

15. Lazakov V. Proc. Soc. Exptl. Biol., 54, 411, 1946.
16. Lowry O. H., Rosebough N. J., Farr A. J. J. Biol. Chem., 193, 265, 1951.
17. Sanadek G., Eder H. A. Amer. J. Med., 66, 843, 1974.
18. Schnelder W. C. J. Biol. Chem., 170, 259, 1948.
19. Shanaltman C., Erlich W., Greenwald J. W. J. Cell. Biol., 32, 719, 1957.
20. Wojtczak L., Brunska J., Zborovka J. Ibid., 219, 41, 1971.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXVIII, № 7, 1985

УДК 557.151.05+576.311.347.05

РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ТКАНЯХ КУР ПУРИННУКЛЕОТИДАМИ И НУКЛЕОЗИДАМИ

Г. Г. БАТИКЯН, А. А. СИМОНЯН

Исследовалось действие различных пуридинуклеотидов и нуклеозидов на активность лактатдегидрогеназы в изолированных митохондриях и цитоплазме мозга и печени кур. Показано, что некоторые пиридинуклеотиды аденинового, гуанинового и инозинового ряда по-разному действуют на активность НАД- и НАДН-зависимых лактатдегидрогеназ мозга и печени.

Ключевые слова: куры, лактатдегидрогеназа, нуклеотиды, НАД, НАДН

В настоящее время имеется обширный экспериментальный материал, посвященный исследованию кинетики реакций, катализируемых лактатдегидрогеназой (ЛДГ), и действия соединений, являющихся компонентами НАД [9, 10]. Хорошо изучен НАД-связывающий центр ЛДГ [6—8, 12]. Предполагается, что подавление активности ЛДГ нуклеотидами аденинового ряда усиливается по мере приближения структуры ингибиторов к строению молекулы НАД [5]. Определенный интерес представляют данные, касающиеся ингибирующего действия низких концентраций гуанидинуклеотидов, ИТР и АТР на активность ЛДГ. Выявлено, что в отличие от АТР и ИТР, ГТР и ГДР не способны связываться с активным центром ЛДГ и, следовательно, конкурировать с пиридинуклеотидами.

В настоящей работе представлены данные о действии некоторых эффекторов пуридинуклеотидного и нуклеозидного ряда на общую активность ЛДГ в зависимости от использованного кофактора НАД и НАДН в изолированных митохондриях и цитоплазме мозга и печени кур.

Материал и методика. Опыты проводили на мозге и печени половозрелых кур породы леггорн. После декапитации птиц извлекали мозг и печень, гомогенизировали в 0,25 М растворе сахаразы в гомогенизаторе типа Поттера. Дифференциальное центрифугирование проводили по методу Броди и Бебина [7] в модификации Палладина и Кирсенко [4]. Ядерную фракцию печени и мозга осаждали при 900 и 1000 g, а митохондрии—при 9000 и 18000 g соответственно. Выделенные митохондрии разрушали трехкратным замораживанием и оттаиванием для получения растворимой фракции (в тексте она условно названа митохондриями). С этой целью разрушенные оргanelлы центрифугировали при 70000 g, 0—4° в течение 1 часа. Надосадочную жидкость, после осаждения митохондриальной фракции, центрифугировали в тех же условиях для получения цитоплазмы.

Методика получения общей активности ЛДГ приведена в нашей предыдущей работе [1]. Активность ЛДГ определяли как в прямой (синтез лактата), так и в обратной (образование пирувата) реакциях.

Активность фермента рассчитывали в единицах Вроблевского на мг белка в мин [13]; белок определяли по методу Лоури и сотр. [11].

В качестве эффекторов использовали следующие нуклеотиды и нуклеозиды: адениновые [$3',5'$ -цАМР, АМР, АДР, АТР, аденозин], гуаниновые [ГМР, ГДР, ГТР, гуанозин] и инозиновые [ИМР, ИДР, ИТР], в конечной концентрации 0,001 М.

Результаты и обсуждение. Результаты, приведенные в табл. 1, показывают, что в цитоплазме мозга и печени кур образование лактата протекает в несколько раз интенсивнее по сравнению с пируватом. При этом в присутствии НАДН фермент более чем в 11 раз активнее, чем в обратной реакции. Полученные результаты показывают также, что в цитоплазме печени по сравнению с мозгом активность ЛДГ при образовании лактата на 31% больше, чем при синтезе пирувата. Эти результаты согласуются с нашими предыдущими данными, полученными на тканях других птиц (цесарок) [2]. Аналогичные данные получены и другими авторами на тканях крыс [3].

Как видно из табл. 1, в цитоплазме мозга и печени эффекторы аденинового ряда несколько (но не достоверно) активируют реакцию, катализируемую ЛДГ, в сторону дегидрирования лактата. При этом в цитоплазме печени активирование фермента в присутствии АМР и аденозина составляет более 37%. ГМР, ГДР и гуанозин в цитоплазме ткани мозга также несколько активируют ЛДГ в направлении образования пирувата, при этом ГТР подавляет этот процесс. ИМР несколько активирует, а ИДР и ИТР подавляют каталитическую активность ЛДГ в цитоплазме мозга и печени.

Интересные данные относительно регулирования активности ЛДГ в цитоплазме печени получены при изучении образования молочной кислоты (табл. 1). По сравнению с контролем цАМР, АМР, АДР несколько ингибируют активность НАДН-ЛДГ в мозге. В этих условиях АТР и аденозин активируют фермент, причем повышение его активности в присутствии АТР составляет 46% по сравнению с контролем. В печени в присутствии различных эффекторов адениновой группы отмечается некоторое повышение активности НАДН-ЛДГ. Аналогичную картину с некоторыми отклонениями мы наблюдали при использовании гуаниновых и инозиновых производных.

Полученные нами результаты показывают, что использованные эффекторы неодинаково влияют на каталитическую активность ЛДГ как в прямой, так и в обратной реакциях в мозге и печени. Наблюдаемые различия, по-видимому, обусловлены субъединичным строением ЛДГ цитоплазмы указанных органов кур.

Результаты изучения регулирования каталитической активности ЛДГ в митохондриях мозга и печени кур различными эффекторами приведены в табл. 2. Видно, что адениннуклеотиды в различной степени ингибируют активность НАД-ЛДГ в митохондриях мозга кур. цАМР, АДР, АТР и аденозин подавляют ту же реакцию и в митохондриях печеночной ткани. Незначительное активирование ЛДГ этими пуриинук-

Таблица 1

Влияние эффекторов на общую ЛДГ активность в питоллазме мозга и печени.
мкмоль пиридиннуклеотида/мг белка/мин

Ткань	Кофер- менты	Конт- роль	Э ф ф е к т о р ы											
			3'-5' ц.АМФ	АМФ	АДФ	АТФ	гленозин	ГМФ	ГДФ	ГТФ	гуанозин	ИМФ	ИДФ	ИГФ
Мозг	НАД	0.17± 0.02	0.19± 0.02	0.21± 0.01	0.18± 0.02	0.16± 0.02	0.20± 0.02	0.21± 0.11	0.22± 0.02	0.14± 0.02	0.20± 0.02	0.24± 0.02	0.10± 0.03	0.14± 0.03
	НАДН	2.01± 0.17	1.73± 0.16	1.86± 0.12	1.65± 0.17	2.94± 0.50	2.12± 0.13	2.27± 0.20	2.32± 0.15	1.99± 0.13	2.13± 0.27	2.23± 0.15	2.22± 0.22	1.90± 0.05
Печень	НАД	0.24± 0.02	0.29± 0.02	0.33± 0.02	0.27± 0.03	0.29± 0.02	0.32± 0.05	0.29± 0.02	0.19± 0.02	0.23± 0.03	0.28± 0.02	0.29± 0.04	0.15± 0.04	0.14± 0.03
	НАДН	2.65± 0.34	2.85± 0.26	2.72± 0.11	2.76± 0.20	3.15± 0.51	2.90± 0.21	3.18± 0.45	3.06± 0.20	3.29± 0.30	2.98± 0.2	3.33± 0.28	3.20± 0.21	2.91± 0.34

Средние данные 5 опытов.

Таблица 2

Действие эфферторов на общую активность ЛДГ в митохондриях мозга и печени,
мкмоль пиридиннуклеотида/мг белка/мин

Ткань	Коферменты	Контроль	Э ф ф е к т о р ы											
			3'-5' пАМФ	АМФ	АДФ	АТФ	аденозин	ГМФ	ГДФ	ГТФ	гуанозин	ИМФ	ИДФ	ИТФ
Мозг	НАД	0.09 ± 0.002	0.06 ± 0.001	0.06 ± 0.001	0.06 ± 0.002	0.04 ± 0.001	0.06 ± 0.002	0.07 ± 0.002	0.04 ± 0.001	0.06 ± 0.001	0.06 ± 0.002	0.05 ± 0.001	0.04 ± 0.001	0.03 ± 0.001
	НАДН	1.65 ± 0.20	1.82 ± 0.25	1.84 ± 0.26	1.69 ± 0.25	1.93 ± 0.08	1.89 ± 0.28 ±	1.94 ± 0.15	1.91 ± 0.10	1.57 ± 0.16	2.00 ± 0.20	1.89 ± 0.29	1.21 ± 0.10	1.61 ± 0.22
Печень	НАД	0.04 ± 0.001	0.02 ± 0.001	0.04 ± 0.001	0.03 ± 0.001	0.02 0.001	0.03 ± 0.001	0.01 ± 0.001	0.02 ± 0.001	0.02 ± 0.001 ±	0.01 ± 0.001	0.03 ± 0.001	0.02 0.001	0.02 ± 0.001
	НАДН	0.93 ± 0.09	1.01 ± 1.01	1.09 ± 0.01	1.09 ± 0.01	1.04 ± 0.01	1.13 ± 0.09	1.03 ± 0.04	1.10 ± 0.08	1.10 ± 0.08	1.13 ± 0.09	1.19 ± 0.04	1.02 0.01	1.21 ± 0.10

Средние данные 4-5 опытов.

леондами наблюдается при образовании лактата. Гуаниновые и инозиновые нуклеотиды достоверно подавляют НАД-ЛДГ активность в митохондриях мозга и печени, при этом несколько повышая активность НАДН-зависимого фермента в печени.

Солоставляя полученные результаты (табл. 1, 2), можно заметить, что как и в цитоплазме, так и в митохондриях, выделенных из тканей мозга и печени кур, реакция образования лактата протекает намного интенсивнее процесса его дегидрирования. Причем эти процессы протекают интенсивнее в цитоплазме, чем в митохондриях.

Таким образом, как в цитоплазме, так и в митохондриях мозга и печени кур равновесие ЛДГ-реакции резко сдвинуто в сторону синтеза лактата. Отдельные модуляторы из аденинового, гуанинового и инозинового ряда, обладающие активирующим и ингибирующим действием, неодинаково влияют на прямую и обратную реакции ЛДГ. При этом все исследованные модуляторы в какой-то степени ингибируют НАД-ЛДГ активность митохондрий мозга. Почти аналогичное действие этих соединений отмечается в митохондриях печени. В цитоплазме же изученных органов действие эффекторов в основном направлено на активирование НАД-ЛДГ реакции. Аналогичная тенденция отмечается также при реакции неогенеза лактата как в цитоплазме, так и в митохондриях. На основании проведенных исследований можно заключить, что степень регуляции активности ЛДГ соединениями пурипнуклеотидного ряда в различных тканях и сила действия эффекторов связаны как с природой использованного кофактора, так и с направлением ЛДГ-реакции.

Институт биохимии АН Армянской ССР

Поступило 27.II 1984 г.

ԱՎԻՏԱՏԻԵԶԻԴՐՈՒԳԵՆԱԶԱՅԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ԿԱՐԳԱՎՈՐՈՒՄԸ
ՊՈՒՐԻՆՆՈՒԿԵՈՏԻԳՆԵՐՈՎ ԵՎ ՆՈՒԿԼԵՈԶԻԳՆԵՐՈՎ ՀԱՎԵՐԻ
ՀՅՈՒՍՎԱՆՔՆԵՐՈՒՄ

Գ. Շ. ԲԱՏԻԿՅԱՆ, Ա. Ա. ՍԻՄՈՆՅԱՆ

Հետազոտվել է տարրեր պուրիննուկլեոտիդների և նուկլեոզիդների ազդեցությունը հավերի ուղեղի և լյարդի միտոքոնդրիանների ցիտոպլազմայի լակտատ-դեհիդրոգենազայի ակտիվության վրա: Տեսչը է արվել, որ նշված նյութերով ֆերմենտի ակտիվությանը կարգավորումը սերտորեն կապված է օգտագործված կոֆակտորի (ՆԱԳ և ՆԱԴՄ) բնույթի հետ:

REGULATION OF LACTATE DEHYDROGENASE ACTIVITY
IN HEN TISSUES BY PURIN NUCLEOTIDES AND NUCLEOSIDES

G. G. BATIKIAN, A. A. SIMONIAN

The effect of various purin nucleotides and nucleosides on the mitochondrial and cytoplasmic lactate dehydrogenase of hen brain and liver has been investigated.

It has been shown that the regulation of the enzyme activity by the marked substances is closely related to the nature of the cofactor used (NAD and NADH).

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Батикян Г. Г., Мовсесян С. Г. Биолог. ж. Армении, 29, 12, 1976.
2. Батикян Г. Г., Симонян А. А. Биолог. ж. Армении, 34, 8, 807, 1981.
3. Мовсесян С. Г., Мовсесян Н. О. Вопросы биохимии мозга, 10, 75, Ереван, 1975.
4. Палладин А. В., Курсенко О. В. Биохимия, 26, 2, 385, 1961.
5. Askton A. R., Potya G. M. Biochem. J., 177, 501, 1978.
6. Brown A. T., Cristlan C. P. Arch. Oral. Biol., 19, 6, 481, 1974.
7. Brody J. A., Bain J. A. Biol. Chem., 195, 6x5, 1952.
8. Calker D., Muller M., Hamprecht B. J. Neurochem., 33, 939, 1979.
9. Classen J., Hustrulid R. Biochim. Biophys. Acta, 167, 2, 221, 1968.
10. Derda D. F., Milles M. F., Schweppe J. S., Jungmann R. A. J. Biol. Chem., 235, 23, 11112, 1980.
11. Lowry O. H., Feselbrough K. J., Farr A. L., Randall R. J. J. Biol. Chem., 19, 365, 1951.
12. Lluis C., Bozal J. Rev. exp. physiol., 32, 2, 143, 1976.
13. Wroblewski F., La Die J. S. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 90, 210, 1955.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXVIII, № 7, 1985

УДК 638.2

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПАРТЕНОКЛОНОВ В ЦЕЛЯХ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТА ГИБРИДИЗАЦИИ У ТУТОВОГО ШЕЛКОПРЯДА

С. М. САРКИСЯН, Р. М. ГРИГОРЯН

Показано, что партеноклоны тутового шелкопряда, создаваемые высокотемпературной активацией неоплодотворенных яиц, могут быть использованы в качестве материнского компонента в скрещиваниях с высокошелконосными двуполоразмножающимися породами для получения гетерозисных клоновродных гибридов.

Клоновродные гибриды в отношении продуктивности имеют преимущества по сравнению разводными в промышленных условиях гибридами.

Ключевые слова: тутовый шелкопряд, партеноклоны, клоновродные гибриды, гетерозис.

Разработанный академиком Б. Л. Астауровым метод искусственного побуждения неоплодотворенных яиц тутового шелкопряда к девственному развитию с помощью высокотемпературной обработки [1] своей доступностью и эффективностью позволяет вести масштабные поиски в направлении выявления и отбора особей, яйца которых обладают высокой наследственно обусловленной склонностью к партеногенезу.

В практическом отношении особенно важно, что указанный метод обеспечивает поддержание потомства отобранных особей в поколениях и создание из них линий шелкопряда, постоянно размножающихся без участия самца. Кроме того, установлено, что высокотемпературная об-