

- в. Хачатрян Г. С., Бахуцц Г. Г. Биолог ж. Армения, 38, 222—227, 1985.
9. Amana F., Kitagawa T., Akamatsu L. Cell. Struct. and Funct., 8, 459—463, 1963.
10. Antonoff R. S., Fergusson J. J. J. Biol. Chem., 229, 3319—3321, 1974.
11. Blomstrand C., Hamberger A. J. J. Neurochem., 16, 1401—1407, 1969.
12. Burton K. Biochem. J., 62, 315—323, 1956.
13. Chang R. S. L., Tran N. T., Podastlo S. E., Snyder S. H. Soc. Neurosci., 4, 511, 1978.
14. Henn F. A. Adv. in Cell Neurobiol., 1, 379—403, 1981.
15. Lowe C. R. Eur. J. Biochem., 73, 265—274, 1977.
16. Lowry O. H., Rosebrough N. H., Faer A. L., Randell R. J. J. Biol. Chem., 193, 265—275, 1951.
17. Robison G. A., Butcher R. W., Sutherland E. W. Cyclic AMP. New York, Academic Press, 1971.
18. Tata J. R. Mol. and Cell Endocrinol., 36, 17—27, 1984.

Поступило 29.IV 1986 г.

Биолог. ж. Армения, т. 39, № 9, с. 787—790, 1986

УДК 547.263

С-КОНЦЕВЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ БЕЛКА ПРОТЕОЛИПИДОВ ИЗ МОЗГА И НЕКОТОРЫХ ДРУГИХ ОРГАНОВ КРЫСЫ

Т. Н. КАЗАРЯН

Институт биохимии АН Армянской ССР, Ереван

Аннотация — С-концевыми аминокислотами белка протеолипидов из головного мозга являются фенилаланин и лизин, а из сердца, печени, почек (корковый, мозговой слой) и скелетной мышцы — только лизин.

Մանրագիր — Տույ՞ր ի տրվել, որ գլխուղեղի պրոտեոլիպիդների սպիտակուցի С-ձայրային ամինաթթուներն են ֆենիլալանինը և լիզինը, իսկ սրտի, լյարդի, երիկամ-էլերի (ուղեղային և կեղևային մասերի) և կմախքային մկանիկը՝ լիզինը:

Abstract — Phenylalanine and lysine have been identified as the C-terminal amino acids of the proteolipids from brain and lysine as the C-terminal amino acid of proteolipids from heart, liver, kidney (cortical and medullary parts) and skeletal muscle.

Ключевые слова: протеолипиды, С-концевые аминокислоты, органы крысы.

В связи с разной локализацией и предполагаемой функцией гидрофобных мембранных липопротенинов — протеолипидов (ПЛ) в различных органах и субклеточных образованиях представляет интерес выяснение сходства и различий белкового и липидного компонента ПЛ, выделенных из разных источников. Ранее нами были представлены данные, касающиеся N- и С-концевых аминокислот ПЛ из серого и белого вещества мозга и сердца крупного рогатого скота и С-концевых аминокислот ПЛ, изолированных из некоторых субклеточных образований мозга крысы. В продолжение этих исследований мы изучали С-концевые аминокислоты ПЛ, выделенных из различных органов крысы (головной мозг, сердце, печень, почки — корковый, мозговой слой, скелетная мыш-

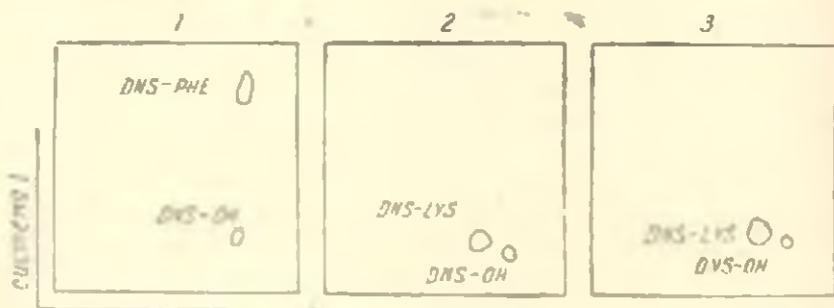
на-смешанная). Имеющиеся в литературе данные относительно С-концевых аминокислот ПЛ, выделенных из различных органов, малочисленны и несколько разноречивы [11, 12].

Следует отметить, что изучение N- и С-концевых аминокислот ПЛ представляет определенные трудности вследствие необычных свойств их белковой части. В силу своей гидрофобности, обусловленной высоким содержанием неполярных аминокислот, белок ПЛ имеет тенденцию к агрегации и потере растворимости, особенно по мере удаления липидов.

Материал и методика. Исследования проводили на 3—6-месячных крысах. Животных декаантировали, извлекали головной мозг целиком, сердце, печень, почки (корковый, мозговой слои), мышцы бедра и очищали на льду от крови и оболочек. Липидные экстракты, содержащие ПЛ, получали и отмывали по методу Фолча и др [7]. ПЛ выделяли из промытых липидных экстрактов методом эмульгирования—центрифугирования [4, 8] с той разницей, что опускали последнее центрифугирование при 200 g. Полученные препараты неочищенных ПЛ (НПЛ), содержащих 30% белка, подвергали лиофилизации и далее не очищали, так как предварительные исследования показали, что по мере очистки, ведущей к удалению липидов, количество выделяемых N- и С-концевых аминокислот резко снижается.

