

MOUMIO-ACIL IN ARMENIA

E. G. SARKISIAN, M. G. SARKISIAN, L. A. YERITSIAN

The object of description of this paper is moumio-acil found for the first time in Armenia. The process of its formation and dissociation on the basis of observations upon the "alive colony" is being considered. Estimation of generation rate and lifetime is also done.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Ամիրզյանի Ամասիացի. Անգիտաց անպետ. Վրեննա, 1927 թ.
2. Հայերեն բացատրական բառարան (Ստ. Մալխասյանց), հտ. 3, Երևան, 1944 թ.
3. Մովսես Խոհեմացի. Պատմութիւն հայոց. Երևան, 1968 թ.
4. Бирюки. Собрание сведений для познания драгоценностей. (Минералогия). М., 1963.
5. Блинова К., Яковлев Г., Сыровежко Н. Наука и жизнь, 5, 116, 1968.
6. Блинова К., Яковлев Г., Сыровежко Н. Пещеры, вып. 14—15, Пермь, 1974.
7. Маисомович Г. Пещеры, вып. 8—9, Пермь, 1970.
8. Мхитар Гераци. Утешение при лихорадках. Ереван, 1968.
9. Нуралиев Ю., Дениченко П. Мумиё и его лечебные свойства. Душамбе, 1976.
10. Петров Г., Шакиров А. Узбекск. геолог. журн., 5, 74, 1964.
11. Порошин К., Довидяц С., Кириченко Л. Докл. АН Тадж. ССР, 7, 7, 18, 1974.
12. Фирдоуси. Рустам и Сухраб. М., 1959.
13. Шакаров А. Мумие-асиль в комплексном лечении переломов костей. Ташкент, 1976.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 5, 1982

УДК 577.152:611.81

О СВОЙСТВАХ КИСЛЫХ ФОСФАТАЗ СУБКЛЕТОЧНЫХ ОБРАЗОВАНИЙ МОЗГА КРЫСЫ

Р. Р. НЕРСЕСЯН, Г. Т. АДУНЦ

В мозге белых крыс функционируют кислые фосфатазы, различающиеся по внутриклеточной локализации и эффектам специфических ингибиторов и активаторов. Это — фенилфосфатаза и менее активная β -глицерофосфатаза. Выявлено, что фенилфосфатазы, локализованные в различных субклеточных образованиях, отличаются по своим свойствам и, по всей вероятности, являются разными молекулярными формами фермента.

Ключевые слова: кислые фосфатазы.

Кислая фосфатаза (КФ 3.1.3.2) является ферментом с низкой субстратной специфичностью. Множественные формы этого фермента обнаружены в тканях, богатых ретикуло-эндотелиальными элементами, с высоким содержанием лизосом, и непосредственно в лизосомальной фракции [9]. Наиболее распространенным объектом для исследований кислой фосфатазы (КФ) является печень животных [6, 13, 14]. Отно-

чительно КФ нервной ткани данных в литературе мало. Танзаки и др. [19] выделили низкомолекулярную КФ, активируемую гуанозином, из мозга быка. Субцеллюлярная локализация КФ в нервной системе изучена пока недостаточно. Наши прежние исследования показали, что в субклеточных образованиях мозга крыс действует наиболее активная в микросомальной фракции карбамилфосфатаза, имеющая экстрализосомальную локализацию [2]. В связи с этим представляло интерес исследование активности других КФ, а именно β -глицерофосфатазы и фенолфосфатазы, в субклеточных частицах мозга белых крыс в норме и под действием различных реагентов, что и явилось целью настоящей работы.

Материал и методика. Исследования проводили на гомогенатах и субклеточных частицах, изолированных из головного мозга белых крыс. Ткань гомогенизировали в 0,32 М растворе сахарозы (1:10) и фракционировали путем дифференциального центрифугирования в градиенте плотности сахарозы по схеме, описанной Манукян и сотр. [1]. В качестве субстрата использовали β -глицерофосфат Na (Sigma Chem. Co) и фенолфосфатдинатриевую соль (Sigma Chem. Co.).

Активность кислой β -глицерофосфатазы определяли по методу Лисмана и сотр. [10]. Реакционная смесь содержала 0,1 М ацетатный буфер pH 5; 40 мМ β -глицерофосфата, к которым добавляли исследуемые субклеточные фракции в количестве, соответствующем 20—40 мг исходной массы ткани. В качестве детергента применяли Тритон X-100. В зависимости от условий опыта использовали следующие реагенты: NaF^- — 10^{-2} М, $\alpha(+)$ -тартарат — 10^{-2} М, Mg^{++} — 10^{-2} М, ЭДТА — 10^{-3} М и п-ХМБ — 10^{-5} М.

Общий объем реакционной смеси—2 мл. Реакцию приостанавливали добавлением 10%-ной ТХУ. Об активности фермента судили по приросту неорганического фосфата после 30-минутной инкубации при 37°. Неорганический фосфор определяли по методу Лоури и Лопеса [11], белок—по методу Лоури [12]. Кислую фенолфосфатазу определяли по методу Брая и Торне [4]. Реакционная смесь содержала 0,1 М ацетатный буфер pH 5; 50 мМ фенолфосфата и гомогенат или исследуемые субклеточные фракции в количестве, соответствующем 20—40 мг исходной массы ткани. Реакцию приостанавливали добавлением 2 мл раствора Фолина-Чокалтеу. Удельные активности ферментов вычисляли в мкмольх образованного фосфора (для β -глицерофосфатазы) и фенола (для фенолфосфатазы) за 1 мин на 1 мг белка.

Результаты и обсуждение. В первой серии экспериментов определялась активность кислой β -глицерофосфатазы гомогената и субклеточных образований головного мозга белых крыс. Как видно из данных, приведенных в табл. 1, β -глицерофосфатазная активность гомогенатов

Таблица 1

Активность кислой β -глицерофосфатазы в субклеточных образованиях
головного мозга белых крыс

Концентрация субстрата 50 мМ	мкМ фенол/мг белка					
	норма	NaF^- 10^{-2} М	α -тартарат 10^{-2} М	Mg^{++} 10^{-2} М	ЭДТА 10^{-3} М	п-ХМБ 10^{-5} М
Гомогенат	13,1 \pm 0,6	8,1 \pm 0,6	6,7 \pm 0,47	13,9 \pm 0,46	13,1 \pm 0,6	13,1 \pm 0,6
Митохондрии	4,8 \pm 0,7	3,2 \pm 0,17	2,28 \pm 0,19	4,8 \pm 0,7	4,8 \pm 0,7	4,8 \pm 0,7
Микросомы	0	0	0	0	0	0
Растворимая фракция (надмикросомальная)	1,85 \pm 0,17	1,48 \pm 0,14	0,9 \pm 0,1	1,85 \pm 0,17	1,85 \pm 0,17	1,85 \pm 0,17

мозга составляет 13,1 мкмоль Р/мг белка. При воздействии NaF^- активность фермента несколько подавляется. Более сильным ингибитором является α -тартарат, который подавляет активность на 50%. Ионы Mg^{++} слабо активируют фермент в гомогенатах мозга, а ЭДТА и п-ХМБ никакого действия не оказывают. Из изученных нами субклеточных образований наибольшей активностью β -глицерофосфатазы обладают митохондрии (4,8 мкмоль Р/мг белка). В растворимой фракции активность фермента составляет 1,85 мкмоль Р/мг белка, тогда как в микросомах нам вообще не удалось обнаружить его. При добавлении тартарата активность фермента в митохондриях ингибируется на 40%, а в растворимой фракции—на 55%. Ионы магния ЭДТА и п-ХМБ не оказывают никакого действия на вышеуказанный фермент как в митохондриальной, так и в растворимой фракциях.

Выявлено, что активность фенилфосфатазы в гомогенатах мозга и его субклеточных образованиях значительно выше, чем β -глицерофосфатазы (табл. 2). Удельная активность фермента в гомогенатах мозга

Таблица 2

Активность кислой фенилфосфатазы в субклеточных образованиях
головного мозга белых крыс

Концентрация субстрата 40 мМ	мкМ фенол/мг белка					
	норма	NaF^- 10^{-2} М	α -тартарат 10^{-2} М	Mg^{++} 10^{-2} М	ЭДТА 10^{-3} М	п-ХМБ 10^{-5} М
Гомогенат	110,3±4,3	110,3±4,3	110,3±4,3	110,3±4,3	118,13±4,5	76,8±1,2
Митохондрии	3,8±0,16	3,8±0,16	3,8±3,16	3,8±0,16	3,8±0,16	3,8±3,16
Микросомы	75,0±1,8	75,0±1,8	75,0±1,8	89,86±1,37	85,05±1,3	64,4±0,77
Растворимая фракция	28,7±1,06	28,7±1,06	28,7±1,0	28,7±1,0	28,7 ±1,0	16,86±0,9

составляет 110,3 мкмоль фенола/мг белка. Специфические для КФ ингибиторы NaF^- и α -тартарат в отношении фенилфосфатазы не эффективны. Следует отметить, что в гомогенатах мозга п-ХМБ подавляет активность фермента на 30%, а ЭДТА, наоборот, несколько стимулирует ее. Согласно полученным данным, активность фенилфосфатазы в митохондриальной фракции незначительна—3,8 мкмоль фенола/мг белка, в микросомальной фракции фермент проявляет наибольшую активность—75,5 мкмоль фенола/мг белка, а в растворимой фракции—28,7 мкмоль фенола/мг белка. Специфические ингибиторы КФ NaF^- , α -тартарат, п-ХМБ и активаторы Mg^{++} и ЭДТА не оказывают влияния на активность митохондриальной фенилфосфатазы. В микросомальной фракции ионы Mg^{++} и ЭДТА незначительно стимулируют фермент, а п-ХМБ ингибирует его на 25%. Что касается фермента растворимой фракции, то было замечено, что только п-ХМБ ингибирует его активность, а остальные реагенты не эффективны.

Итак, проведенные нами исследования показали, что в мозге белых крыс функционируют фенилфосфатаза и менее активная по сравнению с ней β -глицерофосфатаза. Эти ферменты, судя по внутриклеточной ло-

кализации и эффектам специфических ингибиторов и активаторов, по всей вероятности, относятся к различным классам кислых фосфатаз: высокомолекулярным (β -глицерофосфатаза) и низкомолекулярным (фенилфосфатаза). Эти классы отличаются друг от друга субстратной специфичностью и различной чувствительностью к эффекторам [5, 16]. Каталитический механизм ферментов сходен [3, 7, 8], однако до сих пор не выяснены структурные связи между двумя формами КФ, локализованными в различных субклеточных образованиях мозга белых крыс. β -Глицерофосфатаза митохондриальной и растворимой фракций при предынкубировании их в течение 5, 10 и 15 мин при 37° рН 5,0 довольно стабильна. Иная картина наблюдается в отношении фенилфосфатазы. При предынкубации микросомальной фракции (37°, рН 5,0) активность фермента подавляется даже при 5-минутной предынкубации на 80%, а продление срока предынкубации до 10—15 мин приводит к полному исчезновению активности КФ. Интересно, что добавление субстрата в среду предохраняет фермент от инактивации. Предынкубирование растворимой фракции в течение 5, 10 и 15 мин приводит к понижению активности фенилфосфатазы на 20%.

Обнаружить какие-либо сдвиги в активности митохондриального фермента при предынкубации нам не удалось.

В литературе имеются данные в отношении других ферментов, которые локализованы в разных субклеточных образованиях и отличаются друг от друга своими свойствами, но являются различными формами одного и того же фермента. Например, растворимая и митохондриальная формы аспартатаминотрансферазы (КФ 2.6.1.1.), аланинаминотрансферазы (КФ 2.6.1.2) [17, 18], а также растворимая и лизосомальная формы фосфопротеинфосфатазы (КФ 3.1.3.16) [15].

Проведенные нами исследования дают основание предположить, что митохондриальный, микросомальный и растворимый ферменты являются различными молекулярными формами фенилфосфатазы, катализирующими одни и те же реакции, но отличающимися друг от друга по чувствительности к предынкубации при 37°, рН 5,0 и воздействию различных эффекторов.

Институт биохимии АН Армянской ССР

Поступило 8.V 1981 г.

ԹԹՈՒ ՖՈՍՖՈՍՖԱՏԱԶՆԻ ՄԻ ՇԱՐՔ ԱՌԱՆՁՆԱՀԱՏՎՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐՆ ԱՌՆԵՏԻ ՈՒՂԵՂԻ ԵՆԹԱԲՁՁԱՅԻՆ ԳՈՅԱՅՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐՈՒՄ

Ռ. Ռ. ՆԵՐՍԻՍՅԱՆ, Գ. Ք. ԱԴՈՒՆՅ

Յույց է տրվում, որ սպիտակ առնետի ուղեղի ենթաբջջային գոյացութային թյուններում գործում են թթու ֆոսֆատազաներ՝ ֆենիլֆոսֆատազա, որն օժտված է բարձր ակտիվությամբ և β -գլիցերոֆոսֆատազա՝ ավելի թույլ ակտիվությամբ:

Պարզվել է նաև, որ թթու ֆենիլֆոսֆատազաները սպիտակ առնետի ուղեղի ենթաբջջային տարբեր գոյացութայիններում իրենց հատկություններով տարբերվում են միմյանցից, որը թույլ է տալիս ենթադրելու, որ, հավանաբար, դրանք այդ ֆերմենտի տարբեր մոլեկուլյար ձևերն են: