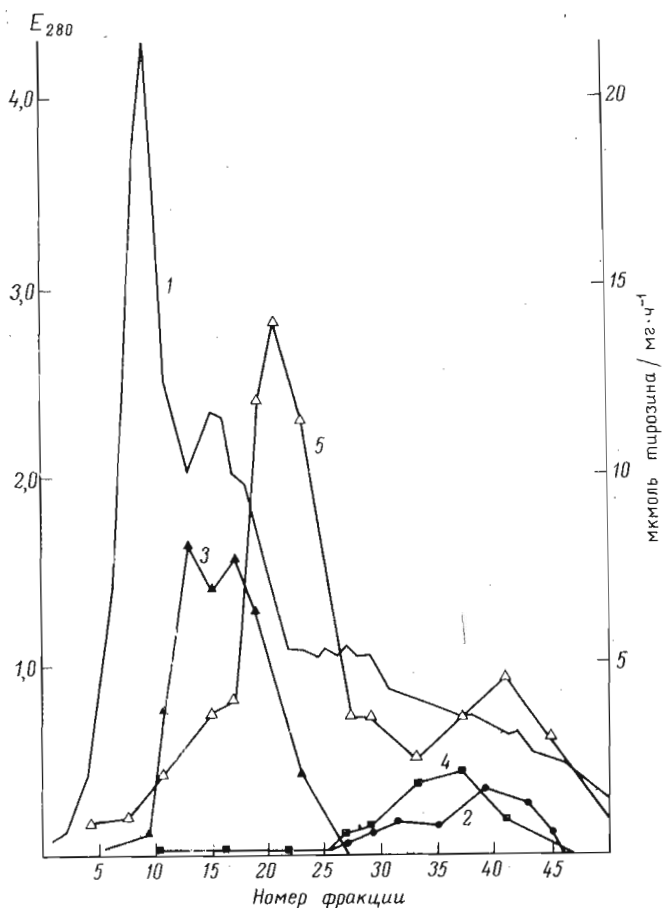


Рис. 1. Гель-фильтрация фракции 0–40% насыщения сульфатом аммония через сефадекс G-150 (объем каждой фракции 5 мл): 1 – поглощение света при 280 нм, 2, 3, 4, 5 – удельные активности соответственно катепсинов В, С, D и катептической карбоксипептидазы А

температуре белок полностью терял активность. При диализе против дистиллированной воды удельная активность фермента уменьшалась на 30–40%, а при лиофилизации – на 50%. В присутствии незначительных количеств солей в растворе (в 0,005 М ацетатном буфере, pH 4,9) фермент сохранял активность в течение недели.

По литературным данным, катептическая карбоксипептидаза А – крайне неустойчивый фермент; оптимум pH ее для расщепления Z-Glu-Tyr находится в области 3,5–4,25 [4, 5, 6]. Катепсин А наиболее активно расщепляет тот же дипептид при pH 5,0–5,4 [1, 2]. Полученные данные позволяют считать выделенный фермент подобным катептической карбоксипептидазе А.

В табл. 2 и 3 представлены данные о действии ингибиторов и активаторов на активность изучаемого фермента. Активность выделенной карбоксипептидазы не изменяется в присутствии хелатных соединений – ЭДТА и о-фенантролина. Она полностью угнетается ионами Ag^+ и Cu^{2+} в концентрациях соответственно $2,8 \cdot 10^{-4}$ и $5 \cdot 10^{-3}$ М.

Zn^{2+} не тормозит активности фермента. Органические соединения ртути инактивируют его: ПХМБ (10^{-4} М) подавляет активность на 76%, а мертиолат ($2 \cdot 10^{-4}$ М) – на 100%. Йодацетамид ($5 \cdot 10^{-3}$ М) инактивирует