Для определения С-концевых аминокислот лиофилизованные осадки препаратов НПЛ предварительно окисляли надмуравьиной кислотой [9], затем подвергали ферментативному гидролизу карбоксипептидазой А (фирма Sigma, США) и Б (фирма Sigma, США или Serva, ФРГ) и мл 0,2 М N-этилморфолин-ацетатном буфере (рН 8,1) в соотношении фермент—субстрат 1:10 для карбоксипептидазы А и 1:20 для карбоксипептидазы В. Смесь инкубировали при 37° в течение 30 мин. Реакцию останавливали добавлением 0,3 мл 20%-ной ТХУ. Последнюю удаляли из супернатантов экстракцией 2 раза с 2 мл диэтилового эфира [3, 12]. Пробы высушивали, подвергали даяскарированию и дальнейшей тонкослойной хроматографии на пластинках, покрытых силикагелем G (фирма Sigma, США), размером 6X6 см [1].

Результаты и обсуждение. После инкубации с карбоксипептидазой А НПЛ, выделенных из головного мозга, на тонкослойных хроматограммах выявлялось одно пятно, соответствующее фенилаланину (рис., 1). Ферментативный гидролиз тех же препаратов с карбоксипептидазой Б приводил к высвобождению также одной аминокислоты—лизина (рис., 2).



система II

Двухмерная тонкослойная хроматограмма: 1—ПЛ из головного мозга крысы после ферментативного гидролиза карбоксипептидазой А; 2—после ферментативного гидролиза карбоксипептидазой Б с последующим даяскарированием; 3—ПЛ из сердца, печени, почек (корковый мозговой слой) и скелетной мышцы—после ферментативного гидролиза карбоксипептидазой Б. Система I: диэтиловый эфир—метанол—ледяная уксусная кислота, 100:5:1. Система II: метилцетат—изопропанол—аммиачный гидроксид, 9:7:4.

Таким образом, при исследовании С-концевых аминокислот ПЛ из головного мозга были обнаружены две аминокислоты—фенилаланин и лизин (табл.).

Аминокислоты, высвобожденные из ПЛ различных органов при обработке КПБ и КПА

Органы	Примененные карбоксипептидазы	Высвобожденные аминокислоты
Целый мозг	КПА	PHL
	КПБ	LYS
Сердце	КПА	—
	КПБ	LYS
Почки корковый слой мозговой слой	КПА	—
	КПБ	LYS
	КПА КПБ	— LYS
Печень	КПА	—
	КПБ	LYS
Скелетная мышца (смешанная)	КПА	—
	КПБ	LYS

При ферментативном гидролизе с карбоксипептидазой А ПЛ, выделенных из сердца, печени, почек (корковый, мозговой слой) и скелетной мышцы, высвобождения аминокислот не наблюдалось (табл.). Инкубация с карбоксипептидазой Б приводила к высвобождению только одной аминокислоты—лизина (рис., 3, табл.). На основании этих данных можно прийти к заключению, что в отличие от ПЛ мозга, ПЛ, выделенные из остальных органов, характеризуются наличием одной С-концевой аминокислоты—лизина.

Полученные результаты в основном согласуются с данными Викар-та и Лис [12], согласно которым С-концевой аминокислотой ПЛ, выделенных из сердца, печени и почек, является лизин. Кроме лизина этими авторами в составе С-концевых аминокислот ПЛ указанных органов были обнаружены также небольшие количества глицерина и треонина. Однако они полагают, что С-концевой аминокислотой ПЛ этих органов является именно лизин, так как при гидразинолизе он также был преобладающей аминокислотой наряду со следовыми количествами других аминокислот.

Ранее нами, а также другими авторами было показано, что С-концевой аминокислотой ПЛ, выделенных из миелина мозга крысы и крупного рогатого скота, является фенилаланин, а митохондрий—лизин [2]. Полученные в настоящей работе результаты вполне согласуются с этими данными и подтверждают высказанное предположение о существовании двух типов ПЛ: миелинового и митохондриального [6]. В головном мозге, где распределение ПЛ гетерогенно, и они, являясь в основном компонентами миеллина, входят также в состав митохондрий и других субклеточных частиц [5, 10], обнаружены две С-концевые аминокислоты: фенилаланин и лизин. В других же органах, где ПЛ являются в основном компонентами митохондрий, выявлена только одна С-концевая аминокислота—лизин.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Казарян Т. И., Манукян К. Г. Биолог. ж. Армении, *34*, 5, 502—504, 1981.
2. Казарян Т. И. IX Всесоюзн. конф. по биохимии нервной системы, 57. Ереван, 1983.
3. Казарян Т. И., Левонян К. Л., Манукян К. Г. Биолог. ж. Армении, *36*, 4, 322—325, 1984.
4. Манукян К. Г., Киракосян Л. Г., Левонян К. Л. Вопросы биохимии мозга, *7*, 140—149, Ереван, 1972.
5. Манукян К. Г., Левонян К. Л., Степанян А. А., Киракосян А. Г., Казарян Т. И. Вопросы биохимии мозга, *12*, 68—80. Ереван, 1977.
6. Манукян К. Г. Вопросы биохимии мозга, *13*, 86—106, Ереван, 1979.
7. Folch J., Webster G. R., Lees M. Federa. proc., *18*, 1, 228, 1959.
8. Folch J., Lees M., Sloane-Stanley G. H. J. Biol. Chem., *127*, 497—509, 1957.
9. Hill C. H. W. In: Methods in Enzymology, *11*, 197—199, New York, 1957.
10. Lapelina E. G., Soto E. F., De Robertis E. I. Neurochem., *15*, 437, 1968.
11. Wiggans R. C., Del Valle G., Jaffe S. J. Neurochem., *22*, 337, 1974.
12. Wiskart D. H., Lees M. J. Neurochem., *20*, 1303—1315, 1973.

Поступило 2.VII 1985г.