

может зависеть от степени выраженности процесса ПОЛ в том или ином отделе мозга, а в некоторых случаях и от характера направленности его, которая нередко может оказаться диаметрально противоположной.

ЛИТЕРАТУРА

1. Владимиров Ю. А., Арчаков А. Н. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., 1972.
2. Григорян В. З., Ханбабян М. В., Никогосян Л. А., Татевосян Э. Т. Биолог. ж. Армения, 26, 9, 35—40, 1973.
3. Крыжановский Г. Н., Никушин Е. В., Воронко В. А., Браславский В. Е. Бюлл. экпер. биол., 96, 11, 36—38, 1983.
4. Крыжановский Г. Н., Шандра Л. А. Бюлл. экпер. биол., 100, 11, 545—547, 1985.
5. Моисеев И. Н. Нейрохимия, 7, 2, 264—267, 1988.
6. Никушин Е. В., Крыжановский Г. Н. Пат. физиол. и экпер. терапия, 6, 19—24, 1987.
7. Прилико Л. Л., Казин В. Е., Мертсон Ф. З., Богданова Е. Д., Брусовник В. И., Орлов О. П., Архипенко О. В. Бюлл. экпер. биол., 96, 11, 6—7, 1983.
8. Симонян М. А., Табачникова С. И., Громов Л. А. Нейрохимия, 3, 2, 124—129, 1984.
9. August J., Outinier C., Gussain S., Walker R. J. J. *Physiol. (Cir. Bril.)*, 40, 61, 1988.
10. Bralrowsky S., Kunitomo M., Mentni C., Silva-Barral, C., Ritche D., Naquet R. *Brain Res.*, 442, 1, 175—179, 1988.
11. Lowry O., Rosebrough N., Farr A., Randall R. J. *Biol. Chem.*, 193, 265—275, 1951.
12. Martin B. J., Marley R. J., Miner L. L., Wehner J. M. *Pharmacol. Biochem. and Behav.*, 23, 3, 501—507, 1988.
13. Patole M. S., Swarcop A., Ramasarna T. J. *Neurochem.*, 47, 1, 1—8, 1986.
14. Stasjov Bo K., Rehnerona S., Smith D. *Acta physiol. scand.*, 110, 492, 121—128, 1980.
15. Wgbenga M. P., Murphy M. G., Robrtson H. A. *Eur. J. pharmacol.*, 75, 1, 79—80, 1981.

Получено 18.VII 1989 г.

Биолог. ж. Армения, № 11.(42), 1989

УДК 577.352.315+23

ЛАКТАТ КАК ИСТОЧНИК ЭНЕРГИИ В РАБОТЕ МУЛЬТИФЕРМЕНТНОГО КОМПЛЕКСА *E. COLI*

К. А. БАГРАМЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биофизики

Показано, что лактат может служить источником энергии для поглощения ионов K^+ как для АТФ-зависимого транспортного комплекса, так и только для транспортера K^+ у анаэробно выращенных бактерий *E. coli*.

Ցույց է տրված, որ *E. coli* բակտերիաներով կաթնաթթվի կարող է հանդիսանալ աղան էներգիայի աղբյուր K^+ -իոնների կլանման համար՝ ինչպես АТФ-ից կախված տրանսպորտային կոմպլեքսի, այնպես էլ K^+ -իոնների տեղափոխվել համար:

It has been demonstrated that lactate can serve as an energy source for K^+ accumulation both for АТФ-driven transport complex and K^+ -carrier in anaerobically grown *E. coli*.

Ранее нами было показано [1], что мультиферментный комплекс (суперкомплексе), состоящий из H^+ -АТФазы, транспортера ионов K^+ Тгк-системы и формат-водород лиаза обменивает $2H^+$ клетки на K^+ среды и при этом окисляет формат до CO_2 и H_2 . В то же время известно, что бактерии *E. coli*, на которых установлен этот факт, осуществляют смешанное брожение, при котором дегралация глюкозы ведет к образованию лактата с последующим образованием этанола, ацетата и формата [2].

Целью настоящей работы явилось исследование роли лактата как экзогенного источника энергии и формата в функционировании мультиферментного комплекса, обменивающего $2H^+$ клетки на K^+ среды у анаэробно выращенных *E. coli*.

