

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 591.48:577.112

АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ОЧИЩЕННЫХ
ПРОТЕОЛИПИДОВ ИЗ РАЗНЫХ СУБКЛЕТОЧНЫХ
ОБРАЗОВАНИЙ МОЗГА КРЫСЫ

К. Г. МАНУКЯН, А. А. СТЕПАНЯН, Д. Л. АРУТЮНЯН, Л. Г. ҚИРАҚОСЯН

Ключевые слова: нервная система, протелилипиды, аминокислотный состав.

Гидрофобные липидно-белковые комплексы—протелилипиды (ПЛ) являются важными компонентами субклеточных образований нервной ткани, таких как миелин, митохондрии, синапсосомы, синаптические мембраны и т. д. [1, 10]. Особенно много их в миелине, где белок ПЛ составляет 30—50% общего белка [1, 4, 13]. В связи с различной локализацией и предполагаемой ролью этих комплексов в мембранных структурах клетки возникает вопрос о сходстве и различиях ПЛ, входящих в состав разных субклеточных частиц. Нами было выявлено, что ПЛ из разных субклеточных образований нервной ткани заметно различаются по своему фосфолипидному составу [2].

Целью настоящей работы явилось изучение аминокислотного состава очищенных ПЛ (ОПЛ), выделенных из общего гомогената, двух фракций миелина, митохондрий и синапсосом, изолированных из головного мозга крысы.

Материал и методика. Исследования проводили на 4—6-месячных белых крысах. Животных декапитировали, быстро извлекали мозг, очищали на льду от крови и мозговых оболочек и гомогенизировали в 0,32 М растворе сахарозы (1:5). Выделение субклеточных частиц производили по методике, описанной ранее [1] и представляющей комбинацию нескольких методов, предложенных разными авторами [8, 14, 15]. Получали достаточно чистые фракции митохондрий, синапсосом и две отличающиеся по размерам миелиновых фрагментов фракции миелина. Содержащий несколько более крупные фрагменты миелин был обозначен как «тяжелый»-Мт, а более мелкие фрагменты—как «легкий»-Мл. Чистоту фракций определяли электронномикроскопическим методом, а для миелина также с помощью фракционирования белков в полиакриламидном геле.

Липидные экстракты субклеточных образований мозга получали и отмывали по методу Фолча и др. [5]. ПЛ выделяли из промытых липидных экстрактов методом эмульгирования-центрифугирования [6]. Лиофилизированные осадки изолированных этим методом несчищенных ПЛ промывали для очистки 4 раза 800-кратным объемом смеси спирт—эфир 1:1 при +23°. Полученные в результате отмывки препараты ОПЛ содержали 90—95% белка и 10—5% липидов.

Аминокислотный состав ОПЛ, выделенных из разных субклеточных частиц, определяли на автоматическом анализаторе фирмы Labotron (ФРГ), а также KLA-3A

фирмы Hitachi (Япония). Образцы предварительно гидролизovali в вакууме в 6 N HCl в течение 24 ч при 110°. Поправку на потери в результате гидролиза и на присутствующий серинфосфатид не вводили.

Результаты и обсуждение Исследования показали, что ОПЛ, выделенные из общего гомогената и разных субклеточных образований мозга, в общем сходны по своему аминокислотному составу (табл.).

Таблица

Аминокислотный состав ОПЛ из общего гомогената и разных субклеточных образований мозга крысы (среднее из 2—4 определений)

Аминокислоты	Общий гомогенат	Миелин Мт	Миелин Мл	Митохондрии	Синапсомы
	мольях / 10 ⁴ моль, найденных в гидролизате				
Аргинин	2,87	2,69	2,65	3,14	2,85
Гистидин	2,12	1,88	1,92	1,94	1,95
Лизин	4,95	4,71	4,83	5,28	4,98
Аспарагиновая	4,69	4,77	4,31	6,13	5,41
Глутаминовая	5,75	4,91	6,45	5,97	6,31
Полуцистин	3,28	4,00	2,80	0,40	5,37
Метионин	2,20	1,60	1,20	3,40	1,19
Серин	7,80	7,12	8,44	7,45	7,20
Треонин	7,31	7,42	8,57	6,08	7,23
Пролин	4,49	3,25	4,62	5,30	6,26
Глицин	10,33	10,91	11,15	10,80	10,99
Аланин	10,81	11,88	10,88	10,71	9,40
Валин	4,75	5,22	5,31	4,26	4,49
Лейцин	10,06	10,96	10,24	13,22	9,75
Изолейцин	6,37	5,22	5,07	6,29	6,46
Тирозин	5,65	5,60	3,99	3,48	3,26
Фенилаланин	6,67	7,86	7,57	6,15	6,90

Все они богаты неполярными аминокислотами и сравнительно бедны кислыми и основными аминокислотами. Лейцин, изолейцин, валин, глицин, пролин, аланин и фенилаланин в сумме составляют 54—57% всех аминокислот белка ПЛ из общего гомогената и разных субклеточных частиц мозга; лизин, аргинин, гистидин—9—10%, аспарагиновая и глутаминовая кислоты—10—12%. Это преобладание аминокислот, у которых после объединения в пептидные цепи остаются свободными только неполярные группы, является одним из основных факторов, обуславливающих специфическую растворимость ПЛ в органических растворителях.

