



УДК 577.152.193

О. С. Мирошниченко

БИОГЕНЕЗ, ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ И СВОЙСТВА КАТАЛАЗЫ

В обзоре представлены данные о внутриклеточной локализации каталазы, выделенных из различных источников, о наличии изоферментных форм, обсуждаются биологическая целесообразность и возможные причины их образования. Излагаются особенности биогенеза и транспорта фермента, а также рассматриваются факторы, влияющие на уровень активности каталазы в клетке. Обобщены многочисленные данные о физико-химических и каталитических свойствах фермента, а также о внутриклеточных процессах с участием каталазы. Приведены примеры атипичных каталаз, по своим свойствам занимающих промежуточное место между каталазами и пероксидазами, а также указаны возможности применения каталазы в медицине и пищевой промышленности.

Каталаза (гидроген-пероксидаза : гидроген-пероксид-оксидоредуктаза ЕС 1.11.1.6) — фермент, обнаруженный в клетках практически всех аэробных организмов. Наряду с разложением перекиси водорода и тем самым защитой клетки от ее токсического воздействия фермент катализирует целый ряд метаболически значимых реакций, список которых будет, очевидно, расширен в результате дальнейших экспериментальных исследований.

Молекула типичной каталазы состоит из четырех идентичных субъединиц, каждая из которых содержит в качестве кофактора железопорфириновый комплекс. Молекулярные массы (м. м.) каталаз составляют обычно 220 000—270 000.

Каталаза принадлежит к числу наиболее интенсивно изучаемых ферментов. Тем не менее целый ряд важных вопросов, связанных с механизмом катализа, метаболической ролью каталазы, а также с возможностями практического применения, остается невыясненным.

Впервые эритроцитарный фермент выделен в очищенном виде в 1910 году, а кристаллический препарат каталазы печени быка получен Самнером в 1937 году [1].

Внутриклеточная локализация каталазы. В клетках эукариот каталаза локализована в пероксисомах. Пероксисомы — ограниченные элементарной бислойной мембраной органеллы. Существуют две модели биогенеза пероксисом. Одна из них предполагает отпочковывание от эндоплазматического ретикулума. Согласно второй, — новые пероксисомы образуются в процессе деления, следующего после роста предшествующих органелл. В последнее время получены доказательства в пользу второй модели. Каждая клетка содержит по меньшей мере одну пероксисому (обычно 3—6, даже в условиях, подавляющих рост и развитие клетки). При индукции биогенеза пероксисом в клетках *Saccharomyces cerevisiae* увеличивались число и размер этих органелл и они располагались на периферии клетки, непосредственно примыкая к цитоплазматической мембране [2—4].

Биогенезу микротелец (пероксисом, глиоксисом, гликосом) присущи особенности, отличающие его от такового других органелл:

— наличие одной бислойной мембраны;

— синтез матричных и мембранных белков пероксисом на свободных полисомах и посттрансляционная интеграция в предсуществующие органеллы посредством неизвестного механизма, сопряженного с гидролизом АТФ;

— предположительно для импорта требуется мембранный блок-рецептор;

— сигнальные пептиды содержатся в зрелой молекуле и не подвергаются протеолитическому процессингу [4].

У грибов и, в частности, у *Penicillium vitale*, по данным электронно-микроскопического исследования, каталаза содержится в микротельцах, выполняющих роль пероксисом, в цитоплазме, а также в центральных вакуолях в микротельцах, выполняющую роль пероксисом [5].

Отмечается значительное сходство в локализации каталазы, а также в строении клетки у ряда грибов и дрожжей. Показана различная локализация двух каталаз *S. cerevisiae*, отличающихся по своим свойствам и структуре: каталаза А содержится в вакуолях и (или) пероксисомах; каталаза Т — преимущественно в цитоплазме и в небольшом количестве в клеточной стенке [4, 7].

В клетках млекопитающих, как у большинства эукариот, каталаза в основном локализована в матриксе пероксисом [7]. Наблюдается аномальное накопление активной каталазы в цитозоле при синдроме Zellweger, характеризующемся отсутствием пероксисом в фибробластах больных [8].

Более ранние многочисленные сообщения об обнаружении каталазы в митохондриях в последующих работах не подтвердились, что может быть объяснено загрязнением фракций митохондрий пероксисомами при фракционировании органелл [6, 7].

Если рассматривать тканевую локализацию каталазы, то следует отметить, что в печени сосредоточено до 60 % общей активности каталазы; высокий уровень фермента также отмечается в почках, лейкоцитах и эритроцитах. Энзиматическая активность каталазы в первичных тканях и, в частности, в мозге составляет лишь несколько процентов от ее уровня в печени [1, 9, 10].

У прокариот каталаза, в основном, локализована в цитоплазме, однако около 10 % фермента ассоциировано с клеточной стенкой, чем обеспечивается каталазная активность интактных бактериальных клеток. Фермент может быть также слабо связан с внутриклеточными складками цитоплазматической мембраны наподобие связи человеческой каталазы с внутренней мембраной эритроцитов. Подобная локализация бактериальных ферментов увеличивает их эффективность и позволяет разделять в пространстве цепи метаболических реакций. Функционально целесообразной представляется различная локализация (во внутренней мембране и цитоплазме соответственно) каталаз НР1 и НР2 *Escherichia coli*, отличающихся по физико-химическим и каталитическим свойствам [11, 12].

В растениях каталаза находится в пероксисомах и глиоксисомах (специализированная форма пероксисом, содержит ферменты метаболизма запасов липидов). В запасных тканях развивающихся семян около 80 % каталазной активности обнаружено в глиоксисомах. Каталаза найдена также в цитозоле, причем у семян *Castor bean* фермент, выделенный из цитозоля, отличается по молекулярной массе от фермента, содержащегося в матриксе глиоксисом [7, 13].

Множественные формы каталазы. Следует отметить, что помимо изоферментов, обусловленных видовой специфичностью, множественные формы каталазы установлены для различных таксономических групп живых организмов в пределах одного вида. Однако природа и механизм образования изоферментов во многих случаях остаются невыясненными, несмотря на интенсивные исследования.

В пекарских дрожжах *S. cerevisiae* обнаружены три каталазы, транскрибирующиеся с различных мРНК. Две из них А (atypical) и Т (typical) — тетрамерные гемопротейны, отличающиеся по молекуляр-

ной массе и спектральным свойствам, третья присутствует в меньшем количестве, содержит пегемовое железо и ассоциированную РНК [7].

У некоторых видов млекопитающих, в частности, у мыши, кролика и крысы на электрофореграммах каталазы печени обнаружены множественные зоны, обладающие каталазной активностью (до пяти изоформ). Рекомбинантная каталаза крысы, экспрессируемая в *E. coli*, образует те же множественные полосы в геле при изоэлектрофокусировании, что и исходная каталаза [8]. Этот эксперимент позволяет предположить в качестве наиболее вероятной причины образования изоферментов посттрансляционную модификацию, поскольку гликозилирование и наличие мультигенных продуктов в данном случае невозможны. В появлении изоферментных форм не исключен также вклад процессов деградации. После выполнения своей функции в пероксисоме каталаза может высвобождаться в цитоплазму и трансформироваться в гетероморфные формы, например, за счет различной степени отщепления сиаловой кислоты, а затем деградировать. О процессах деградации каталазы известно мало. Установлены периоды полураспада для каталазы морской свинки — 72 ч, мыши — 32—36 ч [14, 15]. Одной из причин мнимой множественности каталазы является ее высокая чувствительность к протеолизу. Так, препараты каталазы печени крысы, полученные в двух различных системах бесклеточной трансляции, а также иммунопреципитацией, не отличались между собой по молекулярной массе при сравнении спустя 8 мин и один день с момента синтеза, однако заметно медленнее мигрировали при электрофорезе в полиакриламидном геле (ПААГ) с DS-Na, чем очищенная каталаза из фракции пероксисом (соответственно 65 800 и 61 800) [16].

Рядом авторов было обнаружено различие в молекулярных массах каталазы печени мыши. Также показано образование цитоплазматической каталазы печени мыши в процессе деградации пероксисомного фермента. В этой связи была предпринята попытка обнаружить ответственную за данные события протеазу. Из всех испытанных ингибиторов лишь лейпептин и йодацетамид — ингибиторы лизосомных катепсинов — предотвращали протеолиз нативного фермента. Различия в молекулярной массе между нативным ферментом и энзиматически активным продуктом его протеолитической деградации составляло 2000 (60 000 и 58 000 соответственно).

Вероятно, получаемая из пероксисом печени крысы каталаза также является продуктом протеолитической деградации, не отличающимся по стабильности, активности и ряду других свойств от нативного фермента [17, 18].

Механизмы, обеспечивающие существование множественных форм каталазы млекопитающих (крысы, мыши, кролика), остаются невыясненными. Возможно, гетерогенность каталазы у многих видов организмов — нормальный феномен *in vivo*, результат воздействия некоторых эпигенетических механизмов на продукт единственного гена.

У подавляющего большинства видов растений наблюдается множественность форм каталазы, хотя для некоторых, например, для фасоли и чечевицы идентифицирована единственная каталаза.

На электрофореграммах каталазы ячменя выделены две главные полосы каталазной активности, различные по заряду, но с идентичными молекулярными массами [19].

Из пероксисом семян тыквы выделены два типа мономерных субъединиц каталазы, образующих гомотетрамеры: малоактивный предшественник 59 000 и мономерная субъединица 55 000 высокоактивной каталазы (преобладает в глиоксисомах). Обе каталазы идентично перекрестно реагируют с антителами. Пептидное картирование выявило, однако, сходство субъединицы 59 000 с продуктом трансляции в бесклеточной системе *in vitro* и отличие от пептидной карты субъединицы 55 000. Полипептид большей молекулярной массы в 10 раз каталитически менее активен, чем низкомолекулярный фермент, и, вероятно, является предшественником активной формы каталазы [20, 21].

У кукурузы идентифицированы три электрофоретически отличных изофермента каталазы, кодируемых тремя несвязанными структурными генами (*cat1*, *cat2*, *cat3*). Кроме того, продукт гена *cat2*, существующий в цитоплазме и глиоксисомах, частично процессируется на 18 аминокислот до м. м. менее 54 000, отличаясь от исходного полипептида на 2000 [22, 23].

Каталаза огурца (55 000) также процессируется до продукта 54 000. Показано, что у тыквы, огурца и арбуза осуществляется световая регуляция количественного соотношения предшественника и зрелой каталазы [24].

Пять каталитически активных изоферментов каталазы, отличающихся по заряду, с м. м. 230 000 обнаружены у хлопчатника. Методом изоэлектрического фокусирования выявлены два типа субъединиц, в результате сочетания которых образуются гомотетрамерные изоформы: А — более отрицательная и Е — более положительная, а также гетеротетрамерные изоформы В, С, D, состоящие из различного сочетания субъединиц типа А и Е. Показана дифференциальная экспрессия этих двух субъединиц в процессе созревания, что, вероятно, физиологически связано с превращением глиоксисом в пероксисомы [25].

При трансляции *in vitro* поли(А)-РНК хлопчатника получены два типа полипептидов с м. м. 64 000 и 57 000. Оба включаются в пероксисомы без процессинга. По включению метки показано, что продукт с м. м. 64 000 не является предшественником субъединицы 57 000. Физиологический смысл этого явления не ясен [26, 27].

В большинстве случаев нет данных ни о генетической природе, ни о физиологической роли изоферментов. Крайне ограничены также сведения об изменении спектра каталаз в зависимости от процессов развития и условий окружающей среды. В этом аспекте интересна работа, в которой показано, что три изоферментные формы каталазы табака обладают различным соотношением каталазной и пероксидазной активности. К сожалению, неизвестна локализация этих изоферментов. Важно отметить, что повышение концентрации углекислого газа индуцирует увеличение содержания формы с более высокой пероксидазной активностью в 3 раза на фоне общего снижения каталазной активности [28].

Восемь (!) изоферментных форм каталазы, различающихся по заряду и молекулярной массе (САТ1—САТ8), обнаружены в пероксисомах семян подсолнуха. На свету, в процессе превращения глиоксисом в пероксисомы превалируют пять более основных форм (САТ1—САТ5, гибриды субъединиц 55 000 и 59 000), в то время как концентрация более кислых форм (САТ6—САТ8, содержат исключительно субъединицы 55 000) снижается. Обнаружен также продукт трансляции 56 000, процессируемый до 55 000. Субъединица 59 000 частично процессируется до 55 000, а частично накапливается, принимая участие в формировании гибридных тетрамеров. Синтез двух типов предшественников (59 000 и 56 000) и образование трех изоформ, содержащих только процессированные субъединицы с идентичной молекулярной массой, предполагают наличие двух разных генов, продукты которых взаимодействуют при формировании тетрамеров [29].

Множественные формы также обнаружены у каталаз шпината, пшеницы, горчицы, однако для этих растений не найден предшественник с увеличенной молекулярной массой.

Выявлены множественные формы каталаз для ряда бактерий. У *E. coli* идентифицированы три каталазы: НР1А, НР1В, НР2, отличающиеся по физико-химическим и каталитическим свойствам [30].

Три изофермента каталазы САТ 1, 2, 3 содержатся в *Bacillus subtilis* (387 000, 261 000 и 205 000 соответственно). Споры содержат преимущественно САТ2, в то время как САТ1 характерна для вегетативных клеток. В свою очередь, САТ2 представлена несколькими изоферментами с близкими молекулярными массами, но отличающимися по заряду. Весьма вероятно также действие протеазы.

Бактерии *Neurospora crassa*, *Proteus mirabilis* содержат единственную каталазу [31—33].

Поскольку каталазы прокариот не гликозилируются, исключается вклад углеводного компонента в природу множественности ферментных форм [8].

Структурные гены каталазы. У *E. coli* картировано несколько структурных генов, ответственных за синтез каталаз и их изоформ. Постоянно присутствующую в цитоплазме монофункциональную каталазу HP2 кодирует *katE*. За синтез HP2 также отвечает *katF*, являясь положительным регуляторным геном для гена *katE*. Находящуюся в мембране и индуцируемую перекисью водорода бифункциональную каталазу HP1 (изомеры А и В) кодирует *katG*. Получены мутации, приводящие к синтезу каталазы HP1 с нативной молекулярной массой и антигенными свойствами, но отсутствием каталазной активности [12, 35].

У *B. subtilis* картированы локус *katA*, отвечающий за синтез индуцируемой перекисью каталазы 1, присутствующей исключительно в вегетативных клетках, а также *katB*, отвечающий за синтез спороспцифичной каталазы 2 [33, 36].

Каталазы А и Т дрожжей *S. cerevisiae* транслируются с различных мРНК [34].

В результате исследования геномной ДНК дрожжей *Candida tropicalis*, кодирующей каталазу, методом блот-гибридизации показано, что она содержит короткий некодирующий, возможно, регуляторный участок [37].

Изоферментные формы каталазы ячменя предположительно контролируются одним геном, поскольку в экстракте, выделенном из мутанта, полосы каталазной активности в ПААГ оказались пропорционально уменьшенными по сравнению с экстрактом из дикого типа [19].

У кукурузы в различных местах генома картированы три структурных гена, кодирующих три электрофоретически отличных гомотетрамера каталазы. Установлена дифференциальная экспрессия этих генов на разных стадиях развития [22, 29, 38, 39].

Показано наличие двух видов поли(А)-РНК каталазы хлопчатника, очевидно, транскрибируемых с двух различных генов либо образуемых в результате посттранскрипционной модификации про-мРНК (сплайсинг). В результате трансляции двух видов мРНК образуются два типа (А и Е) субъединиц, различное сочетание которых приводит к возникновению пяти изоферментных форм каталазы хлопчатника, отличающихся по заряду. Показана дифференциальная экспрессия двух типов субъединиц в процессе развития и, следовательно, изменение спектра изоформ, что, очевидно, физиологически обусловлено [25].

Равновероятны следующие гипотезы о причинах гетерогенности каталаз:

- существование дополнительных структурных генов;
- изоферменты — продукты различных стадий биосинтеза;
- изоферменты — следствие процессов катаболизма.

Скорее всего, у разных организмов могут реализовываться различные механизмы, приводящие к гетерогенности каталазы, а явление гетерогенности представляется функционально целесообразным.

Таким образом, многочисленные экспериментальные данные свидетельствуют о различных уровнях контроля биогенеза каталазы: в процессе дифференциальной транскрипции, трансляции, посттрансляционной протеолитической модификации и селективности процессов тетрамеризации в случае синтеза различных типов субъединиц.

Биогенез каталазы. Синтез каталазы, так же как и других пероксисомных ферментов, осуществляется на свободных полисомах с последующим посттрансляционным механизмом переноса ферментов внутрь пероксисомы [40]. Установлено, что каталаза печени крысы и мышцы синтезируется в виде предшественника, соразмерного с мономером каталазы, гем отсутствует. Начиная с 8—10-й мин и в течение 1 ч с момента введения метки, апомономер каталазы транспортируется в перок-

сисому с полупериодом включения 14 мин. Внутри пероксисомы апономер приобретает гем и агрегирует в активную тетрамерную молекулу. У мыши множественные формы каталазы обнаруживаются в течение 96 ч с момента введения метки [7, 14, 16].

У факультативных анаэробов — дрожжей *S. cerevisiae*, не содержащих каталазы в отсутствие кислорода, образование активной каталазы в процессе кислородной адаптации — достаточно медленный процесс. В случае обеих каталаз (А и Т) появление иммунопреципитирующего с каталазной антисывороткой материала, содержащего небольшое количество гема практически неактивного, наблюдалось в пределах 3—10 ч аэрации. Гем включается в иммунопреципитирующий материал в период от 10 до 18 ч с начала аэрации; активный фермент появляется позже. Кинетика включения гема и появления активной тетрамерной каталазы позволила предположить, что синтез идет через гемсодержащий интермеднат — мономер. Несмотря на огромные различия в системах синтеза белков у эволюционно отдаленных таксономических групп, образование каталазы происходит по следующей единой схеме: мРНК — апономер каталазы — гемсодержащий мономер — энзиматически активный тетрамер каталазы [7].

До сих пор недостаточно изучены механизмы олигомеризации субъединиц каталазы и интеграции простетической группы, так же как и процессы деградации фермента после выполнения его функции в пероксисоме.

Индукция и регуляция биосинтеза каталазы. В большинстве случаев концентрация каталазы регулируется в зависимости от метаболических потребностей клетки. Как правило, уровень каталазы связан с кислородным метаболизмом. Фермент отсутствует в анаэробных условиях и индуцируется кислородом. Кислород — важный регулятор синтеза каталазы, однако действует непрямым путем. Предполагается связь между синтезом компонентов дыхательной цепи и каталазы [41].

В клетках *E. coli* озонирование в течение 0,5—2 ч (2—6 мг озона \times $\text{л}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$) вызывает увеличение активности каталазы и супероксиддисмутазы в 5—10 раз [42].

У дрожжей высокий уровень биосинтеза гема и отсутствие катаболитной репрессии являются необходимыми условиями накопления каталазы. Кислород влияет на это накопление, поскольку участвует в биосинтезе гема и в снятии катаболитной репрессии. Гемдефицитные мутанты дрожжей не способны к синтезу каталазы, но приобретают эту способность при внесении в среду гема [7].

Показано, что экспрессия гена *ctt1* (каталазы Т из *S. cerevisiae*) находится под контролем *hap1*-гена, продукт которого является также медиатором гемового контроля митохондриальных цитохромов. Связывание *HAP1*-белка с промотором *ctt1* стимулируется *in vitro* гемом. В дрожжах *S. cerevisiae* транскрипция генов, кодирующих гемопротеины, позитивно и, очевидно, координированно регулируется гемом [43, 44].

В аэробных условиях (если основным источником энергии является гликолиз) микроорганизмам требуется значительно меньшее количество каталазы (явление глюкозной репрессии) [7].

Уровень каталазы контролируется присутствием субстрата перекиси водорода. Энтеробактерии *Salmonella typhimurium*, *E. coli* приобретают устойчивость к летальным дозам перекиси в случае предобработки малыми дозами. В процессе адаптации индуцируется синтез около 30 белков, в их числе 9 стабильно экспрессируемых в значительных количествах и, по меньшей мере, 5 видов ферментов, участвующих в защите организма от окислительных повреждений: каталаза, пероксидаза, супероксиддисмутаза, глутатионредуктаза, алкилгидропероксидредуктаза, а также 3 белка теплового шока. Мало известно о регуляторном механизме индукции каталазы перекисью водорода. При летальных концентрациях последней наблюдаются также такие типы ответа, как образование филаментов, активация *OxyR*- и *SOS*-регулонов.

Выделены аденилированные динуклеотиды, так называемые алармоны, выполняющие функцию переориентации клеточного метаболизма при тепловом шоке и окислительном стрессе. Обнаружено, что при действии перекиси возрастает синтез аденилированных нуклеотидов. Также обнаружено, что перекись индуцирует экспрессию *OxyR*-гена, а делеция *OxyR*-гена *S. typhimurium* приводит к гиперчувствительности к перекиси водорода и отсутствию белковой индукции вышеуказанного спектра. Картированы три гена *E. coli*: супероксиддисмутазы, глутатионредуктазы и НР1-каталазы, контролируемые продуктом *OxyR*-гена — позитивным эффектором экспрессии. Делеция, снижающая активность НР1-каталазы, не затрагивает *OxyR*-гена, что может свидетельствовать о принадлежности этого гена и гена каталазы к разным оперонам [45, 46]. Поскольку аденилированные нуклеотиды вовлекаются в индукцию генов в процессе адаптации к перекиси водорода, то продукт *OxyR*-гена, вероятнее всего, — белок, связывающий один из динуклеотидов-алармонов и активирующий вследствие этого транскрипцию специфического набора генов, в том числе каталазного (наподобие событий, вызываемых при взаимодействии сAMP с CRP-рецепторным белком). Для синтеза ряда белков, находящихся под контролем *OxyR*-гена, существуют и другие системы контроля.

Установлена также важность продукта *recA*-гена для защиты от токсического действия перекиси. Этот тип ответа повышает способность клетки к репарации ДНК. При этом усиленно синтезируются экзонуклеазы 3, 5; ДНК-полимераза I и другие компоненты ответа SOS-регулона [45, 47, 48].

У бактерий, однако, перекись водорода, по-видимому, не является основным индуктором каталазы.

Аскорбиновая кислота вызывает значительное увеличение активности каталазы у *E. coli* по следующему механизму: реагирует с кислородом в присутствии ионов металлов с образованием дегидроаскорбата и перекиси водорода; при этом образуются свободные радикалы и гидроксил-радикалы. Перекись, образующаяся при окислении аскорбата, ответственна за индукцию синтеза каталазы [48].

Пестициды плюмбагин и паракват вызывают увеличение активности каталазы наряду с супероксиддисмутазой [7].

У дрожжей *C. boidinii* при утилизации метанола активность каталазы возрастает в 5 раз [7].

У дрожжей *C. tropicalis*, растущих на среде, содержащей нормальные углеводороды, по сравнению с клетками, растущими на среде, содержащей глюкозу, этанол, ацетат, существенно увеличивается активность каталазы, требуемой для удаления перекиси, генерируемой при окислении жирных кислот [7].

Суммируя вышеизложенное можно заключить, что регуляция биосинтеза каталазы при участии гема, кислорода, глюкозы и других факторов осуществляется на различных уровнях: транскрипции, трансляции, а также посттрансляционном.

Внутриклеточный транспорт каталазы. В настоящее время недостаточно изучены процессы интеграции белков в матрикс и мембраны микротелес, в частности, пероксисом.

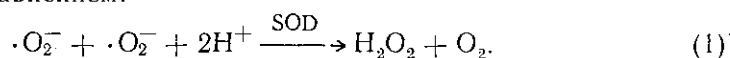
В эукариотических клетках распределение белков в места их компартиментализации является эволюционно консервативным процессом и определяется соответствующими сигнальными последовательностями, специфичными для митохондрий, хлоропластов, лизосом, ядра, эндоплазматического ретикулума. Обычно — это N-концевой сигнал значительно размера (от 6 до 20 аминокислот), отщепляемый в процессе или по завершении импорта в органеллы.

Уникальными особенностями импорта в пероксисомы являются отсутствие процесса отщепления сигнальной последовательности и ее локализация на C-конце. Для многих пероксисомных белков идентифицирована по крайней мере одна консенсус-последовательность пероксисом-направляющего сигнала, представляющая трипептид состава: Сер(Ала,

Цис)-Лиз(Гис, Арг)-Лей. В первой позиции, очевидно, играет роль размер боковой цепи аминокислоты (структурная особенность); во второй — основные свойства положительно заряженных аминокислот; в третьей — невозможность замены лейцина на другую аминокислоту предполагает его ключевую роль для выполнения функции внутриклеточного транспорта. Механизм остается неизвестным. Последовательность эволюционно консервативна. Из каталаз различного происхождения лишь у каталазы человека выявлена вышеназванная консенсус-последовательность Сер-Гис-Лей, причем для интеграции существенны 27 С-концевых аминокислот. Большинство эукариотических белков, содержащих этот трипептид во внутренней части последовательности, не являются пероксисомными. Предполагается наличие дополнительных сортировочных сигналов в С-концевом районе белков для транспорта в пероксисому. При изучении транспорта каталазы и пяти минорных продуктов трансляции *cat1*-гена *S. cerevisiae*, укороченных с N-конца и не содержащих вышеуказанного сортировочного пептида в С-конце, было установлено, что эффективность их транспорта близка. Сделан вывод о локализации топогенной информации на С-конце каталазы. До сих пор не обнаружено ковалентных модификаций в процессе доставки каталазы в пероксисому и последующей сборки в гемсодержащий тетрамер. Для каталазы, как и для других пероксисомных белков, синтез, внутриклеточное передвижение и импорт представляются отдельными событиями [3, 4, 50, 51].

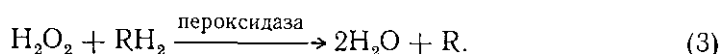
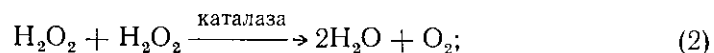
Физиологическая роль каталазы. Каталаза — компонент комплексной ферментативной защиты организма от токсичных соединений кислорода. Аэробный способ существования обеспечивает организму большие преимущества наряду со значительными опасностями в случае нарушения защитных механизмов. Полное восстановление кислорода до перекиси водорода требует затраты четырех электронов и в этом процессе насчитывается несколько последовательных интермедиатов, токсичных для живой клетки, которыми являются: радикал супероксиданиона, радикал гидроксила, перекись водорода. Синглетный кислород, органические кислородные радикалы производятся как продукты реакций с вовлечением первых трех интермедиатов. Комплексную первичную защиту осуществляют ферменты супероксиддисмутаза, каталаза и пероксидаза.

Супероксиддисмутаза (ЕС 1.15.1.1) устраняет супероксиданион в соответствии с уравнением:



Реакция может также протекать спонтанно. Целый ряд ферментативных, фотохимических и спонтанных реакций приводит к образованию супероксиданиона: автоокисление гидрохинонов, лейкофлавинов, катехоламинов, тиолов, аскорбата, тетрагидроптеринов, цитохрома Р-450, восстановленных ферредоксинов, оксигенированного гемоглобина по мере превращения в метгемоглобин и метмиоглобин [7].

Каталаза и пероксидаза (ЕС 1.11.1.7) восстанавливают перекись водорода до воды, используя в качестве восстановителей различные соединения:



Каталаза может также неспецифически реагировать с липидными гидроперекисями [52].

Все указанные ферменты содержат атомы металлов в активном центре, а в качестве восстанавливающего субстрата пероксидазы используют восстановленный глутатион.

Очевидно, что эффективное ферментативное удаление супероксиданиона и перекиси водорода предотвращает спонтанное образование еще

одного, превосходящего по активности вышеназванные, интермедиата — радикала гидроксила, который активно реагирует со множеством веществ и не может быть удален специфическим энзиматическим путем [7, 53, 54]:



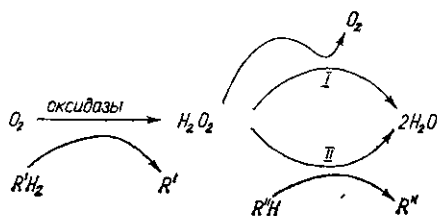
Спектр физиологического воздействия интермедиатов восстановления кислорода весьма широк. Он включает в себя гидроксильное окисление триптофана и других соединений; окисление белков; образование липидных перекисей (усиливается в присутствии переходных металлов: Cu, Fe и др.); повреждение липидов и других компонентов мембран; повреждение ДНК, РНК: модификация оснований, разрывы сахарофосфатных связей; снижение роста клеток, некроз клеток; инактивация вирусов и др.

Перекисные повреждающие механизмы могут иметь место в мозге, других тканях при старении, воздействии ядов и токсинов, при церебральных инсультах, повреждениях нервной системы и многих других процессах [10, 53].

Ферменты антиоксидантной защиты супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидаза действуют как сильные радиопротекторы, принимая участие в изъятии кислородных метаболитов и свободных радикалов. Известно, что ионизирующая радиация приводит к разложению воды с образованием радикалов гидроксила, водорода, супероксиданиона, электронов, перекиси водорода, а также к разложению макромолекул с образованием органических радикалов, что вызывает необратимые повреждения в клетке. Следовательно, супероксиддисмутаза и каталаза представляют первоочередной интерес для радиационной химии, биологии и терапии, осуществляя защиту клетки от повреждающего воздействия ионизирующей радиации на ДНК, мембраны, белки, другие физиологически активные вещества и нарушения вследствие этого клеточного метаболизма [52, 54—56].

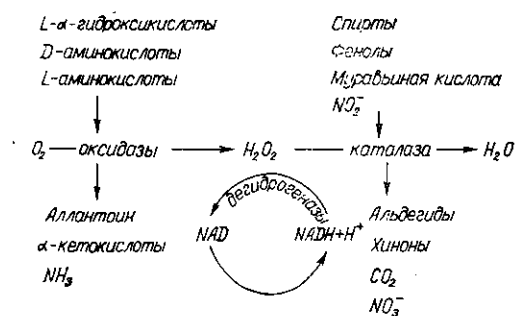
Метаболизм перекиси водорода — основного субстрата каталазы. Генерация перекиси водорода главным образом осуществляется в мембранах: клеточных стенках растений и бактерий, ядерной и плазматической мембранах, мембранах митохондрий, хлоропластов, микросом, пероксисом, эритроцитов и лишь незначительная часть перекиси образуется в цитозоле (5 % от общего количества в цитозоле печени крысы). В нормальных условиях в печени крысы скорость образования перекиси в большинстве мембран невелика, составляет около $1 \text{ нМ} \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{мг}^{-1}$ белка ткани и приводит к расходу 1—2 % общего потребления кислорода в ткани.

Физиологически значимой представляется ассоциация в ультраструктуре клетки ферментов, продуцирующих перекись, в частности, оксидаз D-, L-аминокислот и оксикислот, ксантинооксидазы, уриказы и утилизирующей перекись каталазы в пероксисомах — основном месте локализации метаболизма перекиси водорода (схема 1) [57].



Если перекись образуется вне пероксисом, она диффундирует в пероксисомы, где утилизируется [9]. Оксидазы — ферменты (преимущественно флавопротеины), восстанавливающие кислород до перекиси водорода в процессе переноса двух электронов на одну молекулу кислорода за счет окисления субстратов с общей формулой RH_2 .

Каталаза в значительной степени регенерирует кислород, который может быть повторно использован оксидазами. В пероксисомах идентифицированы два сопряженных пути электронно-транспортных цепей (схема 2) [57].



Процессы реокисления восстановленного NAD в пероксисомах и митохондриях осуществляются параллельно. Сопряжение этих альтернативных путей переноса электронов может регулироваться кислородом. В целом в сопряженных механизмах может принимать участие до 35 % клеточного NADH. Возможно также сопряжение с процессами глюконеогенеза [1, 57, 58].

Помимо флавопротеинов к генерации перекиси водорода причастны несколько медьсодержащих ферментов (супероксиддисмутаза и др.); восстановительные системы, включающие белки с гемовым и негемовым железом; неохарактеризованные системы, вовлеченные в процессы фагоцитоза, трансмембранного транспорта, термогенеза, фотодыхания, гормонального ответа клеточных мембран, оплодотворения, лигнификации, а также цикл развития простейших.

Генерация перекиси индуцируется в макрофагах пептидом хемотаксиса, С5а-компонентом системы комплемента и инициатором карциногенеза.

Установлено, что нарушение способности к генерации перекиси водорода в полиморфоядерных лейкоцитах (макрофагах) при хроническом грануломатозе повышает восприимчивость к инфекциям, несмотря на нормальную систему комплемента у иммуноглобулинов.

В плазматической мембране показана индукция перекиси водорода эстрогеном и инсулином. Образование H_2O_2 и ее деструкция каталазой — экзэргонические процессы.

Это физическое свойство прекрасно используется у жука-бомбардира. Его железа производит смесь перекиси водорода и гидрохинона, которая в случае опасности впрыскивается во внешнее отделение, содержащее пероксидазу и каталазу; в результате выделяется большое количество тепла и горячего пара.

Холодовая адаптация и поддержание требуемой температуры также предположительно связаны с генерацией перекиси водорода [7, 9].

На основании вышеизложенного очевидно, что к эндогенно образуемой перекиси водорода следует относиться не только как к деструктивному для биологического материала побочному продукту жизнедеятельности, но и как к биологически целесообразному метаболиту.

Каталазная активность каталазы. Как правило, количества каталазы в клетке достаточно, чтобы не позволить небольшому эндогенно генерируемому количеству H_2O_2 проявить потенциальную токсичность.

Однако при летальных и мутагенных дозах ионизирующей радиации, ряде патофизиологических процессов, а также при добавлении экзогенной перекиси водорода образуются короткоживущие радикалы, повреждающие ДНК и вызывающие мутации. В большинстве случаев активация каталазы коррелирует с активацией других ферментных систем.

Летальной дозой для клеток *E. coli* является 5 мМ концентрация перекиси водорода в среде; для клеток *S. typhimurium* — 2,5 мМ. При концентрациях H_2O_2 0,2—1 мМ нарушается рост клеток. Однако предварительная обработка клеток перекисью в концентрации 10—30 мкМ приводит к снижению мутагенного эффекта и позволяет им выжить при дозах перекиси, в 10—20 раз превышающих летальную.

Наблюдается также 2—5-кратное увеличение устойчивости к гамма-облучению, объясняемое как индукцией каталазной активности в 2—4 раза, так и увеличением активности ДНК репаративных систем при предобработке перекисью [59, 60].

Аналогичный процесс наблюдали у еще одной энтеробактерии *S. typhimurium*. В процессах репарации ДНК исключительно важную роль выполняют экзонуклеаза 3 и *RecA*-белок (см. выше).

В условиях окислительного стресса — при наличии губительных концентраций перекиси водорода, повышенного парциального давления кислорода, озонирования, обработки плумбагином и паракватом снижаются как активный, так и пассивный мембранный транспорт протонов, ингибируется синтез предшественников ДНК, РНК, белков. Клетки энтеробактерий, предобработанные низкими дозами перекиси, быстро восстанавливают транспортные функции мембран, процессы ДНК-репликации, транскрипции и трансляции за счет увеличения уровня каталазы и сопряженных репарационных ферментных систем. Тот же эффект наблюдается при экзогенном введении каталазы [45].

Адаптация к H_2O_2 исключительно важна для выживания потенциальных патогенов при выбросах перекиси и супероксиданиона в процессе фагоцитоза этих бактерий активированными гранулоцитами. Обнаружена прямая зависимость между патогенностью бактерий и активностью их каталазы [44, 48].

Известно, что длительный эмоционально-болевой стресс у млекопитающих активирует перекисное окисление липидов в сердце, нервной системе, снижает устойчивость миокарда к токсическому действию перекисных соединений. Установлено, что в процессе адаптации крыс к коротким стрессовым воздействиям резко увеличивается антиоксидантная защита организма (активность каталазы, супероксиддисмутазы, пероксидазы), тем самым уменьшая ишемические и стрессовые повреждения [61].

В эритроцитах каталаза совместно с глутатионпероксидазой и метгемоглобинредуктазой предотвращают накопление метгемоглобина. При присоединении кислорода к гемоглобину образуются перекиси и ряд кислородных радикалов. Установлена корреляция между логарифмом активности каталазы и снижением концентрации метгемоглобина в крови акаталасемических, гипокаталасемических и нормальных мышей. Так как концентрация глутатионпероксидазы достоверно не отличалась в этих группах мышей, сделан вывод о регуляции уровня метгемоглобина, главным образом, за счет активности каталазы [1, 62].

В процессе меланогенеза выделяются перекиси, способные разрушать меланин и его предшественники. Показано, что локус, мутация которого ведет к нарушению пигментации у мышей и человека, кодирует гликопротеин меланосом, идентифицированный как каталаза. Установлено, что мутация затрагивает гем-ассоциирующий домен и вызывает быструю протеолитическую деградацию каталазы. Тем самым доказана роль каталазы в контроле содержания меланина путем разрушения перекиси. Добавление каталазы и тирозиназы (ранее известный фактор пигментации) повышает уровень меланина [63].

Позитивно коррелируют уровни каталазы и азотфиксации [64].

Метаболизм липидов зависит от ряда ферментных систем, а также каталазы, регулируемых при прорастании и созревании семян [13].

Каталаза принимает участие в защите бактерий от повреждающего действия короткого ультрафиолетового облучения. Однако, несмотря на некоторую корреляцию между устойчивостью к действию перекиси и

коротковолновому ультрафиолетовому свету, предполагают различие в механизме действия этих агентов [65, 66].

Пероксидазная активность каталазы. Полагают, что каталазная активность необходима для защиты организма от генерируемой внутриклеточно перекиси водорода, тогда как пероксидазная активность обуславливает специфические окислительные процессы с участием перекиси, приводящие к образованию важных метаболитов. Соотношение каталазной и пероксидазной активностей возрастает при увеличении концентрации перекиси. Пероксидазная активность каталазы увеличивается при высоких концентрациях каталазы и ее субстратов — доноров протонов. При экзогенном введении перекиси в изолированные гепатоциты крысы до 70 % ее усваивалось в каталазной реакции [36].

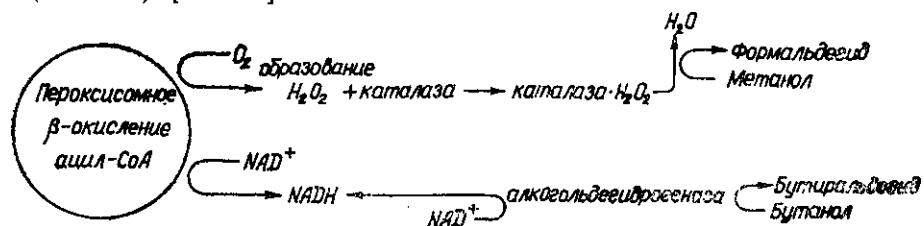
К специфическим метаболическим реакциям каталазы, в которых она проявляет пероксидазную активность, можно отнести, помимо вышеупомянутых, следующие процессы.

1. Активация гуанилатциклазы индуцируется перекисью водорода в присутствии каталазы. Процесс селективно ингибируется инактивацией каталазы, этанолом и метиленовым голубым. Этанол и метиленовый голубой также селективно ингибируют опосредованную сGMP активацию мускариновых рецепторов. Обнаружено расслабление легочной артерии быка при увеличении концентрации сGMP, угнетаемое этанолом и метиленовым голубым. Это означает, что сосудистое расслабление может регулироваться активацией гуанилатциклазы перекисью и каталазой, концентрация которых, в свою очередь, может контролироваться напряжением кислорода в тканях и другими факторами [67].

2. Установлено, что каталаза наряду с цитохромом в присутствии гидразина и формальдегида катализирует образование метилирующих ДНК продуктов: тетраформилтриамина (нейротоксичного бициклического соединения), формальдегидразина и др. Гидразин — мощный мутаген, нейро-, гепато- и нефротоксин, вызывающий карциногенез легких и печени с малоизученным молекулярным механизмом действия. Предполагается, что энзиматический процесс с участием каталазы отличен от известных пероксидазного и каталазного типов активности, поскольку перекись водорода мешает, а присутствие кислорода способствует реакциям метилирования [68].

3. Каталаза осуществляет каталитическую активацию цианамида — ингибитора альдегиддегидрогеназы [69].

4. Показано, что каталаза принимает активное участие в процессе утилизации спиртов наряду с алкогольдегидрогеназой и цитохромом P-450, являясь предпочтительным ферментом при окислении спиртов организмами в голодном состоянии и в присутствии жирных кислот. Метаболизм спиртов в печени с участием алкогольдегидрогеназы является основным при сытом состоянии организма. Если предпочтительными субстратами каталазы являются этанол и метанол, то эффективность окисления субстратов алкогольдегидрогеназой уменьшается в ряду: бутанол, пропанол, этанол. Диета и состав питательных веществ имеют решающее значение для преобладания одного из метаболических путей элиминации спиртов, взаимосвязь которых опосредуется соотношением восстановленной и окисленной форм пиридинового нуклеотида. Увеличение соотношения NADH/NAD⁺ за счет спиртового окисления алкогольдегидрогеназой ингибирует пероксидазный путь окисления спиртов каталазой, так как приводит к снижению содержания перекиси водорода (схема 3) [70—72].



Обнаружено трехкратное увеличение содержания изоферментной формы КАТЗ с повышенной пероксидазной активностью в листьях проростков табака, выдержанных в атмосфере углекислого газа. При этом общая каталазная активность и активность преобладающего изофермента КАТ1 заметно снижались [73].

По мере выяснения все новых процессов в клетке с использованием пероксидазной активности каталазы изменяются представления о физиологической роли фермента.

Физико-химические свойства типичных каталаз. Диссоциация. Типичные каталазы состоят из четырех идентичных субъединиц, каждая из которых содержит геминую простетическую группу. Под воздействием кислот, щелочей, гуанидинхлорида, мочевины, ацетилирующих агентов каталазы диссоциируют до димеров и, далее, до мономеров, утрачивая свою каталазную активность с сохранением пероксидазной активности. В большинстве случаев диссоциация обратима и активность в большой мере восстанавливается. Снижение каталазной активности сочетается с увеличением пероксидазной. Моно-, ди- и тетрамерные формы проявляют пероксидазную активность, в то время как каталазную — лишь тетрамерные [74—76].

Спектральные характеристики. Имеется значительная полоса Соре в области 402—406 нм и серия полос меньшей интенсивности в диапазонах: 500—505; 535—540; 620—635 нм [77].

Влияние рН на каталитическую активность каталазы. Каталитическая активность каталазы не зависит от изменения рН в области 5—10,5 (у каталаз *P. vitale* и *Aspergillus niger* — в области рН 2—7) [77, 78].

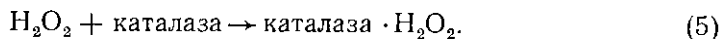
Гидрофобные свойства. Типичные каталазы устойчивы к действию органических растворителей, экстрагируются смесью этанол—хлороформ и связываются с фенол-сефарозой [77, 79, 80].

Стабильность. Большинство типичных каталаз термостабильны. Инкубация каталазы *A. niger* при 70 °С в течение 1 ч не приводит к снижению активности, а в случае бактериальных каталаз *Rhodospirillum rubrum* и *Micrococcus luteus* при инкубации в течение 5 мин при 50 °С обнаружена активация в 1,5—2 раза.

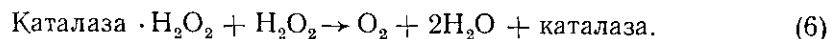
Показана инактивация каталаз H_2O_2 , зависящая от концентрации перекиси, а не фермента, разлагающего перекись, однако у типичных каталаз она невелика при концентрации перекиси около 2 мМ.

Активность фермента снижается в ацетатных и цитратных буферах [78—80].

