

## РАСПРЕДЕЛЕНИЕ АТФазной АКТИВНОСТИ В МЕМБРАННЫХ СТРУКТУРАХ И ЭКСТРАКТАХ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ В ПРОЦЕССЕ ОНТОГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ КУР

А. А. СИМОНЯН, Р. Б. БАДАЛЯН

В статье приводятся данные о распределении АТФазной активности в мембранных структурах и экстрактах митохондрий печени в ходе онтогенетического развития кур. Выявлены некоторые особенности ее локализации в выделенных мембранах и экстракте митохондрий печени в определенные периоды развития.

В предыдущих наших работах было показано, что АТФазная активность в суммарной, так и в отдельных субфракциях митохондрий кур в эмбриональном и раннем постэмбриональном периодах развития постепенно возрастает [1, 2]. Это возрастание соответствует повышению интенсивности дыхания и окислительного фосфорилирования в печени в конце эмбрионального развития [1]. Отмеченные сдвиги в энергетическом метаболизме обеспечивают повышенную температуру тела эмбриона, способствуют интенсивному росту его и развитию.

В данной работе нас интересовал вопрос о распределении активности АТФазы в мембранах и экстракте митохондрий печени в ходе эмбрионального и постэмбрионального развития кур.

*Материал и методика.* Опыты проводили на 15-, 20-дневных эмбрионах, 5-дневных цыплятах и половозрелых курах белой русской породы. Возраст эмбрионов определяли по срокам инкубации. Выделение суммарной митохондриальной фракции печени проводили по Скулачеву [3] при температуре 0—3°. При выделении мембранных структур к извлеченной митохондриальной фракции добавляли тритон X-100 (в количестве 0,9 мг на 2—3 мг митохондриального белка) и через 20 мин центрифугировали при 111000 g в течение 1 часа. Экстракцию митохондрий и осадков, содержащие мембранные структуры, ресуспендировали в трис-НСI буфере.

Для определения активности различных АТФаз добавляли катионы (в конечной концентрации):  $Mg^{2+}$  —10,  $Ca^{2+}$  —20,  $Na^{+}$  —120,  $K^{+}$  —100 ммоль. Общий объем смеси—1 мл. Время инкубации—30 мин при 26°. Об активности фермента судили по нарастанию количества неорганического фосфата в среде, который определяли по Лоури и Лопес [4]. Полученные данные были рассчитаны на мг белка, который определяли по Лоури и сотр. [5].

*Результаты и обсуждение.* Результаты проведенных экспериментов показали, что с 15-го дня эмбрионального развития АТФазная активность в экстрактах митохондрий печени постепенно возрастает как в контрольных опытах, так и при добавлении различных ионов— $Mg$ ,

Na, K, Ca (табл. 1). Статистически достоверное ( $P < 0,001$ ) повышение активности фермента наблюдается в постэмбриональном периоде, у 5-дневных цыплят, с некоторыми колебаниями этот уровень сохраняется у половозрелых кур. При этом по сравнению с 15-дневными эмбрионами у 5-дневных цыплят при добавлении  $Mg^{2+}$  этот показате-

Таблица 1

Изменение АТФазной активности в экстрактах митохондрий печени кур при эмбриональном и постэмбриональном развитии,  $\Delta P$  в мкатамах/мг белка.  $M \pm m$

Условия опыта	Дни развития эмбрионов		5-дневные цыплята	Куры
	15-дневные	20-дневные		
Контроль (без добавления ионов)	$0,53 \pm 0,03$	$0,63 \pm 0,04$	$1,98 \pm 0,39$	$2,50 \pm 0,46$
$Mg^{2+}$	$1,98 \pm 0,02$	$2,70 \pm 0,45$	$8,81 \pm 1,30$	$7,86 \pm 0,20$
$Mg^{2+}, Na^+, K^+$	$2,20 \pm 0,33$	$2,50 \pm 0,32$	$7,88 \pm 0,77$	$7,96 \pm 0,21$
$Ca^{2+}$	$1,17 \pm 0,18$	$1,20 \pm 0,20$	$4,55 \pm 0,13$	$4,51 \pm 0,59$

тель повышается в 4,4, а  $Ca^{2+}$  — 3,8 раза. Интересно, что в различные периоды развития кур активность  $Na^+, K^+$ -АТФазы в экстракте митохондрий не выявляется (при определении активности  $Na^+, K^+$ -АТФазы от величины активности фермента при добавлении ионов магния, натрия и калия вычитывается результат, полученный при добавлении только магния).

В табл. 2 приведены данные об изменении активности различных АТФаз в мембранных структурах митохондрий в течение эмбрионального и постэмбрионального развития кур. При сравнении полученных

Таблица 2

Изменение АТФазной активности в мембранных структурах митохондрий печени кур при эмбриональном и постэмбриональном развитии,  $\Delta P$  в мкатамах/мг белка.  $M \pm m$

Условия опыта	Дни развития эмбрионов		5-дневные цыплята	Куры
	15-дневные	20-дневные		
Контроль (без добавления ионов)	$2,37 \pm 0,38$	$2,81 \pm 0,20$	$3,65 \pm 0,36$	$2,12 \pm 0,24$
$Mg^{2+}$	$7,42 \pm 0,53$	$8,02 \pm 0,28$	$8,57 \pm 0,60$	$6,87 \pm 0,66$
$Mg^{2+}, Na^+, K^+$	$6,58 \pm 0,50$	$7,06 \pm 0,24$	$7,15 \pm 0,45$	$6,22 \pm 0,22$
$Ca^{2+}$	$4,23 \pm 0,79$	$4,01 \pm 0,22$	$5,59 \pm 0,21$	$5,20 \pm 0,80$

результатов оказалось, что во всех изученных периодах в присутствии ионов  $Mg$ , по сравнению с контролем, активность фермента достоверно повышается. Однако при добавлении ионов магния, натрия и калия, по сравнению с опытами с одним магнием, она заметно подавляется. Как видно из этих данных, ионы натрия и калия оказывают ингибиру-

ющее действие на активность фермента в митохондриальных мембранах печени. В различные периоды эмбрионального и постэмбрионального развития активность АТФазы по сравнению с контролем достоверно ( $P < 0,001$ ) повышается также в присутствии ионов кальция.

При сопоставлении данных, приведенных в табл. 1 и 2, нетрудно заметить, что в эмбриональном периоде развития кур большая часть активности АТФазы локализована в мембранах митохондрий (примерно в 2—4 раза больше, чем в экстракте). Однако у 5-дневных цыплят происходит некоторое перераспределение активности фермента: в мембранах она снижается, а в экстракте митохондрий, наоборот, заметно повышается. В печени половозрелых кур величины активности фермента в митохондриальных экстрактах и мембранных структурах еще больше приближаются друг к другу. Интересно, что указанные сдвиги в распределении АТФазной активности в экстракте и мембранах митохондрий отмечаются как в контрольных опытах (без добавления ионов), так и при добавлении магния, кальция, натрия и калия.

Таким образом, полученные результаты показывают, что в ходе онтогенетического развития птиц происходит определенное перераспределение АТФазы между мембранами и экстрактом выделенных митохондрий ткани мозга. В раннем эмбриональном периоде большая часть фермента локализована в мембранных структурах митохондрий. У 5-дневных цыплят в экстракте митохондрий активность фермента заметно повышается по сравнению с предыдущими периодами, у половозрелых же кур в мембранных структурах и экстрактах митохондрий она почти одинаковая.

Институт биохимии АН АрмССР

Поступило 3.II 1978 г.

**ԱՏՖազայի և ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՏԵՂԱԲԱՇԽՈՒՄԸ ԼՅԱՐԳԻ  
ՄԻՏՈՔՈՆՏՐԻԱՆԵՐԻ ԹԱՂԱԹԱՅԻՆ ԿԱՌՈՒՑՎԱԾՔՆԵՐՈՒՄ  
ԵՎ ՄՉՎԱՍԹՔՈՒՄ ՀԱՎԵՐԻ ՕՆՏՈԳԵՆԵՏԻԿ ԶԱՐԳԱՑՄԱՆ ԸՆԹԱՑՔՈՒՄ**

**Ա. Ա. ՄԻՄՈՆՅԱՆ, Ռ. Բ. ԲԱԿԱՅԱՆ**

Հավերի օնտոգենետիկ զարգացման տարբեր շրջաններում (15, 20 օրական սաղմեր, 5 օրական ճուտ և հասուն հավեր) ուսումնասիրվել է ԱՏՖազային ակտիվության տեղակայումը ցենտրիֆուգացման եղանակով՝ լյարդի միտոքոնդրիաններից անջատված թաղանթներում և մզվածքում: Պարզվել է, որ լյարդի միտոքոնդրիանների մզվածքում ԱՏՖազային ակտիվությունը ինչպես կոնտրոլ փորձերում, այնպես էլ մազնեզիումի, նատրիումի, կալիումի և կալցիումի իոնների ավելացման դեպքում, սաղմնային զարգացման 15-րդ օրից սկսած, աստիճանաբար բարձրանում է: Իսկ ձվից դուրս գալուց հետո 5 օրական ճտերի մոտ, 15 օրական սաղմերի համեմատությամբ, ֆերմենտի ակտիվության աճը  $Mg^{2+}$ -ի ավելացման դեպքում կազմել է 4,4, իսկ  $Ca^{2+}$ -ի դեպքում՝ 3,8 անգամ: Միտոքոնդրիանների մզվածքում  $N_1^+$ ,  $K^+$ -ԱՏՖազային ակտիվությունը չի հայտնաբերվել: Իսկ միտոքոնդրիանների թաղանթներում,

կոնտրոլի համեմատությամբ,  $N_a^+$ ,  $K^+$ -ի ներկայությամբ ֆերմենտի ակտիվությունը զգալիորեն ճնշվել է:

Համեմատական ուսումնասիրությունը ցույց է տալիս, որ սաղմնային շրջանում ֆերմենտի ակտիվությունը մեծ մասամբ տեղակայված է թաղանթներում: Ճուտը ձվից դուրս գալուց հետո թաղանթներում ֆերմենտի ակտիվությունը պակասում է, իսկ մզվածքում՝ ավելանում և գրեթե հավասարվում է հասուն թռչունների ֆերմենտին:

## THE DISTRIBUTION OF ATP-ase ACTIVITY IN THE MITOCHONDRIAL MEMBRANES AND EXTRACTS OF HEN LIVER DURING ONTOGENETIC DEVELOPMENT

A. A. SYMONYAN, R. B. BADALIAN

The distribution of ATP-ase activity has been shown in the membranes and extracts of hen liver mitochondria during the ontogenetic development. The data obtained reveal some peculiarities of ATP-ase activity localization in membranes and extracts of liver mitochondria at certain periods of development.

### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Симолян А. А. Докт. дисс., Ереван, 1973.
2. Симолян А. А. Изв. с./х. наук МСХ АрмССР, 3, 89, 1970.
3. Скулачев В. П. Соотношение окисления и фосфорилирования в дыхательной цепи. 152, М., 1962.
4. Lowry O. H., Lopes J. A. J. Biol. Chem., 162, 421, 1946.
5. Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Biol. Chem., 193, 265, 1951.