Из таблицы видно, что ОПЛ из двух фракций миеллина довольно похожи по количественным соотношениям входящих в их состав аминокислот. Наши данные хорошо согласуются с имеющимися в литературе относительно аминокислотного состава белка ПЛ, выделенных из белого вещества и миеллина, изолированного из мозга крупного рогатого скота [2, 4, 7, 9, 12] и крысы [3].

В отличие от ПЛ миеллина, ПЛ митохондрий характеризуются более высоким содержанием аспарагиновой кислоты, метионина, лейцина, изолейцина и более низким—полуцистина, треонина, тирозина. По своему аминокислотному составу они более сходны с ПЛ из серого вещества мозга [2] и немозговыми ПЛ, выделенными из других органов [7, 11].

Синапсомальные ПЛ по аминокислотному составу занимают промежуточное положение между ПЛ миелина и митохондрий. Как и митохондриальные ПЛ, они отличаются несколько более высоким содержанием аспарагиновой кислоты, пролина, изолейцина и более низким — тирозина. С другой стороны, по процентному содержанию серусодержащих аминокислот и лейцина они ближе к ПЛ миелина.

Особенности аминокислотного состава ПЛ находят отражение в низком коэффициенте полярности этих белков, рассчитанном по Вандеркою и Капальди [16]. Для ПЛ, выделенных из общего гомогената и исследованных субклеточных образований мозга крысы, он колеблется в пределах 33,5—35,4, что свидетельствует об их принадлежности к типичным «внутренним» мембранным белкам.

Институт биохимии АН Армянской ССР

Поступило 18.11 1981 г.

ԱՌՆԵՏԻ ՈՒՂԵՂԻ ՏԱՐԲԵՐ ԵՆԹԱԲՋԱՅԻՆ ՄԱՍՆԻԿՆԵՐԻՑ ԱՆՋԱՏՎԱԾ
ՄԱՔՐՎԱԾ ՊՐՈՏԵՆՈԼԻՊԻԴՆԵՐԻ ԱՄԻՆԱԹՎԱՅԻՆ ԿԱԶՄԸ

Կ. Հ. ՄԱՆՈՒՅԱՆ, Հ. Ա. ՍՏԵՓԱՆՅԱՆ, Գ. Լ. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ, Լ. Գ. ԿԻՐԱԿՈՍՅԱՆ

Ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ առնետի ուղեղի ընդհանուր հոմոգենատից, միելինի երկու ֆրակցիաներից, միտոքոնդրիաներից և սինապտոսոմներից անջատված, մաքրված պրոտեոլիպիդները հիմնականում նման են իրենց ամինաթթվային կազմով: Նրանք հարուստ են ոչ պոլլար ամինաթթուներով և համեմատաբար աղքատ են թթու և հիմնային ամինաթթուներով: Ի տարբերություն միելինից պրոտեոլիպիդների, միտոքոնդրիաներից պրոտեոլիպիդներին բնորոշ է ասպարազինաթթվի, մեթիոնինի, լեյցինի, իդրոլեյցինի համեմատաբար ավելի բարձր, իսկ հոմոցիտտեինի, տրեոնինի և տիրոզինի ցածր պարունակությունը: Սինապտոսոմներից անջատված պրոտեոլիպիդները իրենց ամինաթթվային կազմով մասամբ նման են միելինի մասամբ էլ՝ միտոքոնդրիաների պրոտեոլիպիդներին:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Манукян К. Г., Левонян К. Л., Степанян А. А., Киракосян Л. Г., Казарян Т. Н. Вопросы биохимии мозга, 12, 68, Ереван, 1977.
2. Манукян К. Г. Вопросы биохимии мозга, 13, 86, Ереван, 1979.
3. Agrawal H. C., Hartman B. K., Shearer W. F., Kulmbach S., Margolis F. L. J. Neurochem., 28, 495, 1977.
4. Eng L. F., Chao F. G., Gerstl B., Pratt D., Tavaststjerna M. G. Biochemistry, 7, 4455, 1968.
5. Folch J., Lees M. B., Sloane-Stanley G. H. J. Biol. Chem., 226, 497, 1957.
6. Folch J., Webster G. R., Lees M. Feder. Proc. 18, 228, 1959.
7. Folch-Pi J., Sakura J. D. Biochim. Biophys. Acta, 427, 410, 1976.
8. Gray E. G., Whittaker V. P. J. Anat. Lond., 96, 79, 1932.
9. Hendrickson H., Joffe S., Davidson D. J. Neurochem., 19, 2233, 1972.
10. Lapetina E. G., Soto E. F., De Robertis E. J. Neurochem., 15, 437, 1968.
11. Lees M. B., Whitehart D. R. J. Neurochem., 21, 1103, 1973.
12. Lees M. B., Paxman S. A. J. Neurochem., 21, 1031, 1973.
13. Mehl E., Wolfgram F. J. Neurochem., 16, 1091, 1969.
14. Norton W. T., Podulso S. E. J. Neurochem., 21, 741, 1973.
15. De Robertis E., Pellegrino de Iraldi A., Rodriguez de Lores Arnaz G. Salganicoff L. J. Neurochem., 9, 23, 1962.
16. Vanderkooi G. Capaldi R. A. Ann. N. Y. Acad. Sci., 195, 135, 1972.