Материал и методики. В работе использовали дикий тип *Escherichia coli* K-12 (λ). Анаэробный рост бактерий осуществляли без перемешивания в пептонной среде с глюкозой в литровых колбах, содержащих 800 мл среды. В случаях необходимости ингибирования синтеза формат-водород лиаза бактерии выращивали в той же среде, но содержащей 100 мМ нитрата натрия. Аэробные клетки были получены в солевой среде с сукцинатом в литровых колбах с 150 мл среды при непрерывном встряхивании. Бактерии выращивали в течение 18–22 ч при 37°. Титр бактерий определяли подсчетом колоний после высева на твердые питательные среды. После выращивания клетки отмывали в дистиллированной воде или соответствующем растворе и переносили в экспериментальный раствор.

В работе использовали пептон (*Pharmachim*, Болгария), тетрафенилфосфоний бромистый, TPP⁺ (*Сhemapol*, ЧССР), трисаминомети, (*Reanal*, Венгрия), стандартные буферные растворы (*Radiometer*, Дания), N,N'-дциклогексилкарбодимид, ДЦКД (*Sigma*, США) и ряд отечественных реактивов.

Потоки TPP⁺, H^+ и K^+ через мембраны бактерий, обработанные 10 мМ EDTA, оценивали по изменению активности этих ионов в среде [3, 4]. Окислительно-восстановительный потенциал (E_H) определяли с помощью электрода из титансиликатного стекла типа ЭО-021, изготовленного в лаборатории электрохимии стекла Ленинградского государственного университета. Образование H_2 определяли платиновым электродом типа ЭПВ-1. Важной особенностью электродов из электропроводящих стекол является их неспособность служить, как платина, катализатором большинства окислительно-восстановительных взаимодействий, в частности, у них отсутствует чувствительность к газообразным O_2 и H_2 . Используя оба типа электродов, легко было отличать редокс-состояние суспензии от появления в среде газообразного H_2 . Чтобы убедиться в том, что платиновый электрод в определенных случаях записывает появление в среде H_2 параллельно были проведены контрольные определения H_2 химическим методом, основанным на превращении окрашенного раствора, содержащего ионы $[MnO_4^-]$ —в бесцветный раствор, содержащий $MnSO_4$ в соответствии с реакцией:



Результаты и обсуждение. Используя градуальные добавки глюкозы в качестве экзогенного источника энергии, мы отмечали, что поглощение ионов K^+ имеет место только в период гликолиза, когда синтезируется АТФ и выбрасываются ионы H^+ в среду. В этот же период наблюдается заметное падение мембранного потенциала $\Delta\psi$, E_H и образование H_2 (рис. 1), и это как будто не отражается на поглощении H^+ . В то же время вход K^+ как бы сопровождается падением величины $\Delta\psi$, тогда как выход его ведет к восстановлению потенциала. Эти данные

прямо указывают на $\Delta\psi$ -независимое поглощение K^+ в присутствии экзогенного источника энергии—глюкозы.