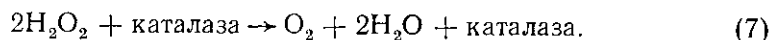
Каталитические свойства типичных каталаз. Механизм катализа. Каталаза — фермент с двойственной каталитической функцией. В случае истинной каталазной реакции фермент ускоряет диспропорционирование молекул перекиси водорода с образованием воды и молекулярного кислорода. Реакция происходит в два этапа с образованием интермедиата, фиксируемого по спектру поглощения и обозначаемого как «соединение 1».



Соединение 1 легко реагирует со второй молекулой перекиси, что приводит к образованию продуктов реакции и регенерации свободной каталазы.

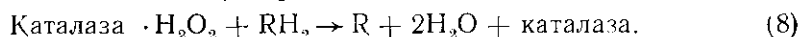


Суммирование этих двух выражений приводит к уравнению, описывающему каталазную активность фермента.



В соответствии с экспериментальными данными эти минимальные схемы будут в дальнейшем расширяться и уточняться за счет выяснения природы, числа и физиологической роли фермент-субстратных интермедиатов.

Кроме того, каталаза способна проявлять пероксидазную активность, в процессе которой соединение 1 вступает в реакции двухэлектронного окисления различных молекул — доноров водорода, тогда как истинные пероксидазы катализируют последовательное двухстадийное одноэлектронное окисление субстратов.



Хорошими субстратами каталазы для этой реакции являются этанол, метанол, диаминобензидин, простые органические гидроперекиси. Следует отметить, что в определенных условиях некоторые пероксидазы также проявляют каталазную активность, однако перекись водорода не является хорошим субстратом для пероксидаз [74, 81—84].

Еще одна форма каталазы — соединение 2 (также спектрально отличаемый комплекс каталазы с перекисью) найдена в тканях. Соединение 2 не способно к каталазной реакции, а лишь к пероксидазной, с последующей регенерацией активной каталазы. При образовании соединения 2 из соединения 1 в процессе одноэлектронного восстановления порфириновое ядро переходит из высоко- в низкоспиновое состояние. Реакцию катализируют аскорбат и цистеин.

Соединение 2 — плохой окислитель для большинства субстратов; существенно, что оно не является промежуточным соединением в двухэлектронном восстановлении субстратами соединения 1.

В силу методических ограничений (несовершенство приборов) ранее предполагалось, что около 40 % каталазы печени находится в виде соединения 1, а остальная часть — в свободном состоянии. Лишь в последние годы было показано, что соединение 2 может превосходить по количеству соединения 1 в тканях и высказано предположение о физиологической роли соединения 2 — участии в пероксидажном окислении одноэлектронных доноров [10, 86, 87].

Субстратная специфичность. Константа скорости разложения соединения 1 в присутствии доноров водорода снижается в ряду: метанол, этанол, пропанол, бутанол, изоамиловый спирт. Для алкильных гидроперекисей и других доноров водорода константа скорости разложения соединения 1 уменьшается по мере возрастания длины углеводородной цепи. Константа скорости образования соединения 1 также снижается с ростом длины радикалов пероксидов в ряду: перекись водорода, метил-, этилгидроперекись [88].

Ингибирование. Каталаза образует обратимые комплексы с цианидом, азидом и фторидом, действующими как ингибиторы каталазной и, в меньшей степени, пероксидазной активности каталазы. Сродство к этим лигандам снижается по мере их депротонирования. Обнаружена конкуренция цианида и перекиси водорода за связывание с Fe гематина. 3-Амино-1,2,4-триазол оказывает немедленное обратимое, а также медленно развивающееся необратимое ингибирование. Аминотриазол малотоксичен в сравнении с цианидом и азидом и поэтому широко используется в экспериментах *in vivo*. Эффект развивается через полтора — несколько часов после инъекции (на 50 % через 75 мин и 97 % за 5 ч). Аминотриазол также инактивирует каталазу *in vitro* в том случае, если перекись добавляется постепенно. При отмывке гемина кислым ацетоном ингибитор остается связанным с белком.

Установлено, что аминотриазол ингибирует каталазу в присутствии перекиси и связывается по месту His74 с соединением 1. Вещества, окисляемые соединением 1, — этанол, соли муравьиной кислоты, пирогаллол, нитриты — предохраняют каталазу от ингибирования, но не могут восстановить активность в случае уже имевшего место угнетения [1, 15, 74, 81, 89, 90].

Обнаружена ингибирующая активность S-метилизотиосемкарбазида с минимальной ингибирующей структурой $>\text{N}-\text{NH}-\text{C}(\text{NH}_2)_2=\text{R}$ [89].

В присутствии перекиси азид, гидразин и гидроксилламин восстанавливают и ингибируют каталазу [1].

Каталаза наряду с супероксиддисмутазой инактивируется озонем [1].

Атипичные каталазы. Помимо типичных гемсодержащих каталаз в последние годы стал известен новый тип бактериальных негемовых каталаз. К ним относятся: Т-каталаза микробактерий, м. м. 160 000, устойчива к аминотриазолу; псевдокаталаза *Lactobacillus plantarum*, отличающаяся от гемсодержащей каталазы из того же источника устойчивостью к азиду, цианиду, металл-хелатирующим агентам и парахлормеркурийбензоату. Последняя содержит 0,8—1,5 атома Mn на одну субъединицу и шесть нековалентно связанных субъединиц с общей м. м. 172 000; отличается по спектру адсорбции (нет компонента спектра, относящегося к гемовому железу); обладает более широкой областью рН, каталитической активности и температурной стабильности. Предположительно активный центр имеет биядерную структуру подобно ферменту из *T. thermophilus* [91].

Необычен субъединичный состав (шесть идентичных субъединиц с общей м. м. 210 000) и структура активного центра в Т-каталазе из *T. thermophilus*. Фермент отличается уникальной температурной стабильностью, сохраняя 85 % активности при прогреве в течение 10 мин при 95 °С. Методом низкотемпературного ЭПР показано наличие в активном центре каждой субъединицы биядерных комплексов Mn. Фермент ингибируется азидом и гидроксиламином. В лигандном окружении идентифицирован атом N, либо входящий в состав ароматического гетероцикла, либо водородносвязанный с гистидиновым гетероциклом [92—94].

Наряду с гемовой, выделена негемовая каталаза из *Micrococcus sp. n.*, м. м. 130 000. Из-за отсутствия перекрестной иммунопреципитации, основываясь на спектральных и других физико-химических характеристиках, можно утверждать о независимом происхождении негемовой каталазы, которая не является продуктом диссоциации, протеолиза и утраты гема гемовым ферментом [95].

Нечувствительна к цианиду каталаза *A. niger*, м. м. 323 000 [96].

Каталаза из *N. crassa* (также с увеличенной м. м. 320 000) содержит необычный гем так называемого хлоринового типа с дигидропорфириновым ядром [97].

В настоящее время на основании вышеизложенных примеров можно говорить о двух группах ферментов, осуществляющих катализ диспропорционирования перекиси водорода: гемовых каталазах, а также немногочисленных бактериальных негемовых и Mn-содержащих каталазах. К их общим чертам можно отнести высокое число оборотов, двухстадийность реакции с участием на каждой стадии одной молекулы перекиси, ингибирование анионами. Основным отличием, вытекающим из природы активного центра, является отсутствие ингибирующего эффекта цианида [94].

Обнаружен также целый ряд атипичных гемовых каталаз, по ряду свойств аналогичных типичным.

К этой группе ферментов можно отнести гемсодержащую димерную бромпероксидазу-каталазу *Str. venezuellae*, м. м. 127 000, которая подобно типичным каталазам устойчива к дитиониту Na, обладает гидрофобными свойствами и ингибируется аминотриазолом [98].

Гемовая каталаза-пероксидаза *Eritrobacter sp.* OCH 114 также состоит из двух субъединиц (м. м. 145 000) [99].

Обнаружена каталаза грам-отрицательной бактерии *Vitreoscilla* с субъединичным строением АВ, м. м. фермента 272 000, субъединиц — 68 000 и 64 000. Среднее содержание протогема — 1,6 молекулы/тетрамер. В отличие от типичных каталаз легко восстанавливается дитионитом Na [100].

Гидропероксидазы *E. coli* HP1 и HP2 имеют несвойственный каталазам аминокислотный состав. HP1 (м. м. 312 000) обладает необычным спектром, а HP2 (м. м. 337 000) содержит всего два гема на тетрамер. Еще одна гидропероксидаза *E. coli* (м. м. 532 000) состоит из шести субъединиц и обладает нестандартным по спектральным характе-

ристикам гемом d-типа, аналогичным гему каталазы НРЗ из *Comamonas compransoris* [35, 101—104].

Каталазы-пероксидазы *Chromatium vinosum* и *Rhodopseudomonas capsulata* близки по некоторым физико-химическим показателям каталазам *E. coli* (быстро инактивируются перекисью, органическими растворителями, восстанавливаются дитионитом Na, обладают широкой пероксидазной активностью), а по ряду свойств — типичным каталазам [77].

На основании многочисленных физико-химических и каталитических особенностей (молекулярная масса, субъединичное строение, тип и количество простетических групп, спектральные характеристики, термостабильность, чувствительность к органическим растворителям, перекиси водорода, устойчивость к аминотриазолу и т. д.) было предложено выделить новый класс ферментов — гидропероксидаз, — обладающих промежуточными свойствами каталаз и пероксидаз. К ним следует отнести вышеперечисленные ферменты [77, 79, 104].

Гидропероксидазы характеризуются пероксидазной активностью широкого диапазона, большим, чем у каталаз, спектром молекулярных масс, а также разнообразием физико-химических свойств, субъединичного состава, типов и количества простетических групп. К отличительным особенностям этой группы ферментов по сравнению с типичными каталазами можно также отнести рН-зависимость каталитической активности, термочувствительность, инактивацию органическими растворителями и перекисью водорода при ее низких концентрациях (вследствие более легкого перехода соединения 1 в соединение 2), пониженную чувствительность к аминотриазолу, сдвиг главного оптического максимума в видимой области (532 нм) к таковому у пероксидаз, что может свидетельствовать о связи гема с имидазолом, а не с тирозин-фенолятом, как у типичных каталаз. Пониженное содержание гема (1—2,5 гема на молекулу) может указывать на его утрату при очистке фермента и менее прочное связывание вследствие поверхностной локализации. У типичных каталаз гем глубоко погружен в глобулу каждой субъединицы, у пероксидаз — близок к поверхности. Глубинное и поверхностное расположение гема, видимо, одно из основных структурных различий типичных каталаз и каталаз-пероксидаз, которые ближе в этом отношении к пероксидазам. Возможны также отличия в структуре активного центра, в наличии His74 и его ближайшего окружения. Из подобных структурных различий должна вытекать и различная субстратная специфичность. Так, у типичных каталаз доступ субстратов к простетической группе стерически селективен (субстрат должен проникнуть через значительный туннель). Если типичные каталазы обнаруживают пероксидазную активность только при низких концентрациях перекиси и с небольшим количеством субстратов, то каталазы-пероксидазы проявляют широкую пероксидазную активность с различными донорами электронов: пирогаллолом, катехолом, *n*-фенилендиамином, гваяколом, дианизидином, диаминобензидином и др. Вследствие различной субстратной специфичности каталазы и пероксидазы можно дифференцированно окрашивать в ПААГ. Еще одной существенной особенностью гидропероксидаз и пероксидаз является подверженность восстановлению дитионитом Na и рядом других агентов. Типичные каталазы не восстанавливаются дитионитом Na. Неясно, что является защитным фактором: стерические условия, термодинамические или кинетические причины. Возможно, Fe образует фенолят с тирозином, стабилизируя нативное состояние белковой глобулы [77, 97, 101, 102].

Практическое использование каталазы. Использование фермента в промышленном производстве. В пищевой промышленности в большинстве случаев использование глюкозооксидазы в качестве антиоксиданта и для обессахаривания при хранении продуктов, стабилизации вин, безалкогольных напитков, соков, жировых и мясо-молочных продуктов должно осуществляться в комплексе с каталазой. Применение каталазы при холодной стерилизации молока, сыра,

яиц обеспечивает получение более высококачественных продуктов. Препараты каталазы также могут быть полезными в ряде процессов химической промышленности, связанных с использованием перекиси водорода: отбеливание материалов, органический синтез, полимеризация каучука, получение пористых материалов.

Сравнение препаратов каталазы *P. vitale* с каталазами, выделенными из других источников, дает основание вследствие наличия комплекса ценных технологических свойств отдать предпочтение первым для широкого применения в различных отраслях народного хозяйства [105].

При использовании сырых и консервированных мясных продуктов с применением молочнокислых бактерий установлено, что введение в среду гематина либо повышенный уровень активности каталазы у штаммов молочнокислых бактерий улучшало качество продукции, ее гигиенические и вкусовые характеристики [106].

Различные формы препаратов каталазы для практического применения. В практике используют следующие методические приемы для предотвращения быстрой инактивации каталазы и пролонгирования ее ферментативной активности: 1) включение каталазы в полупроницаемую микрокапсулу диаметром 20 нм, при этом субстраты поступают в микрокапсулу путем диффузии. Указанный способ может быть использован для терапии болезней при ферментативной недостаточности [107]; 2) включение каталазы в стабильные обращенные мицеллы, что позволяет использовать ее активность в органических и смешанных водно-органических средах [108]; 3) включение каталазы в липосомы; 4) образование высокомолекулярных конъюгатов каталазы с полиэтиленгликолем — еще одна форма медикаментозного введения каталазы с продлением времени активности [109].

Для практического применения каталазы, а также с диагностической целью целесообразно использование автоматического анализатора, действие которого основано на измерении пероксидазной активности [110].

Патологические процессы, связанные с недостаточностью каталазы в организме. В 1946 г. впервые у японских пациентов была описана редкая аутомная рецессивная недостаточность каталазы (1—3 % от нормы), затрагивающая все ткани и проявляющаяся в рецидивирующих некрозах, гангрене, грануломатозных повреждениях носоглоточной и гайморовой полостей, миндалин, что делает необходимым трахеотомию. Оральные язвы могут приводить к потере зубов в возрасте 13 лет [1].

Болезнь встречается в Корее, Японии, Израиле, Швейцарии. Японский и швейцарский типы акаталасемии биохимически различны. При исследовании молекулярных повреждений мутантного гена в случае японского типа акаталасемии были обнаружены замены нескольких оснований по сравнению с нормальным геном. В их числе замена G на A в 5-й позиции 4-го интрона (мутация сплайсинга), приводящая к аномальному сплайсингу мРНК и являющаяся основной причиной акаталасемии. Остаточная каталаза неотличима по молекулярной массе, изоэлектрической точке, термостабильности от нормального фермента, в то время как каталаза при швейцарском типе акаталасемии отличается большей электрофоретической подвижностью, термолабильностью, а также повышенной скоростью деградации. Предположительно, японский тип акаталасемии — результат повреждений в синтезе белка, швейцарский — следствие точечных мутаций и замены важной аминокислоты. Поскольку в швейцарском типе акаталасемии каталаза нестабильна, то наибольшее снижение ее активности наблюдается в эритроцитах, где нет синтеза белков. В печени и ретикулоцитах уровень фермента значителен. В культуре клеток акаталасемических эритроцитов уровень мРНК такой же, как и в нормальных клетках.

При японском типе акаталасемии отмечается недостаток фермента во всех тканях. В культуре клеток акаталасемических фибробластов

этого типа не детектируется как уровень мРНК, гибридирующей с cat кДНК, так и продукта трансляции. Аномально сплайсированный транскрипт весьма часто нестабилен и деградирует, не накапливаясь, что согласуется с отсутствием детектируемого уровня мРНК в акаталасемических клетках по японскому типу. Механизм нарушения сплайсинга при замене G на A остается неизвестным. Возможно, это определяется участием в сплайсинге РНП-частиц и нарушением эффективности их связывания [111—113].

При практически полной утрате каталазной активности акаталасемия человека и мышц почти не сказывается на пероксидазной активности. Выживание гомо- и гетерозиготных особей со следовыми количествами каталазной активности, очевидно, связано с принятием на себя функции каталазы другими ферментными системами. В этом аспекте показательны данные, свидетельствующие о том, что у мутантных дрожжей, дефектных по способности синтезировать каталазу и утилизирующих метанол с образованием перекиси водорода, по мере возрастания концентрации метанола в среде увеличивается интенсивность биосинтеза митохондриальной цитохром-с-пероксидазы. Перекись, образуемая в пероксисомах в процессе окисления метанола, диффундирует в митохондрии, где распределяется и, следовательно, не накапливается в летальной дозе [75, 114].

Интересно, что утки — генетически акаталасемичны и не имеют выраженной гемолитической анемии [75].

Наиболее актуальным и злободневным является использование каталазы в отдельности или совместно с другими ферментами (супероксиддисмутазой) для терапии заболеваний, требующих эффективного изъятия кислородных радикалов.

Список подобных процессов у человека и животных постоянно увеличивается и приближается к 100 наименованиям в следующих патологиях: сердечно-сосудистые заболевания (инфаркты и др.); ревматоидные заболевания (предложена терапия артритов амидированной по С-концу каталазой с увеличенным временем жизни и множественным фиксированием такой катионной формы каталазы — анионными компонентами хряща); воспалительные процессы; аллергии; кислородная токсичность новорожденных; болезни ЦНС и вегетативной нервной системы; пластическая хирургия; шоковые состояния, сопровождающиеся сосудистой коагуляцией и тромбообразованием; желудочно-кишечные заболевания (язвы); глазные болезни; онкология; отоларингология.

Разработаны различные формы медикаментозного введения каталазы и получены в ряде случаев устойчивые терапевтически положительные результаты, недостижимые при классических схемах терапии [109].

При болезни Паркинсона установлено снижение пероксидазной и каталазной активности в тканях нервной системы [10].

Известно об эффекте сниженной каталазной активности печени при наличии гепатомы или опухоли в другом типе ткани. Многочисленные экспериментальные данные и математический анализ результатов позволяют утверждать о наличии корреляции каталазной недостаточности и онкогенеза, что имеет огромную прогностическую ценность. Пониженная каталазная активность в биопсии может быть использована как маркер предонкогенного состояния, что гораздо предпочтительнее идентификации опухолевых клеток [115].

На основании вышеизложенной информации можно предположить, что в ближайшем будущем произойдет наращивание объема выпуска препаратов каталазы как в виде индивидуального фермента, так и в сочетании ее с другими ферментами для использования с терапевтическими и прогностическими целями в медицине, а также в промышленности.

Результаты исследований, обобщенных в обзоре, свидетельствуют о постепенном (по мере накопления новых данных) повышении внимания и интереса к каталазе как к ферменту, катализирующему одну из

ключевых реакций в клеточном метаболизме кислорода — разложение перекиси водорода, а также целый ряд существенных для метаболизма окислительно-восстановительных реакций с участием перекиси водорода и других субстратов.

Summary. In the present review the data concerning intracellular localization of catalases isolated from different sources are considered; the presence of isoenzymes, advantages and possible reasons of their formation are also discussed.

Peculiarities of the enzyme biogenesis and transport are taken into account. Moreover, the factors affecting the cellular catalase activity are examined.

Quite a number of data concerning physicochemical and catalytic properties of the enzyme and intracellular processes in which the catalase plays a significant role, are summarized.

Examples of the atypical catalases intermediate between catalases and peroxidases are presented.

The possibilities of catalase application in medicine and food industry are reviewed.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Deisseroth A., Dounce A. L.* Catalase: physical and chemical properties, mechanism of catalysis and physiological role // *Physiol. Rev.*—1970.—**50**, N 3.—P. 319—375.
2. *Фрей-Вислинг А.* Сравнительная органеллография цитоплазмы.—М.: Мир, 1976.—144 с.
3. *Gould S. J., Keller G. A., Schneider M. et al.* Peroxisomal protein import is conserved between yeast, plants, insects and mammals // *EMBO J.*—1990.—**9**, N 1.—P. 85—90.
4. *Thieringer R., Shio H., Han Y. S. et al.* Peroxisomes in *Saccharomyces cerevisiae*: immunofluorescence analysis and import of catalase A into isolated peroxisomes // *Mol. and Cell. Biol.*—1991.—**11**, N 1.—P. 510—523.
5. *Хомутовский О. А., Никольска О. О., Гудкова Л. В.* Ультраструктура *Penicillium vitale* Pidopl. et Bilai — продуцента каталазы та глюкозооксидазы // *Микробиол. журн.*—1977.—**39**, № 6.—С. 696—701.
6. *Baudhuin P., Beaufay H., Rahman-Li Y. et al.* Tissue fractionation studies. 17. Intracellular distribution of monoamine oxidase, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, D-amino acid oxidase and catalase in rat-liver tissue // *Biochem. J.*—1964.—**92**, N 1.—P. 179—184.
7. *Ruis H.* The biosynthesis of catalase // *Canad. J. Biochem.*—1979.—**57**, N 9.—P. 1122—1130.
8. *Furuta S., Hayashi H.* Purification and properties of recombinant rat catalase produced in *Escherichia coli* // *J. Biochem.*—1990.—**107**, N 5.—P. 708—713.
9. *Ramasarma T.* Generation of H₂O₂ in biomembranes // *Biochim. et biophys. acta.*—1982.—**694**, N 1.—P. 69—93.
10. *Cohen G.* Catalase, glutathione peroxidase, superoxide dismutase and cytochrome P-450 // *Handbook of neurochem. Second edition.*—Vol. 4.—1983.—P. 315—330.
11. *Jouve H. M., Lasauniere C., Pelmont J.* Properties of a catalase from a peroxide-resistant mutant of *Proteus mirabilis* // *Can. J. Biochem. and Cell Biol.*—1983.—**61**, N 11.—P. 1219—1227.
12. *Heimberger A., Eisenstark A.* Compartmentalization of catalases in *Escherichia coli* // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*—1988.—**154**, N 1.—P. 392—398.
13. *Gonzalez E., Harley S. M., Brush M. D.* Purification of glyoxysomal polypeptides, immunocharacterization and subcellular localization of catalase in maturing and germinated castor bean seeds // *Protoplasma.*—1990.—**156**, N 3.—P. 130—138.
14. *Jones G. L., Masters C. J.* On the synthesis and degradation of the multiple forms of catalase in mouse liver // *Arch. Biochem. and Biophys.*—1974.—**161**, N 2.—P. 601—609.
15. *Jones G. L., Masters C. J.* On the turnover and proteolysis of catalase in tissues of the Guinea pig and acatalasemic mice // *Ibid.*—1976.—**173**, N 2.—P. 463—471.
16. *Robbi M., Lazarow P. B.* Synthesis of catalase in two cell-free protein-synthesizing systems and in rat liver // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1978.—**75**, N 9.—P. 4344—4348.
17. *Crane D., Holmes R., Masters C.* Proteolytic modification of mouse liver catalase // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*—1982.—**104**, N 4.—P. 1567—1572.
18. *Mainferme F., Wattiaux R.* Effect of lysosomes on rat-liver catalase // *Eur. J. Biochem.*—1982.—**127**, N 2.—P. 343—346.
19. *Kendall A. C., Keys A. J., Turner J. C. et al.* The isolation and characterization of a catalase-deficient mutant of barley (*Hordeum vulgare L.*) // *Planta.*—1983.—**159**, N 6.—P. 505—511.
20. *Yamaguchi J., Nishimura M., Akazawa T.* Maturation of catalase precursor proceeds to a different extent in glyoxysomes and leaf peroxisomes of pumpkin cotyledons // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1984.—**81**, N 15.—P. 4809—4813.

21. Yamaguchi J., Nishimura M., Akazawa T. Purification and characterization of heme-containing low-activity form of catalase from greening pumpkin cotyledons // *Eur. J. Biochem.*—1986.—159, N 2.—P. 315—322.
22. Skadsen R. W., Scandalios J. G. Evidence for processing of maize catalase 2 and purification of its messenger RNA aided by translation of antibody-bound polysomes // *Biochemistry.*—1986.—25, N 8.—P. 2027—2032.
23. Redinbaugh M. G., Wadsworth G. J., Scandalios J. G. Characterization of catalase transcripts and their differential expression in maize // *Biochim. et biophys. acta.*—1988.—951.—P. 104—116.
24. Yamaguchi J., Nishimura M., Akazawa T. Distribution of 59- and 55-kDa catalase in dark- and light-grown pumpkin and various other plant tissues // *Plant and Cell Physiol.*—1987.—28, N 2.—P. 219—226.
25. Weiting N., Trelease R. N., Eising R. Two temporally synthesized charge subunits interact to form the five isoforms of cottonseed catalase // *Biochem. J.*—1990.—269, N 1.—P. 233—238.
26. Kunce C. M., Trelease R. N. Heterogeneity of catalase in maturing and germinated cotton // *Plant Physiol.*—1986.—81, N 4.—P. 1134—1139.
27. Kunce C. M., Trelease R. N., Turley R. B. Purification and biosynthesis of cottonseed (*Gossypium hirsutum* L.) catalase // *Biochem. J.*—1988.—251, N 1.—P. 147—155.
28. Havir E. A., McHale N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves // *Plant Physiol.*—1987.—84, N 2.—P. 450—455.
29. Eising R., Trelease R. N., Weiting N. Biogenesis of catalase in glyoxysomes and leaf-type peroxisomes of sunflower cotyledons // *Arch. Biochem. and Biophys.*—1990.—278, N 1.—P. 258—264.
30. Loewen P. C., Switala J. Genetic mapping of katA, a locus that affects catalase I levels in *Bacillus subtilis* // *J. Bacteriol.*—1987.—169, N 12.—P. 5848—5851.
31. Loewen P. C., Switala J. Multiple catalases in *Bacillus subtilis* // *Ibid.*—N 8.—P. 3601—3607.
32. Loewen P. C., Switala J. Purification and characterization of catalase I from *Bacillus subtilis* // *Biochem. and Cell Biol.*—1987.—65, N 11.—P. 939—948.
33. Loewen P. C. Genetic mapping of katB, a locus that affects catalase 2 levels in *Bacillus subtilis* // *Can. J. Microbiol.*—1989.—35, N 8.—P. 807—810.
34. Zimniak P., Hartter E., Woloszczuk W., Ruis H. Catalase biosynthesis in yeast: formation of catalase A and catalase T during oxygen adaptation of *Saccharomyces cerevisiae* // *Eur. J. Biochem.*—1976.—71.—P. 393—398.
35. Loewen P. C., Triggs B. L., George C. S., Hrabarchuk B. E. Genetic mapping of katG, a locus that affects synthesis of the bifunctional catalase-peroxidase hydroperoxidase 1 in *Escherichia coli* // *J. Bacteriol.*—1985.—162, N 2.—P. 661—667.
36. Jones D. P. Intracellular catalase function: analysis of the catalytic activity by product formation in isolated liver cells // *Arch. Biochem. and Biophys.*—1982.—214, N 2.—P. 806—814.
37. Ueda M., Okada M., Hishida T. et al. Isolation of several cDNAs encoding yeast peroxisomal enzymes // *FEBS Lett.*—1987.—220.—P. 31—35.
38. Bethards L. A., Skadsen R. W., Scandalios J. G. Isolation and characterization of a cDNA clone for the cat2 gene in maize and its homology with other catalases // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1987.—84.—P. 6830—6834.
39. Acevedo A., Williamson J. D., Scandalios J. G. Photoregulation of the cat2 and cat3 catalase genes in pigmented and pigment-deficient maize. The circadian regulation of cat3 is superimposed on its quasi-constitutive expression in maize leaves // *Genetics.*—1991.—127, N 3.—P. 601—609.
40. Goldman B. M., Blobel G. Biogenesis of peroxisomes: intracellular site of synthesis of catalase and uricase // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1978.—75, N 10.—P. 5066—5070.
41. Loewen P. C. Isolation of catalase-deficient *Escherichia coli* mutants and genetic mapping of katE, a locus that affects catalase activity // *J. Bacteriol.*—1984.—157, N 2.—P. 622—626.
42. Whiteside C., Hassan H. Induction and inactivation of catalase and superoxide dismutase of *Escherichia coli* by ozone // *Arch. Biochem. and Biophys.*—1987.—257, N 2.—P. 467—471.
43. Winkler H., Adam G., Mattes E. et al. Coordinate control of synthesis of mitochondrial and nonmitochondrial hemoproteins: a binding site for the HAP 1 (CYP 1) protein in the VAS region of the yeast catalase T gene (ctt1) // *EMBO J.*—1988.—7, N 6.—P. 1799—1805.
44. Hortner H., Ammerer G., Hartter E. et al. Regulation of synthesis of catalases and iso-1-cytochrome c in *Saccharomyces cerevisiae* by glucose, oxygen and heme // *Eur. J. Biochem.*—1982.—128.—P. 179—184.
45. Christman M. F., Morgan R. F., Jacobson F. S., Ames B. N. Positive control of a regulon for defences against oxidative stress and some heat shock proteins in *Salmonella typhimurium* // *Cell.*—1985.—41, N 3.—P. 753—762.
46. Farr S. B., Touati D., Kogoma T. Effects of oxygen stress on membrane functions in *Escherichia coli*: role of HP 1 catalase // *J. Bacteriol.*—1988.—170, N 4.—P. 1837—1842.

47. Carlsson J., Carpenter W. S. The recA gene product is more important than catalase and superoxide dismutase in protecting *Escherichia coli* against hydrogen peroxide toxicity // *Ibid.*—1980.—142, N 1.—P. 319—321.
48. Shuji Yonei, Reiko Yokota, Yoshihumi Sato. The distinct role of catalase and DNA repair systems in protection against hydrogen peroxide in *Escherichia coli* // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*—1987.—143, N 2.—P. 638—644.
49. Richter H. E., Loewen P. C. Induction of catalase in *Escherichia coli* by ascorbic acid involves hydrogen peroxide // *Ibid.*—1981.—100, N 3.—P. 1039—1046.
50. Gould S. J., Keller G. A., Hosken N. et al. A conserved tripeptide sorts proteins to peroxisomes // *J. Cell. Biol.*—1989.—108, N 5.—P. 1657—1664.
51. Fujiki Y., Lazarow P. B. Post-translational import of fatty Acyl-CoA oxidase and catalase into peroxisomes of rat liver *in vitro* // *J. Biol. Chem.*—1985.—260, N 9.—P. 5603—5609.
52. Gutteridge J. M. C., Beard A. P. C., Quinter G. J. Superoxide-dependent lipid peroxidation. Problems with the use of catalase as a specific probe for fenton-derived hydroxyl radicals // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*—1983.—117, N 3.—P. 901—908.
53. Пирожков С. В., Панченко Л. Ф. Внутриклеточные перекисные процессы при хронической алкогольной интоксикации // *Укр. биохим. журн.*—1989.—61, № 4.—С. 3—16.
54. Fridovich I. The biology of oxygen radicals // *Science.*—1978.—201, N 4359.—P. 875—879.
55. Ananthaswamy H. N., Eisenstark A. Repair of hydrogen peroxide-induced single-strand breaks in *Escherichia coli* DNA // *J. Bacteriol.*—1977.—130, N 1.—P. 187—191.
56. Singh S. P., Kesavan P. S. Protection against post-irradiation oxygen-dependent damage in barley seeds by catalase and hydrogen peroxide: probable radiation chemistry // *Ind. J. Exp. Biol.*—1990.—28, N 6.—P. 566—572.
57. De Duve C., Baudhuin P. Peroxisomes (microbodies and related particles) // *Physiol. Rev.*—1966.—46, N 2.—P. 323—357.
58. Halliwell B. Oxidation of formate by peroxisomes and mitochondria from spinach leaves // *Biochem. J.*—1974.—138, N 1.—P. 77—85.
59. Winquist L., Rannug U., Ramel C. Protection from toxic and mutagenic effects of hydrogen peroxide by catalase induction in *Salmonella typhimurium* // *Mutat. Res.*—1984.—141, N 3/4.—P. 145—147.
60. Demple B., Halbrook J. Inducible repair of oxidative DNA damage in *Escherichia coli* // *Nature.*—1983.—304, N 5925.—P. 466—468.
61. Сазонгова Т. Г., Архипенко Ю. В., Меерсон Ф. З. Увеличение активности ферментов антиоксидантной защиты сердца при адаптации крыс к коротким стрессовым воздействиям // *Бюл. эксперим. биологии и медицины.*—1987.—104, № 10.—С. 411—413.
62. Kobayashi H. Relationship between catalase activity and methemoglobin concentration in the blood of acatalasemic, homozygous hypocatalasemic and normal mice // *Окаяма игаккай дзасси.*—1987.—99, N 3—4.—P. 389—401.
63. Halaban R., Moellmann G. Murine and human *b* locus pigmentation genes encode a glycoprotein (gp 75) with catalase activity // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1990.—87, N 12.—P. 4809—4813.
64. Lorenzo C., Lucas M. M., Vivo A., De Felipe M. P. Effect of nitrate on peroxisome ultrastructure and catalase activity in nodules of *Lupinus albus L. cv. multolupa* // *J. Exp. Bot.*—1990.—41, N 233.—P. 1573—1579.
65. Imlay J. A., Linn S. Mutagenesis and stress responses induced in *Escherichia coli* by hydrogen peroxide // *J. Bacteriol.*—1987.—169, N 7.—P. 2967—2976.
66. Eisenstark A., Perrot G. Catalase has only a minor role in protection against near-ultraviolet radiation damage in bacteria // *Mol. and Gen. Genet.*—1987.—207, N 1.—P. 68—72.
67. Wolin M. S., Burke T. M. Hydrogen peroxide elicits activation of bovine pulmonary arterial soluble guanylate cyclase by a mechanism associated with its metabolism by catalase // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*—1987.—143, N 1.—P. 20—25.
68. Lambert C. E., Shank R. C. Role of formaldehyde hydrazone and catalase in hydrazine-induced methylation of DNA guanine // *Carcinogenesis.*—1988.—9, N 1.—P. 65—70.
69. De Master E. G., Shirota F. M., Nagasawa H. T. The metabolic activation of cyanamide to an inhibitor of aldehyde dehydrogenase is catalyzed by catalase // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*—1984.—122, N 1.—P. 358—365.
70. Handler J. A., Thurman R. G. Hepatic ethanol metabolism is mediated predominantly by catalase-hydrogen peroxide in the fasted state // *FEBS Lett.*—1988.—238, N 1.—P. 139—141.
71. Thurman R. G., Handler J. A. New perspectives in catalase-dependent ethanol metabolism // *Drug. Metab. Rev.*—1989.—20, N 2—4.—P. 679—688.
72. Handler J. A., Thurman R. G. Redox interactions between catalase and alcohol dehydrogenase pathways of ethanol metabolism in the perfused rat liver // *J. Biol. Chem.*—1990.—265, N 3.—P. 1510—1516.
73. Havir E. A., McHale N. A. Regulation of catalase activity in leaves of *Nicotiana glauca* by high CO₂ // *Plant Physiol.*—1989.—89, N 3.—P. 952—957.
74. Yamazaki I. Catalase // *Metalloproteins: Chem. Prop. and Biol. Eff.*—Tokyo; Amsterdam etc, 1988.—P. 224—229.