Таблица 2

Действие ингибиторов на активность катептической
карбоксипептидазы А

Ингибитор	Концентрация ингибитора, М	Торможение, %
ЭДТА	$5 \cdot 10^{-3}$	0
о-Фенагролин	$5 \cdot 10^{-3}$	0
Азотнокислое серебро	$2,8 \cdot 10^{-4}$	100
Ацетат меди	$5 \cdot 10^{-3}$	100
Цинк сернокислый	10^{-3}	0
ПХМБ	10^{-4}	76
	$3 \cdot 10^{-5}$	67
Мертиолат	$2 \cdot 10^{-4}$	100
Йодацетамид	$5 \cdot 10^{-3}$	72
Моноiodуксусная кислота	$5 \cdot 10^{-3}$	32
Диизопропилфторфосфат	$2,5 \cdot 10^{-3}$	100
	$5 \cdot 10^{-3}$	100
Тозилфенилаланилхлорметилкетон	$2 \cdot 10^{-3}$	20

Таблица 3

Действие активаторов на активность катептической
карбоксипептидазы А

Активатор	Концентрация активатора, М	Активирование, %
β -Меркаптоэтанол	$5 \cdot 10^{-4}$	14
Цистеин	10^{-4}	7
	10^{-3}	8

Таблица 4

Гидролиз катептической карбоксипептидазой А синтетических
субстратов (рН 3,8, 37°)

Субстрат	Количество пептида, М $\cdot 10^{-4}$	* Количество фермента, мкг	Скорость гидролиза, мкмоль аминокислоты/мг \cdot ч $^{-1}$
Z-Glu-Tyr	2,3	7	13,4
Z-Glu-Phe	2,3	7	28,0
Z-Tyr-Phe	2,3	7	16,4
Z-His-Phe	2,3	7	3,94
Z-Glu-Tyr-O-C ₂ H ₅	2,0	18	1,4
Z-Tyr-Phe-O-C ₂ H ₅	2,0	18	1,0
Z-Gly-Phe(NH ₂)	2,0	18	0,3
Z-Pro-Pro	3,0	18	0
Z-Gly-Pro	3,0	18	0
Z-Pro-Ala	3,0	18	0
Ac-Phe-Tyr	2,0	18	0,2
Z-His-Tyr-Phe	2,0	7	6,1
Z-His-Phe-Tyr	2,0	7	3,54
Z-Gly-Phe-Leu	2,0	18	4,4
Bz-Gly-Phe-Pro	2,0	18	0
Bz-Gly-D, L-Phe-Glu	2,0	18	0,36
Bz-Gly-Phe-Phe(NH ₂)	2,0	18	0
Bz-Gly-Phe-Gly	2,0	18	0,3
Bz-Gly-DL-Leu-Gly	2,0	18	0,1
n-Нитроанилид Bz-Arg *	4,0	500	0
n-Нитроанилид Gly-Phe	5,0	500	0

* Гидролиз нитроанилидных субстратов определяли по методу Эрлангера [14].

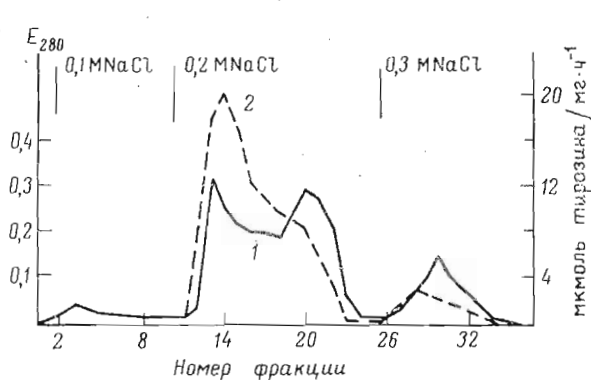


Рис. 2

Рис. 2. Хроматография препарата катептической карбоксипептидазы А на СМ-целлюлозе (объем каждой фракции — 3 мл): 1 — поглощение света при 280 нм, 2 — удельная активность фермента

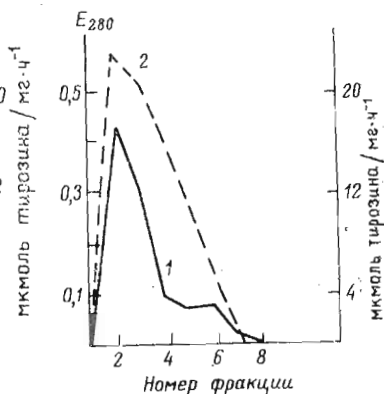


Рис. 3

Рис. 3. Гель-фильтрация катептической карбоксипептидазы А через сефадекс G-150 (объем каждой фракции — 3 мл): 1 — поглощение света при 280 нм, 2 — удельная активность фермента

изучаемую карбоксипептидазу на 72%. β -Меркаптоэтанол в концентрации $5 \cdot 10^{-4}$ М повышает активность фермента на 14%, а цистеин (10^{-3} , 10^{-4} М) — на 7–8%.

Известно, что активность катептической карбоксипептидазы А селезенки увеличивается на 8,5% при действии на фермент β -меркаптоэтанола, на 10,7% — цистеина, на 21,0% — β -меркаптоэтиламина (концентраций активаторов равны $4 \cdot 10^{-3}$ М) [4]. Дитиотреитол необходим для стабилизации аналогичного фермента, обнаруженного в лизосомах печени крыс [6]. На активность катептической карбоксипептидазы А тормозящее действие оказывает йодацетамид [4]. Полученные данные также указывают на близость выделенного фермента к SH-зависимым ферментам типа катептической карбоксипептидазы А. В отличие от катептической карбоксипептидазы А активность катепсина А не угнетается йодацетамидом, фермент не нуждается в активации SH-соединениями [2, 7].

Вместе с тем необходимо отметить, что активность изучаемого фермента тормозилась типичным ингибитором «сериновых» протеиназ — ДФФ на 100% в концентрациях $2,5 \cdot 10^{-3}$ и $5 \cdot 10^{-3}$ М. С другой стороны, не удалось получить значительного торможения активности фермента при действии ТФХК, который алкилирует гистидин в активном центре химотрипсина [11].

Известно, что бактериальные карбоксипептидазы тормозятся как ДФФ, так и специфическими реагентами на сульфидрильные группы — ПХМБ и монойодацетатом [8, 9].

При изучении субстратной специфичности катептической карбоксипептидазы А установили, что фермент не гидролизует гемоглобин, сывороточный альбумин и казеин, т.е. фермент является типичной пептидазой.

В табл. 4 представлены данные о гидролизе синтетических субстратов. Z-Tyr-Phe, Z-Glu-Tyr, Z-Glu-Phe расщепляются ферментом значительно быстрее других использованных нами субстратов. Причем скорость гидролиза Z-Glu-Phe вдвое выше, чем скорость гидролиза Z-Glu-Tyr. Замена глутаминовой кислоты в дипептиде Z-Glu-Phe на тирозин в 1,7 раза снижает скорость реакции; если во втором положении от С-конца находится гистидин, то такой субстрат расщепляется ферментом в 7 раз медленнее, чем Z-Glu-Phe. Субстраты с защищенной карбоксильной группой в виде эфира

или амида гидролизуются медленно. Катептическая карбоксипептидаза А не расщепляет субстраты, у которых во втором от С-конца или в С-концевом положении находится пролин. Из этого следует, что исследуемый фермент обладает специфичностью, характерной для панкреатической карбоксипептидазы А. Катепсин А селезенки [7] в отличие от фермента, выделенного нами, сравнительно быстро гидролизует дипептиды с этерифицированной карбоксильной группой.

Пептидная связь, образованная двумя ароматическими аминокислотами в пептиде Ас-Phe-Тур, гидролизуются медленнее, чем в пептиде Z-Тур-Phe.

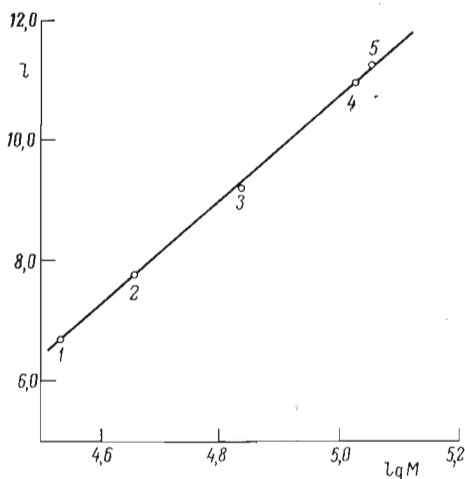


Рис. 4. Определение молекулярного веса (M) методом ТСХ: 1 - пепсин, 2 - яичный альбумин, 3 - сывороточный альбумин, 4 - коллагеназа, 5 - катептическая карбоксипептидаза А (l - расстояние, пройденное белком от линии старта до центра пятна)

веса, полученная этим методом, равна 107 000, а гель-хроматографией на колонке с сефадексом G-150—105 000. Данных в литературе о молекулярном весе для аналогичного фермента не имеется. Известно, что молекулярный вес катепсина А селезенки равен 100 000 [1]. Мы обнаружили, что в состав молекулы белка входит углеводный компонент, составляющий 1,6% от количества белка, что характерно для многих лизосомальных ферментов, в том числе катепсина D [10]. От других лизосомальных карбоксипептидаз, а именно, пролинкарбоксипептидазы (КФ 3.4.12.4) и тирозинкарбоксипептидазы (КФ 3.4.12.12), изучаемый фермент отличается субстратной специфичностью. Катептическая карбоксипептидаза А печени не расщепляет специфических субстратов этих карбоксипептидаз — Z-Pro-Ala и Ас-Phe-Тур. В отличие от выделенного фермента пролинкарбоксипептидаза является термостабильным белком.

От более подробно изученных катепсинов А из селезенки [1, 7] и мышц [2] катептическая карбоксипептидаза А отличается более кислым оптимумом рН гидролиза Z-Glu-Тур и функционально-активными группами.

По-видимому, в тканях животных существуют две кислые карбоксипептидазы, различающиеся оптимумом рН гидролиза синтетического субстрата Z-Glu-Тур и рядом других свойств.

Экспериментальная часть

Куриную печень после отделения жира и соединительной ткани замораживали и хранили при -20° . 150 г ткани измельчали и экстрагировали в течение 1 ч в четырехкратном объеме 0,05 М раствора цитратного буфера

Следовательно, скорость гидролиза этих дипептидов зависит от природы N-блокирующей группы.

Трипептиды, у которых С-концевыми являются остатки Phe, Тур, Leu, фермент расщепляет с большой скоростью и очень медленно гидролизует субстраты, у которых в С-концевом положении находятся остатки Glu или Gly.

Фермент не гидролизует субстраты катепсинов В и С: *n*-нитроанилиды Bz-Arg и Gly-Phe.

Следует отметить, что K_m для гидролиза Z-Glu-Тур исследуемым ферментом равна $2,5 \cdot 10^{-4}$ М, что на порядок ниже соответствующей константы для катептической карбоксипептидазы А селезенки ($2,2 \cdot 10^{-3}$ М [4]).

На рис. 4 представлены данные, полученные при определении молекулярного веса катептической карбоксипептидазы А методом ТСХ. Величина молекулярного

(рН 4,0–4,2) при перемешивании. Смесь центрифугировали при 4° в течение 40 мин при 5200 об/мин, осадок отбрасывали. Экстракт фракционировали сульфатом аммония. Фракцию 0–40% насыщения растворяли в 40–50 мл воды. Нерастворившиеся белки удаляли центрифугированием при 4000 об/мин в течение 30 мин. Раствор обессоливали пропусканием через колонку с сефадексом G-25 и концентрировали диализом против 15%-ного водного раствора ПЭГ. Образовавшийся осадок удаляли центрифугированием. Белковый раствор в объеме ~5–10 мл (300–350 мг белка) наносили на колонку с сефадексом G-150 (2,5×85 см), уравновешенную 0,005 М раствором фосфатного буфера (рН 6,0). Элюцию вели тем же буфером со скоростью 24 мл/ч. Пробы после определения активности фермента объединяли, общее количество активной фракции составляло 30–50 мг.

Дальнейшую очистку проводили хроматографией на колонке (1×15 см) с СМ-целлюлозой в 0,005 М растворе ацетатного буфера (рН 4,9). Перед нанесением раствор белка диализовали против того же буфера. Весь белок адсорбировался на ионообменнике. Для элюции применяли ступенчатый градиент NaCl. Активный белок выходил при 0,2 М концентрации NaCl.

Для отделения низкомолекулярных примесей полученную фракцию концентрировали диализом в ПЭГ до объема 2–3 мл и наносили на колонку (1×40 см) с сефадексом G-150, уравновешенную 0,005 М раствором ацетатного буфера (рН 4,9). Элюцию вели тем же буфером. Выход фермента составлял 1–2 мг. Количество белка определяли по методу Лоури [11] (в качестве стандарта использовали кристаллический альбумин быка) и по поглощению при 280 нм.

В качестве основного субстрата фермента использовали Z-Glu-Tyr (фирмы «Serva»). Тирозин, освободившийся в процессе ферментативного гидролиза дипептида, определяли нингидриновым методом [12]. 1 мл реакционной смеси, содержащей 5–100 мкг фермента, $2,3 \cdot 10^{-4}$ М субстрата и 0,1 М ацетатный буфер (рН 3,8), инкубировали при 37° в течение 1 ч. Удельную активность катептической карбоксипептидазы выражали в микромолях тирозина, освобождающегося в результате часового гидролиза в расчете на 1 мг фермента.

Протеолитическую активность ферментных препаратов определяли по расщеплению 1%-ного раствора гемоглобина в 0,1 М цитратном буфере (рН 3,2) [13], 1%-ного раствора сывороточного альбумина в 0,1 М ацетатном буфере (рН 4,0) и 0,5%-ного раствора казеина в 0,1 М фосфатном буфере (рН 5,9). Удельную активность выражали по приросту оптической плотности при 280 нм фильтрата после осаждения ТХУ на 100 мкг белка в пробе.

Пептидазные активности катепсинов В и С определяли по методу Эрдангера с хромогенными субстратами *n*-нитроанилидами Bz-Arg и Gly-Phe [14]. Реакцию проводили при 37° в течение 3 ч для катепсина С и 18 ч для катепсина В. В 1,6 мл реакционной смеси содержалось 250 мкг субстрата, 500 мкг фермента, 0,1 мл 0,1 М цистина, 0,1 М ацетатный буфер для катепсина С (рН 5,0) и 0,1 М фосфатный буфер для катепсина В (рН 5,9). Удельную активность выражали по приросту оптической плотности при 410 нм на 1 мг белка в пробе.

При изучении действия ингибиторов и активаторов количество фермента в пробах составляло 10–45 мкг. В качестве реагентов на сульфгидрильные группы использовали йодацетамид ($5 \cdot 10^{-3}$ М), монойодуксунную кислоту ($5 \cdot 10^{-3}$ М), ПХМБ (10^{-4} , $3 \cdot 10^{-5}$ М), мертиолат ($2 \cdot 10^{-4}$ М), β-меркаптоэтанол ($5 \cdot 10^{-4}$ М), цистеин (10^{-4} , 10^{-3} М). При изучении действия ионов тяжелых металлов на активность фермента использовали Cu(CH₃COO)₂ ($5 \cdot 10^{-3}$ М), AgNO₃ ($2,8 \cdot 10^{-4}$ М), ZnSO₄ (10^{-3} М). Наличие металла в активном центре фермента проверяли по действию ЭДТА ($5 \cdot 10^{-3}$ М) и о-фенантролина ($5 \cdot 10^{-3}$ М). Реактивы растворяли в 0,1 М ацетатном буфере (рН 4,0) (объем пробы 0,9 мл) и преинкубировали с ними фермент при комнатной температуре в течение 15–20 мин. Затем в смесь

добавляли $2,3 \cdot 10^{-4}$ М Z-Glu-Туг и пробы инкубировали 1 ч при 37° . Активность фермента определяли, как указано выше [12], за исключением опытов по изучению торможения активности фермента ионами серебра; активность в этом случае определяли по методу Джемма и Кукинга [15].

В реакции с ДФФ ($2,5 \cdot 10^{-3}$ М, $5 \cdot 10^{-3}$ М) к раствору фермента (0,95 мл) в 0,1 М ацетатном буфере (рН 4,0) добавляли ингибитор (0,05 мл), растворенный в этаноле [16]. Реакцию фермента с ТФХК ($2 \cdot 10^{-3}$ М) проводили по методу Хартли [17].

Молекулярный вес фермента измеряли двумя методами Эндрюса [18]. Для определения методом ТСХ использовали сефадекс G-150 (сверхтонкий), уравновешенный с 0,9%-ным раствором NaCl. Кроме того, молекулярный вес определяли на колонке ($2,2 \times 70$ см) с сефадексом G-150, уравновешенным раствором 0,1 М NaCl в 0,005 М фосфатном буфере (рН 6,2). В качестве стандартов в обоих случаях использовали сывороточный альбумин, лепсин, яичный альбумин и бактериальную коллагеназу. Электрофорез препаратов фермента проводили по методу Дэвиса в 7%-ном полиакриламидном геле при рН 9,5 [19]. Величину K_m определяли по методу Лайнуивера и Берка [20]. Углеводы определяли по методу Монтгомери [21] в препарате белка, полученном после обработки на СМ-целлюлозе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Логунов А. И., Орехович В. Н. (1972) *Биохимия*, **37**, 855–861.
2. Iodice A. A. (1967) *Intern. Congr. Biochem.* 7th., F-194, 797. Tokyo.
3. Taylor S. L., Tappel A. L. (1974) *Biochim. et biophys. acta*, **341**, 112–119.
4. Greenbaum L. M., Sherman R. (1962) *J. Biol. Chem.*, **237**, 1082–1085.
5. Bowen D. M., Davison A. N. (1973) *Biochem. J.*, **131**, 417–419.
6. Mellors A. (1971) *Arch. Biochem. and Biophys.*, **144**, 281–285.
7. Logunov A. I., Orekhovich V. N. (1972) *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, **46**, 1161–1168.
8. Nakadai T., Nasuno S., Iguchi N. (1972) *Agr. and Biol. Chem.*, **36**, 1481–1488.
9. Nakadai T., Nasuno S., Iguchi N. (1973) *Agr. and Biol. Chem.*, **37**, 1237–1251.
10. Smith G. D., Murray M. A., Nichol L. W., Trikojus V. M. (1969) *Biochim. et biophys. acta*, **171**, 288–298.
11. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. (1951) *J. Biol. Chem.*, **193**, 265–275.
12. Ryle A. P., Porter R. R. (1959) *Biochem. J.*, **73**, 75–86.
13. Anson M. L. (1938) *J. Gen. Physiol.*, **22**, 79–89.
14. Erlanger B. F., Kokowsky N., Cohen W. (1961) *Arch. Biochem. and Biophys.*, **95**, 271–278.
15. Yemm E. W., Cocking E. C. (1955) *Analyst*, **80**, 209–213.
16. Jansen E. F., Nutting M.-D. F., Jang R., Balls A. K. (1949) *J. Biol. Chem.*, **179**, 189–199.
17. Hartley B. S. (1964) in *Structure and activity of enzymes* (Goodwin J., Harris J., eds.), Acad. Press, New York — London, vol. 1, p. 47–59.
18. Andrews P. (1964) *Biochem. J.*, **91**, 222–233.
19. Davis B. J. (1964) *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **121**, 404–427.
20. Lineweaver H., Burk D. (1934) *J. Amer. Chem. Soc.*, **56**, 658–666.
21. Montgomery R. (1957) *Arch. Biochem. and Biophys.*, **67**, 378–386.

Поступила в редакцию
4.VII.1974

ISOLATION AND SOME PROPERTIES OF CATHEPTIC CARBOXYPEPTIDASE A

DIKTCHUTE R. A.

*Institute of Biological and Medical Chemistry,
Academy of Medical Sciences of the USSR, Moscow*

A simple method for isolation of highly purified catheptic carboxypeptidase A from chicken liver has been developed, and partial physico-chemical characterization of this enzyme given. The specificity of the enzyme and its behavior with respect to activators and inhibitors were investigated. It was established that the enzyme molecule contains a carbohydrate component. Comparison of the properties of cathepsin A with those of the catheptic carboxypeptidase A showed that the isolated enzyme differs from cathepsin A and, along with the latter, is present in the tissue studied.