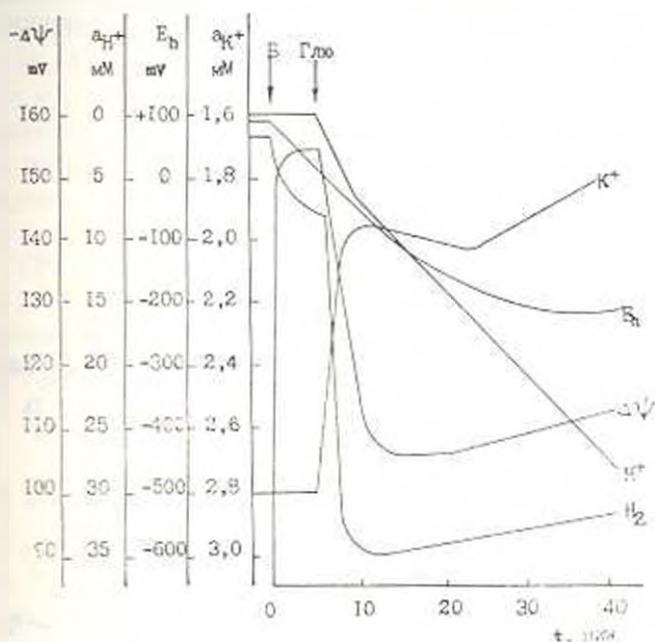


Рис. 1. Определение потоков H^+ , K^+ , величин мембранных потенциалов ($\Delta\psi$), редокс-состояния мембран (E_h) и производства молекулярного водорода (H_2) анаэробно выращенными бактериями *E. coli*. a_{H^+} и a_{K^+} — активности ионов H^+ и K^+ в бактериальной суспензии. E_h — окислительно-восстановительный потенциал стеклянного электрода, выброс H_2 определяли платиновым электродом качественно (электродные потенциалы даны по шкале E_h). Глюкозу вносили после бактерий (Б) в концентрации 22 мМ (Глю). Экспериментальный раствор содержит: фосфатно-трисовый буфер, 1 мМ KCl, 1 мМ NaCl, 0,4 мМ $MgSO_4$, pH 7,5. Каждая запись является одним из 3–5 статистически достоверных результатов данной серии экспериментов.

Как видно из рис. 2, еще до введения в экспериментальную среду другого источника энергии—лактата, в бактериях также обнаруживаются высокая разность потенциалов и восстановительные процессы, фиксируемые как платиновым, так и стеклянным электродами. Введение в среду лактата приводит к поглощению K^+ , уменьшению абсолютной величины $\Delta\psi$, падению E_h и выбросу H_2 . Характерно, что уменьшение интенсивного поглощения ионов K^+ сопряжено с восстановлением исходного уровня потенциала и прекращением выброса H_2 . Таким образом, так как производство H_2 целиком определяется работой формат-водород лиазы у анаэробов [1], а поглощение K^+ происходит с помощью H^+ — K^+ -насоса [5], то, по всей видимости, лактат также может быть использован в качестве источника формата и энергии при работе суперкомплекса.

Следует отметить, что замена формат-водород лиазы на нитрат-редуктазу при выращивании бактерий *E. coli* в 100 мМ $NaNO_3$, т. е. при переводе клеток на нитрат-нитритное дыхание, также приводит к по-

глощению K^+ , но в этом случае не наблюдается производства H_2 , присущего формат-водород лиазе (рис. 3).

Ранее было установлено, что только анаэробно выращенные клетки *E. coli* осуществляют АТР-зависимое поглощение ионов K^+ , тогда

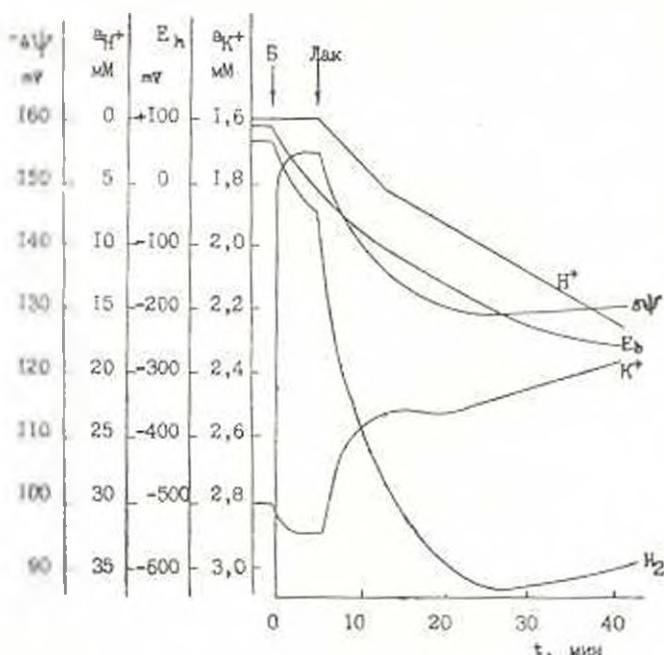


Рис. 2. То же, что и на рис. 1, но в присутствии 22 мМ лактата натрия (Лак).

