

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 577.3

УВЕЛИЧЕНИЕ СКОРОСТИ ГИДРОЛИЗА АТФ ПОСЛЕ
 ДОБАВЛЕНИЯ ОЛИГОМИЦИНА

А. В. ГЮЛЬХАНДАНЯН

Известно, что митохондриальная АТФаза ингибируется антибиотиком олигомицином—ингибитором АТФазной и АТФ-синтетазной активности [2, 4, 5]. В то же время в литературе имеются данные, свидетельствующие о том, что существует АТФаза, нечувствительная к олигомицину и локализованная на внешней мембране митохондрий сердца, коры почек и селезенки [3, 9]. В настоящей статье исследовано влияние олигомицина на АТФазную активность митохондрий печени крысы в зависимости от степени старения митохондрий с целью выявления олигомициннечувствительной АТФазы.

Материал и методика. Митохондрии печени крысы выделяли методом дифференциального центрифугирования [8] в 0,3 М сахарозе и 10 мМ трис-НСl, рН 7,5; промывали и суспендировали в той же среде. Активность АТФазы определяли по закислению среды инкубации [7] с помощью рН-метра, подключенного к самописцу. Скорость дыхания митохондрий измеряли полярографически [1]. Количество митохондриального белка определяли методом Лоури [6].

Результаты и обсуждение. На рис., А и Б и в таблице представлены результаты опыта по действию олигомицина на АТФазную актив-

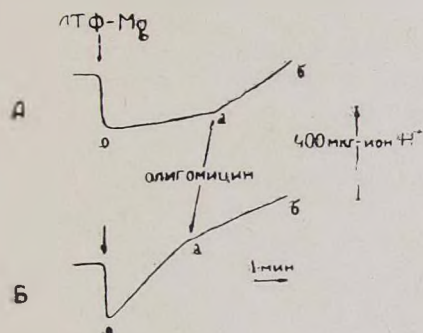


Рис. Влияние олигомицина на АТФазную активность. Среда инкубации: 0,1 М сахаразы, 0,1 М КСl, 2 мМ трис-НСl, рН 7,5. Конечная концентрация АТФ-Мg (1:1)—4 мМ. Олигомицин—1,8 мкг/мг белка, 3 мг митохондриального белка в 1 мл. А—опыт проведен сразу после выделения митохондрий; Б—опыт проведен после 26 ч. пребывания на холоду (0—4°).

ность митохондрий. АТФ-Мg добавлялся после 2—3 мин инкубации митохондрий.

Как видно из рис., А, начальная скорость гидролиза АТФ интактными митохондриями незначительна, после добавления олигомицина

она увеличивается. После 20 ч. пребывания на холоду АТФазная активность несколько повышается, и добавление олигомицина практически не изменяет активности фермента. После 26 ч. пребывания на холоду (рис., Б) скорость гидролиза АТФ увеличивается до такой степени, что олигомицин ингибирует АТФазную активность. Добавление олигомицина до внесения АТФ-Mg дает аналогичные результаты.

Таблица

Скорость гидролиза АТФ до и после добавления олигомицина,
мкг-ион H^+ /мин мг белка

№	Время	Температура	V АТФ	V АТФ после добавления олигомицина
1	контроль	25°	4,7	15,3
2	20 ч.	0—4°	15,3	15,3
3	26 ч.	0—4°	22,4	10
4	30 мин	25°	10,5	11,7
5	45 мин	25 °	16,5	11,7

Судя по результатам опытов, олигомицин не влияет на АТФазную активность в течение 18—24 ч. в зависимости от степени интактности митохондрий. Чем больше дыхательный контроль по Чансу, тем больше олигомицин не влияет на скорость гидролиза АТФ и тем больше отношение скоростей на участках оа и аб (рис. 1А). По результатам нескольких экспериментов, отношение оа/аб составляет $2,75 \pm 0,5$ (дыхательный контроль $3,2 \pm 0,3$). Как видно из таблицы, в случае, показанном на рис., А, отношение аб/оа равно 3,25 (дыхательный контроль 3,3).

Инкубация митохондрий при комнатной температуре ($t=25^\circ$) приводит к тем же результатам, что и выдерживание их на холоду: при инкубации около 2—3 мин олигомицин повышает АТФазную активность, около 30—35 мин он не влияет на этот показатель, а при инкубации свыше 45 мин—ингибирует скорость гидролиза АТФ.

Мы хотим обратить внимание на следующий факт. Как видно из таблицы, скорости гидролиза АТФ после добавления олигомицина к свежевыделенным митохондриям и простоявшим 20 ч. на холоду практически равны (табл., 1, и 2). Когда митохондрии остаются на холоду более суток (табл., 3), скорость гидролиза АТФ после добавления олигомицина ниже, чем в предыдущих случаях. Аналогичные результаты получены при инкубации митохондрий в тепле (табл., 4 и 5).

Чем же вызвано столь необычное действие олигомицина? В митохондриях постоянно происходит гидролиз и ресинтез АТФ за счет эндогенных субстратов. После добавления олигомицина оба процесса, за которые ответственна олигомицинчувствительная АТФаза, ингибируются. Однако известно, что в митохондриях имеется компонент АТФазы, нечувствительный к олигомицину [3, 9]. Можно предположить, что после добавления антибиотика ингибируется ресинтез и регистриру-

ется только гидролиз АТФ олигомициннечувствительной АТФазой, счет чего и повышается скорость гидролиза.

При старении митохондрий (выдерживание на холоду в течение длительного времени, инкубация в тепле) целостность митохондриальной мембраны нарушается, происходит разобщение окислительного фосфорилирования и активируется олигомицинчувствительная АТФаза. В этом случае после добавления олигомицина АТФазная активность падает, и остается только активность олигомициннечувствительной АТФазы. То, что в постаревших митохондриях (табл., 3 и 5) активность олигомициннечувствительной АТФазы несколько ниже, чем в свежих и относительно свежих (табл., 1, 2 и 4), вероятно, говорит о том, что при старении митохондрий олигомициннечувствительная АТФаза портится.

Филиал Всесоюзного научно-исследовательского института
клинической и экспериментальной хирургии МЗ СССР, Ереван

Поступило 25.VII 1979 г.

ԱՆՖ-ի ՀԻԴՐՈԼԻԶԻ ԱՐԱԳՈՒԹՅԱՆ ՄԵՄԱՑՈՒՄԸ ՕԼԻԳՈՄԻՑԻՆ ԱՎԵԼՍՅՆԵԼՈՒՑ ՀԵՏՈ

Ա. Վ. ԳՅՈՒԼԵԱՆԿՍԱՆ

Հայտնաբերվել է առնետի լյարդի միտոքոնդրիանների Անֆազայի ակտիվացումը օլիգոմիցին ավելացնելուց հետո: Միտոքոնդրիանները սառը պայմաններում 18—24 ժամ պահելուց հետո Անֆազային ակտիվությունը մեծանում է, և օլիգոմիցինը պրակտիկորեն չի ազդում Անֆ-ի հիդրոլիզի արագության վրա, 25 ժամից ավել պահելուց հետո Անֆազային ակտիվությունը բարձրանում է մինչև այն աստիճանը, որ օլիգոմիցինը ընկճում է Անֆազային ակտիվությունը: Համաման արդյունքներ են ստացվել Անֆ-ի հիդրոլիզի արագության վրա օլիգոմիցինի ազդեցության ուսումնասիրության դեպքում՝ կախված սենյակային ջերմաստիճանում միտոքոնդրիանների ինկուբացման ժամանակից: Ենթադրվում է, որ Անֆազայի ակտիվության մեծացումը կապված է միտոքոնդրիանների օլիգոմիցին ոչ զգալուն Անֆազայով պայմանավորված Անֆ-ի հիդրոլիզի հետ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Кондрашова М. Н. Сб. Руководство по изучению биологического окисления полярно-графическим методом. 50, М., 1973.
2. Скулачев В. П. Трансформация энергии в биомембранах. М., 1972.
3. Gmaj F., Nowicka C., Angielski S. FEBS Letters. 47, 76, 1974.
4. Lardy H. A., Connelly J. L., Jonson D. Biochemistry, 3, 1961, 1964.
5. Lardy H. A., Witonksy P., Jonson D. Biochemistry, 4, 552, 1965.
6. Lowry O., Rosenbrough N., Farr A., Randall R. J. J. Biol. Chem., 193, 265, 1951.
7. Nishimura M., Yto T., Chance B. Biochim. Biophys. Acta, 59, 177, 1962.
8. Schneider W. C. J. Biol. Chem., 176, 259, 1948.
9. Vijayakumar E. K., Weidemann M. J. Biochem. J., 160, 383, 1976.