75. Srivastava S. K., Ansari N. H. The peroxidatic and catalatic activity of catalase in normal and acatalasemic mouse liver // *Biochem. et biophys. acta.*—1980.—633, N 3.—P. 317—322.
76. Takeda Atsushi, Hirano Kouichi, Shiroya Yoko, Samejima Tatsuya. On the denaturation of porcine erythrocyte catalase with alkali, urea, and guanidine hydrochloride in relation to its subunit structure // *J. Biochem.*—1983.—93, N 4.—P. 967—975.
77. Hochman A., Shemesh A. Purification and characterization of a catalase-peroxidase from the photosynthetic bacterium *Rhodospseudomonas capsulata* // *J. Biol. Chem.*—1987.—262, N 14.—P. 6871—6876.
78. Scott D., Hummer F. Properties of *Aspergillus catalase* // *Enzymologia.*—1960.—22, N 4.—P. 229—237.
79. Nadler V., Goldberg I., Hochman A. Comparative study of bacterial catalases // *Biochim. et biophys. acta.*—1986.—882, N 2.—P. 234—241.
80. Isao Yamoto, Yoshihiro Fukumori, Tateo Yamanaha. Purification and characterization of catalase from a facultative alkalophilic *Bacillus* // *J. Biochem.*—1990.—108.—P. 583—587.
81. Oshino N., Oshino R., Chance B. The characteristics of the peroxidatic reaction of catalase in ethanol oxidation // *Biochem. J.*—1973.—131, N 3.—P. 555—567.
82. Прайр Д. Методы и достижения бионеорганической химии.—М.: Мир, 1978.—133 с.
83. Mordechai K. L. Mechanism of catalase action // *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*—1983.—79, N 9.—P. 2125—2133.
84. Frew J. E., Jones P. Structure and functional properties of peroxidases and catalases // *Adv. Inorg. and Bioinorg. Mech.*—1984.—3.—P. 175—212.
85. Chance B., Oshino N. Kinetics and mechanisms of catalase in peroxisomes of the mitochondrial fraction // *Biochem. J.*—1971.—122, N 2.—P. 225—233.
86. Yutaka Orii, Yoshihary Sakai, Kazue Ozawa. Ubiquitous formation of catalase compound 2 in hemoglobin-free perfused rat liver and detection of novel spectral species // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*—1989.—162, N 3.—P. 1272—1279.
87. Woei-Jer Chuang, Heldt J., Van Wart H. E. Resonance Raman spectra of bovine liver catalase compound 2. Similarity of the heme environment to horseradish peroxidase compound 2 // *J. Biol. Chem.*—1989.—264, N 24.—P. 14209—14215.
88. Aebi H. Catalase // *Meth. of enzymatic anal.*—New York: Acad. press, 1963.—P. 885—895.
89. Margoliash E., Novogradsky A., Schejter A. Irreversible reaction of 3-amino-1,2,4-triazole and related inhibitors with the protein of catalase // *Biochem. J.*—1960.—74.—P. 339—348.
90. Chang J. W., Schroeder W. A. Reaction of 3-amino-1,2,4-triazole with bovine liver catalase and human erythrocyte catalase // *Arch. Biochem. and Biophys.*—1972.—148.—P. 505—508.
91. Johnston M. A., Delwiche E. A. Isolation and characterization of the cyanide-resistant and azide-resistant catalase of *Lactobacillus plantarum* // *J. Bacteriol.*—1965.—90, N 2.—P. 352—356.
92. Хангулов С. В., Барынин В. В., Мелик-Адамян В. Р. и др. Исследование Т-катализы *Thermus thermophilus* методом ЭПР // *Биоорг. химия.*—1986.—12, № 6.—С. 741—747.
93. Хангулов С. В., Воеводская Н. В., Барынин В. В. и др. Связь парамагнитных характеристик активного центра Т-катализы с природой лигандов и окислительно-восстановительным состоянием ионов марганца // *Биофизика.*—1987.—32, № 6.—С. 960—966.
94. Хангулов С. В., Андреева Н. Е., Герасименко В. В. и др. Марганецсодержащая катализа: катализ на биядерных кластерах марганца // *Журн. физ. химии.*—1990.—64, № 1.—С. 17—24.
95. Прозоровский В. Н., Романцев Ф. Е., Гребенщикова О. Г. и др. Физико-химические характеристики катализ из *Micrococcus Sp. N.* // *Биохимия.*—1984.—49, № 2.—С. 209—215.
96. Youve H. M., Tessier S., Pelmant J. J. Purification and properties of the *Proteus mirabilis catalase* // *Can. J. Biochem. and Biol.*—1983.—61, N 1.—P. 8—15.
97. Jacob G. S., Orme-Johnson W. H. Catalase of *Neurospora crassa*. I. Induction, purification and physical properties // *Biochemistry.*—1979.—18, N 14.—P. 2967—2975.
98. Khoch M., Van Pee K-H., Vining L. C., Lingens F. Purification, properties and immunological detection of a bromoperoxidase-catalase from *Streptomyces venezuelae* and from a chloramphenicol-nonproducing mutant // *J. Gen. Microbiol.*—1989.—135, N 9.—P. 2493—2502.
99. Morita H., Takamiya K. A catalase in an aerobic photosynthetic bacterium, *Erythrobacter sp. och 114* // *Physiol. plantarum.*—1989.—76, N 3.—P. 47.
100. Abrams J. J., Webster D. A. Purification, partial characterization and possible role of catalase in the *Bacterium vitreoscilla* // *Arch. Biochem. and Biophys.*—1990.—279, N 1.—P. 54—60.
101. Claiborne A., Fridovich I. Purification of the O-Dianisidine peroxidase from *Escherichia coli B*. Physicochemical characterization and analysis of its dual catalatic and peroxidatic activities // *J. Biol. Chem.*—1979.—254, N 10.—P. 4245—4252.
102. Claiborne A., Malinowski D. P., Fridovich I. Purification and characterization of hydroperoxidase 2 of *Escherichia coli B* // *Ibid.*—N 22.—P. 11664—11668.

103. *Loewen P. C., Switala J.* Purification and characterization of catalase HP2 from *Escherichia coli* K 12 // *Can. J. Biochem. and Cell Biol.*—1986.—64.—P. 638—646.
104. *Triggs-Raine B. L., Doble B. W., Mulvey M. R. et al.* Nucleotide sequence of kat G, encoding catalase HPI of *Escherichia coli* // *J. Bacteriol.*—1988.—170, N 9.—P. 4415—4419.
105. *Ферменты в медицине, пищевой промышленности и сельском хозяйстве.*—Киев: Наук. думка, 1968.—С. 141—216.
106. *Wolf G., Hammes W. P.* Effect of hematin on the activities of nitrite reductase and catalase in lactobacilli // *Arch. Microbiol.*—1988.—149, N 3.—P. 220—224.
107. *Lang i. M. S., Poznansky M. J.* Semipermeable microcapsules containing catalase for enzyme replacement in acatalasaemic mice // *Nature.*—1968.—218, N 5138.—P. 243—245.
108. *Артемчик В. Д., Еремич А. Н., Метелица Д. И.* Каталитические свойства и стабильность каталазы в обращенных мицеллах аэрозоля ОТ в октане // *Биохимия.*—1990.—55, № 2.—С. 293—299.
109. *Greenwald R. A.* Superoxide dismutase and catalase as therapeutic agents for human diseases: a critical review // *Free Radical Biol. and Med.*—1990.—8, N 2.—P. 201—209.
110. *Wheeler C. R., Salzman J. A., Elsayd N. M.* Automated assays for superoxide dismutase, catalase, glutation peroxidase and glutation reductase activity // *Anal. Biochem.*—1990.—184, N 2.—P. 193—200.
111. *Ogata M., Satoh Y.* Isoelectric focusing of catalase from acatalasemic mouse and human blood and cultured human skin fibroblast // *Electrophoresis.*—1988.—9, N 3.—P. 128—132.
112. *Alonso A., Viscado G., Sancho M., Fernandez-Piqueras J.* Characterization of human catalase by isoelectric focusing in presence of urea // *Ibid.*—1990.—11, N 8.—P. 635—638.
113. *Wen J.-K., Osumi T., Hashimoto T., Ogata M.* Molecular analysis of human acatalasemia. Identification of a splicing mutation // *J. Mol. Biol.*—1990.—211, N 2.—P. 383—393.
114. *Verduyn C., Gluseppin M. L. F., van Dijken J. P.* Catalase: an indispensable enzyme in yeast? // *Proc. 4th Eur. Congr. Biotechnol. (Amsterdam, June 14—19, 1987): Abstr. Extend abstr. Amsterdam, 1987.*—Vol. 3.—P. 371.
115. *Rabilloud T., Asselineau D., Miquel C. et al.* Deficiency in catalase activity correlates with the appearance of tumor phenotype in human keratinocytes // *Int. J. Cancer.*—1990.—45, N 5.—P. 952—956.

Ин-т молекуляр. биологии и генетики АН Украины, Киев

Получено 25.03.92