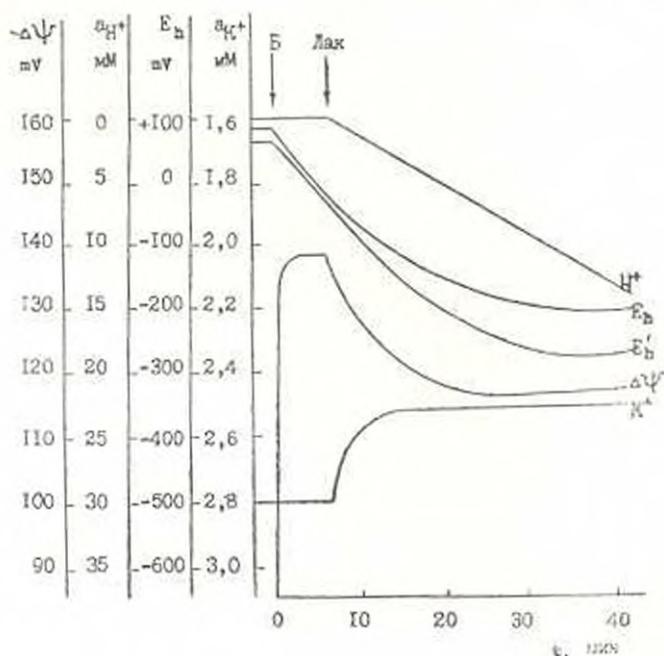


Рис. 3. Измерения, подобные приведенным на рис. 2, но для анаэробно выращенных *E. coli* в присутствии $NaNO_3$. E_h —потенциал платинового электрода в условиях отсутствия молекулярного водорода (совпадает по величине стеклянного электрода).

каз во всех других случаях K^+ поступает по градиенту электрического поля [3]. Нами было показано, что добавление в среду N,N' -двинклогексилкарбодимида—ингибитора H^+ -АТФазы, не изменяя величины $\Delta\phi$, подавляет функции только мультиферментного комплекса у анаэробов, где H^+ -АТФаза важна для поглощения K^+ [1]. Это подтверждается и тем, что добавление арсената, блокирующего образование АТФ, также сказывается только на поглощении ионов K^+ у анаэробов, выращенных без нитрата и присутствии лактата в качестве экзогенного источника энергии (не показано).

Лактат, деградируя до ацетата, способствует образованию одной молекулы АТФ. В то же время в параллельном пути образуется формат. Этим и объясняется то, что мультиферментный комплекс получает как энергию (через H^+ -АТФазу), так и восстановительные эквиваленты от формат-водород лиазы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баграмян К. А., Мартиросов С. М. Биофизика, (в печати).
2. Готшалк Г. Ки.: Метаболизм бактерий, 147, М., 1982.
3. Мартиросов С. М., Трчунян А. А. Биофизика, 31, 626, 1986.
4. Варданян А. Г., Мартиросов С. М. Биофизика, 31, 833, 1986.
5. Martirosov S. M., Trchounian A. A. Bioelectrochem. Bioenerg., 9, 459, 1982.

Поступило 30.XI 1988 г.

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ МЕТАЛЛОВ НА УРИКАЗУ ИЗ *BACILLUS FASTIDIOSUS*

С. Ш. ТАТЯКЯН, А. Л. СИМОНЯН

Ереванский физический институт ГКАЭ СССР

Показано, что ионы меди в концентрации 10^{-6} М приводят к увеличению активности уриказы из *B. fastidiosus* в среднем на 10%. в концентрации $5 \cdot 10^{-3}$ М—к ингибированию на 57%. ЭДТА не влияет на активность фермента. Имобилизованная уриказа до концентрации $5 \cdot 10^{-2}$ М не чувствительна к ионам меди. Имобилизация фермента в присутствии высоких и низких концентраций ионов меди приводит соответственно к уменьшению или увеличению активности препарата. Сделан вывод о том, что Cu^{2+} не входит в состав активного центра, а играет регуляторную роль.

Նույն է տրվում, որ 10^{-6} Մ խտության զեպրում պղնձի իոնները հանգեցնում են *B. fastidiosus*-ից ուրիկազայի ակտիվության միջին հաշվով 10% աճին, իսկ $5 \cdot 10^{-3}$ Մ խտության զեպրում՝ 57% ննջմանը: EDTA-ն չի ազդում ֆերմենտի ակտիվության վրա: Իմոբիլիզացված ուրիկազան միջին $5 \cdot 10^{-2}$ Մ խտությունը զգալուն չէ պղնձի իոնների նկատմամբ: Ֆերմենտի իմոբիլիզացումը պղնձի իոնների բարձր և ցածր խտությունների ապալության զեպրում համապատասխանաբար ընդուն է սյուտրաստուկի ակտիվության նվազման կամ աճին: Ընթացողում է, որ Cu^{2+} չի մտնում ակտիվ կենտրոնի կազմի մեջ, բայց խաղում է կարգավորիչ դեր: