



Биол. журн. Армении, 2 (68), 2016

К ХАРАКТЕРИСТИКЕ БЕЛКОВЫХ И ЛИПИДНЫХ КОМПОНЕНТОВ ПРОТЕОЛИПИДОВ ИЗ МИТОХОНДРИЙ КЛЕТОК РАЗНЫХ ОРГАНОВ КРЫСЫ

К.Г. МАНУКЯН, А.А. СТЕПАНЯН, К.Л. ЛЕВОНЯН,
Т.И. КАЗАРЯН, Л.Г. КИРАКОСЯН

Институт биохимии им. Г.Х.Бунятына НАН РА
rafael-nelly@mail.ru

Изучали особенности белковых и липидных (фосфолипидных) компонентов протеолипидов (ПЛ), выделенных из митохондрий клеток различных органов крысы: головной мозг (кора мозга), сердце, печень, почка. В составе митохондрий клеток коры мозга выявлены в основном два белка с молекулярной массой I – 35,43 кДа; II – 16,48 кДа. Обнаружена только одна пара терминальных аминокислот: N-концевая аспарагиновая кислота и C-концевой лизин. Показано, что для ПЛ всех изученных митохондрий характерно высокое содержание типично митохондриального фосфолипида – дифосфатидилглицерина (кардиолипина) в составе связанных с ПЛ белками фосфолипидов. В более прочносвязанной с ПЛ белками фракции липидов митохондрий клеток коры головного мозга и сердца превалировал только этот фосфолипид, тогда как эта же фракция липидов из ПЛ митохондрий клеток печени и почки характеризовалась преобладанием двух кислых фосфолипидов: дифосфатидилглицерина и фосфатидилинозита.

*Митохондрии клеток разных органов – протеолипиды – белковые компоненты –
фосфолипидные компоненты*

Ուսումնասիրվել են առնետի տարբեր օրգանների՝ գլխուղեղի կեղևի, սրտի, լյարդի, երիկամի բջիջների միտոքոնդրիումներից անջատած պրոտեոլիպիդների (ՊԼ) սպիտակուցային և լիպիդային (ֆոսֆոլիպիդային) բաղադրիչների առանձնահատկությունները: Գլխուղեղի կեղևի բջիջներից ստացված միտոքոնդրիումների ՊԼ-ի կազմում հայտնաբերվել են հիմնականում երկու I – 35,43 կԴա, II – 16,48 կԴա մոլեկուլային զանգված ունեցող սպիտակուցներ: Հայտնաբերվել է ծայրային ամինաթթուների միայն մեկ զույգ՝ N-ծայրային ասպարագինաթթու և C-ծայրային լիզին: Ցույց է տրվել, որ բոլոր ուսումնասիրված օրգանների բջիջների միտոքոնդրիումներից ստացված ՊԼ-ի համար բնորոշ է տիպիկ միտոքոնդրիումային ֆոսֆոլիպիդի՝ դիֆոսֆատիդիլգլիցերինի (կարդիոլիպինի) բարձր պարունակությունը ՊԼ-սպիտակուցների հետ կապված ֆոսֆոլիպիդների կազմում: Գլխուղեղի կեղևի և սրտի բջիջների միտոքոնդրիումների ՊԼ-ի սպիտակուցների հետ ավելի ամուր կապված լիպիդների ֆրակցիայում միայն այդ ֆոսֆոլիպիդն է գերակշռում, մինչդեռ լյարդի և երիկամի ՊԼ-ի հետ կապված լիպիդների նույն ֆրակցիան բնութագրվում է երկու թթու ֆոսֆոլիպիդի՝ դիֆոսֆատիդիլգլիցերինի և ֆոսֆատիդիլինոզիտի բարձր պարունակությամբ:

*Տարբեր օրգանների բջիջների միտոքոնդրիումներ – պրոտեոլիպիդներ –
սպիտակուցային բաղադրիչներ – ֆոսֆոլիպիդային բաղադրիչներ*

Some specific features of protein and lipid (phospholipid) components of proteolipids (PL) isolated from mitochondria of rat different organs – brain cortex, heart, liver, kidney cells were studied. In composition of PLs from brain cortex cells mitochondria two proteins with a molecular

mass of I – 35,43 kDa; II – 16,48 kDa were revealed. Only one pair of terminal amino acids: N – terminal aspartic acid and C-terminal lysine was found. PLs of all studied mitochondria preparations were characterized by high concentration of typical mitochondrial phospholipid – diphosphatidylglycerol (cardiolipin). In tightly bounded with PL lipid fractions of brain cortex and heart cells mitochondria only this one phospholipid was predominating, while the same fractions of PLs from liver and kidney cells mitochondria were characterized by predominance of two acidic phospholipids: diphosphatidylglycerol and phosphatidylinositol.

Mitochondria of different organs cells – proteolipids – protein components – phospholipid components

Широко распространённые, типично внутренние гидрофобные мембранные белки – протеолипиды (ПЛ), связанные с липидами, являются необходимыми компонентами клеточных мембран животных, растительных и микробных клеток [5, 16]. Особенно богата ПЛ нервная ткань, где они локализованы в основном в миелине [5, 6, 16], однако в небольших количествах входят в состав также других субклеточных образований нервной ткани [5, 8]. В клетках других органов, особенно сердца, которое после мозга наиболее богато ПЛ, они являются главным образом компонентами митохондрий [3, 18], хотя в определённых количествах обнаружены в составе и других субклеточных структур. В настоящее время очевидно, что, наряду со структурной стабилизацией мембран, ПЛ участвуют в ряде важных клеточных функций, связанных с мембранами, в частности, митохондриальными. Митохондрии играют решающую роль в различных клеточных процессах, включая продукцию большей части биологической энергии: β окисление жирных кислот, цикл мочевины, программированную гибель клеток – апоптоз и т.д. [10]. Будучи структурными компонентами митохондриальных мембран (в основном внутренней мембраны митохондрий), ПЛ принимают участие в основных функциях этих органелл. ПЛ связаны с синтезом АТФ в митохондриях, так как участвуют в формировании протонпроводящей и фосфатсвязывающей субъединиц мембранного F_o фрагмента митохондриальной H^+ -АТФазы (F-типа АТФазы) [2, 9, 12]. Фермент пересекает внутреннюю мембрану митохондрий и образует АТФ из АДФ в присутствии протонного градиента через мембрану, который генерируется электрон-транспортными комплексами дыхательной цепи. АТФазы F-типа состоят из двух структурных доменов – F_1 , который содержит экстрамембранное каталитическое ядро, и F_o – содержит трансмембранный протонный канал [1, 2, 12].

В связи с вышесказанным, в ходе исследований по изучению характерных особенностей ПЛ, выделенных из различных субклеточных структур нервной и других тканей, представляло интерес изучение особенностей белковых и липидных компонентов ПЛ из митохондрий клеток различных органов, отличающихся по структуре и функциям (коры головного мозга, сердца, печени, почки), что и явилось задачей настоящей работы. Ранее нами было показано, что в наибольших количествах и более прочно с ПЛ белками (ПЛБ) связаны фосфолипиды [5]. В связи с этим наряду с некоторыми характеристиками белковых компонентов изучали качественный состав и количественное содержание фосфолипидов во фракциях липидов, менее и более прочно связанных с ПЛБ митохондрий клеток различных органов. Следует отметить, что связанные с белками липиды играют немаловажную роль в сохранении конформационной целостности ассоциированных с ними мембранных белков и в осуществлении их функций [19].

Материал и методика. Опыты ставили на беспородных белых крысах массой 180-200 г. Крыс декапитировали под лёгким эфирным наркозом. Головной мозг быстро извлекали и помещали на лёд. Печень *in situ* перфузировали через воротную вену 0,15 М охлаждённым раствором KCl и средой выделения до светло-жёлтого цвета, затем извлекали из брюшной полости, одновременно извлекали сердце и почки. Все органы хранили при 0-4°C. Митохондрии клеток различных органов выделяли согласно известным методам с некоторыми внесёнными нами изменениями. **Кора головного мозга.** Большие полушария головного мозга тщательно очищали от крови и мозговых оболочек, используя 0,9%-ный охлаждённый раствор NaCl. Кору мозга снимали со всей поверхности больших полушарий, размельчали и гомогенизировали в 10-кратном объёме 0,32 М раствора сахарозы. Выделение митохондрий клеток мозга проводили согласно схеме, описанной ранее [8]. **Сердце.** Удаляли предсердия, сосуды, жир, мышцу желудочков многократно промывали 0,1 М раствором KCl и средой выделения, обсушивали, тщательно измельчали, пропускали через давилку и гомогенизировали в 10-ти объёмах 0,44 М раствора сахарозы, содержащего 0,001 М EDTA, pH 7,4. Митохондрии выделяли методом дифференциального центрифугирования [4]. **Печень.** Освобождали от оболочек, жировой, соединительной ткани, размельчали, тщательно промывали 0,15 М раствором KCl и средой выделения, обсушивали и гомогенизировали в 10-ти объёмах 0,25 М раствора сахарозы, содержащего 0,001 М EDTA, pH 7,4. **Почка.** Освобождали от капсулы, удаляли лоханку, тщательно измельчали, кашицу промывали несколько раз средой выделения, обсушивали, гомогенизировали в 10-ти объёмах 0,44 М раствора сахарозы, содержащего 0,001 М EDTA, pH 7,4 (наша модификация). Митохондрии клеток печени и почки выделяли согласно методу [11].

Липидные экстракты митохондрий клеток различных органов получали и отмывали методами, описанными ранее [6, 8]. Выделение ПЛ и дальнейший анализ их белковых и липидных компонентов проводили в соответствии с ранее описанными методами [17].

Статистическую обработку результатов проводили по критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Согласно полученным данным, содержание ПЛБ в общих липидных экстрактах митохондрий клеток различных органов влажной ткани составляло в мг/г: $0,44 \pm 0,02$ (13) – в коре мозга; $0,56 \pm 0,03$ (11) – в сердце; $0,35 \pm 0,03$ (6) – в почке и $0,16 \pm 0,01$ (6) – в печени.

При диск-электрофорезе в ПААГ с ДДС-Na [6] ПЛБ из митохондрий клеток коры мозга были обнаружены две основные полосы. Первая, хорошо выраженная, интенсивно окрашенная, соответствующая белку с молекулярной массой $35,43 \pm 0,30$ (30) кДа – I и вторая, тоже хорошо выраженная, соответствующая белку с молекулярной массой – $16,48 \pm 0,27$ (20) кДа – II (рис. 1).

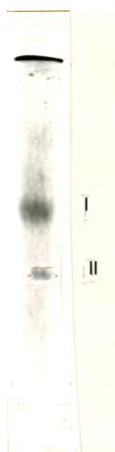


Рис. 1. Диск-электрофореграмма препарата ПЛБ из митохондрий клеток коры мозга крысы. I – белок с Mr 35,43 кДа, II – белок с Mr 16,48 кДа.

Следует отметить, что митохондриальные ПЛ склонны к сильной агрегации и при электрофоретическом разделении ведут себя аномально; их подвижность варьирует при разных условиях электрофореза, что очень затрудняет определение молекулярных масс и сравнение результатов разных авторов [1, 16]. В настоящее время наиболее изученным компонентом F_0 фактора является ответственный за транспорт протонов в митохондриях млекопитающих гидрофобный низкомолекулярный белок с молекулярной массой 8,0 кДа, способный специфически ковалентно присоединять NN' -дициклогексилкарбодиимид (ДССД) – ингибитор АТФазы. Этот ДССД связывающий белок является субъединицей “с” F_0 домена [15]. Исследования разных авторов [9, 14] показали присутствие двух различных конформационных состояний этого ПЛ в F_0 млекопитающих (мономера с молекулярной массой 8,0 кДа и димера с молекулярной массой 17,6 – 18,0 кДа), которые сохранялись в растворах ДДС-Na, но давали разные картины разделения в различных системах ПААГ с ДДС-Na. Поскольку при разделении в системе [20] с Na-фосфатным буфером, которая применялась и в наших опытах, определялась только димерная форма, можно предположить, что обнаруженный нами в составе ПЛ митохондрий клеток коры мозга более низкомолекулярный белок с молекулярной массой 16,48 кДа соответствует димеру ДССД связывающего белка. Что касается белка с молекулярной массой 35,43 кДа, то в силу склонности ПЛ митохондрий к агрегации и образованию олигомеров, можно предположить, что это результат агрегации низкомолекулярных белков. В пользу данного предположения свидетельствует и тот факт, что, несмотря на наличие двух основных полос на электрофореграммах, только одна пара концевых аминокислот – N-концевая аспарагиновая и C-концевой лизин были обнаружены при исследовании ПЛБ из свободных и синаптических митохондрий клеток коры мозга крысы [3].

Как отмечалось выше, основной задачей настоящей работы являлось выделение ПЛ из митохондрий клеток различных органов крысы в виде цельных растворимых липидно-белковых комплексов, “очищенных” в разной степени от липидов, и исследование, наряду с некоторыми характеристиками белковых компонентов, качественного состава и количественного содержания фракций, менее и более прочно связанных с ПЛБ фосфолипидов. Параллельно определяли фосфолипидный состав общих липидных экстрактов изучаемых препаратов митохондрий. Полученные результаты представлены в табл. 1, 2, 3, 4. Как видно из таблиц, суммарное содержание фосфолипидов в общих липидных экстрактах митохондрий клеток различных органов крысы было примерно одинаковым, только в препаратах митохондрий клеток коры мозга оно было несколько выше. Однако митохондрии клеток различных органов заметно отличались по процентному содержанию нейтральных и особенно кислых фосфолипидов (табл. 1, 2, 3, 4).

В настоящем сообщении приведены только данные для препаратов ПЛ, промытых смесью спирт+эфир 1:1 при +23°C [17]. Как видно из таблиц, фосфолипиды выделенных нами препаратов ПЛ митохондрий клеток различных органов составляли 39,55-47,85% от массы неочищенных ПЛ (НПЛ), которые содержат весь комплекс менее и более прочно связанных с ПЛБ липидов и 10,91-13,88% от массы “очищенных” ПЛ (ОПЛ), полученных в результате промывания НПЛ спирто-эфирной смесью при +23°C и содержащих фракцию более прочно связанных липидов [17]. По своему фосфолипидному составу НПЛ митохондрий клеток различных органов были в общем сходны со своими общими липидными экстрактами, только содержание дифосфатидилглицерина в НПЛ было несколько выше. Наряду со сходством, наблюдались совершенно определённые различия в фосфолипидном составе менее и особенно более прочно связанных с ПЛБ липидных фракций митохондрий клеток различных органов.

Таблица 1. Содержание отдельных фосфолипидов общего липидного экстракта, НПЛ, спиртоэфирных экстрактов НПЛ (менее прочно связанная фракция) и ОПЛ (более прочно связанная фракция) митохондрий коры мозга крысы, % Р от суммы Р фосфолипидов каждой фракции (M±m)

Фосфолипиды	Общий липидный экстракт	НПЛ	Спирто-эфирные экстракты НПЛ (менее прочно связанная фракция)	ОПЛ (более прочно связанная фракция)
Фосфатидилинозит	3,28±0,57 (4)	3,29	2,62±2,17(7)	11,26±0,66(8)
Фосфатидилсерин	6,24±0,51(6)	7,75	7,12±0,72(5)	15,23±1,32(8)
Дифосфатидилглицерин	8,61±1,06(7)	12,53	10,46±1,89(6)	37,09±3,31(6)
Фосфатидная кислота	0,83±0,07(5)	1,03	0,45±0 (3)	7,95±1,32(4)
Фосфатидилхолин	41,19±2,24(7)	36,34	38,45±2,50(7)	11,26±0,66(7)
Сфингомиелин	2,59±0,17(4)	4,16	4,17±0,44(5)	3,97±0,66(4)
Фосфотидилэтанолламин	34,73±1,42(7)	31,67	33,61±2,00(7)	8,61±0,66(8)
Лизофосфатидилхолин	1,53±0,16(3)	1,69	1,73±0,33(4)	1,32±0(3)
Лизофосфатидил-этанолламин	1,00±0,20(2)	1,54	1,39±0(2)	3,31±0,66(3)
Кислые фосфолипиды	18,96	24,60	20,65	71,53
Нейтральные фосфолипиды	81,04	75,40	79,35	28,47
Сумма фосфолипидов (γР/г влажной массы ткани)	88,11	19,48	17,97	1,51
Фосфолипиды в мг/100 мг массы ПЛ фракции	-	42,72	39,41	13,98

Таблица 2. Содержание отдельных фосфолипидов общего липидного экстракта, НПЛ, спиртоэфирных экстрактов НПЛ (менее прочно связанная фракция) и ОПЛ (более прочно связанная фракция) митохондрий сердца крысы, % Р от суммы Р фосфолипидов каждой фракции (M±m)

Фосфолипиды	Общий липидный экстракт	НПЛ	Спирто-эфирные экстракты НПЛ (менее прочно связанная фракция)	ОПЛ (более прочно связанная фракция)
Фосфатидилинозит	3,28±0,40 (6)	3,87	3,24±0,15(2)	12,50±1,39(4)
Фосфатидилсерин	1,12±0,24(6)	1,51	0,71±0,15(2)	12,50±0,69(2)
Дифосфатидилглицерин	15,01±1,53(6)	17,50	15,94±2,43(3)	38,89±5,56(4)
Фосфатидная кислота	0,87±0,14(2)	1,08	0,61±0,10 (3)	7,64±1,39(3)
Фосфатидилхолин	40,61±0,90(5)	36,93	38,82±3,09(4)	11,11±0,69(4)
Сфингомиелин	1,80±0,30(5)	1,51	1,32±0,10(3)	4,17
Фосфатидилэтанолламин	35,22±1,52(5)	35,19	37,24±0,25(4)	6,94±1,39(4)
Лизофосфатидилхолин	1,06±0,22(3)	0,90	0,96±0,1(3)	-
Лизофосфатидил-этанолламин	1,03±0,09(2)	1,51	1,16±0,05(3)	6,25±1,39(3)
Кислые фосфолипиды	20,28	23,96	20,50	71,53
Нейтральные фосфолипиды	79,72	76,04	79,50	28,47
Сумма фосфолипидов (γР/г влажной массы ткани)	63,34	21,20	19,76	1,44
Фосфолипиды в мг/100 мг ПЛ фракции	-	39,55	36,86	10,91

Менее прочно с ПЛБ всех изученных препаратов митохондрий были связаны нейтральные фосфолипиды: фосфатидилхолин, фосфатидилэтанолламин и сфингомиелин, которые в сумме составляли 79,35-84,6% всех менее прочно связанных фосфолипидов. На долю кислых фосфолипидов этой фракции приходилось 15,40-20,65%. Следует отметить, что фосфолипидный состав менее прочно связанных с ПЛБ липидных фракций митохондрий клеток всех изученных органов был в общем сходен с фосфолипидным составом соответствующих общих липидных экстрактов

(табл.1,2,3,4). Последовательное промывание НПЛ спирто-эфирной смесью при -12°C и $+23^{\circ}\text{C}$ [17] приводило к постепенной экстракции менее прочно связанных нейтральных фосфолипидов и концентрированию более прочно связанных кислых фосфолипидов. С полученными в результате ОПЛ были связаны в основном кислые фосфолипиды, составлявшие 68,81-73,73% от общей суммы более прочно связанных фосфолипидов.

Таблица 3. Содержание отдельных фосфолипидов общего липидного экстракта, НПЛ, спиртоэфирных экстрактов НПЛ (менее прочно связанная фракция) и ОПЛ (более прочно связанная фракция) митохондрий печени крысы, % Р от суммы Р фосфолипидов каждой фракции, $M \pm m$

Фосфолипиды	Общий липидный экстракт	НПЛ	Спирто-эфирные экстракты НПЛ (менее прочно связанная фракция)	ОПЛ (более прочно связанная фракция)
Фосфатидилинозит	$8,11 \pm 1,31 (3)$	7,92	$6,24 \pm 1,29 (4)$	$28,81 \pm 3,39 (4)$
Фосфатидилсерин	$1,52 \pm 0,16 (4)$	1,63	$0,88 \pm 0,07 (3)$	$11,02 \pm 0,85 (3)$
Дифосфатидилглицерин	$6,31 \pm 0,78 (4)$	9,36	$7,87 \pm 0,81 (4)$	$27,97 \pm 1,70 (4)$
Фосфатидная кислота	$0,79 \pm 0,11 (3)$	0,82	$0,41 \pm 0,07 (2)$	$5,93 \pm 0,08 (4)$
Фосфатидилхолин	$52,88 \pm 1,76 (4)$	51,82	$55,09 \pm 5,83 (4)$	$11,02 \pm 1,70 (4)$
Сфингомиелин	$2,38 \pm 0,40 (4)$	2,45	$2,64 \pm 0,34 (3)$	-
Фосфатидилэтаноламин	$23,50 \pm 0,30 (4)$	23,24	$24,36 \pm 1,76 (3)$	$9,32 \pm 1,70 (4)$
Лизофосфатидилхолин	$2,11 (1)$	2,20	$1,90 (1)$	$5,93 \pm 0,85 (2)$
Лизофосфатидил-этаноламин	$2,40 \pm 0,37 (2)$	0,56	$0,61 \pm 0,27 (2)$	-
Кислые фосфолипиды	16,73	19,73	15,40	73,73
Нейтральные фосфолипиды	83,27	80,27	84,60	26,27
Сумма фосфолипидов ($\gamma\text{P}/\text{г}$ влажной массы ткани)	69,69	15,92	14,74	1,18
Фосфолипиды в $\text{мг}/100 \text{ мг}$ ПЛ фракции	-	44,22	40,94	11,80

Митохондрии клеток всех изученных органов характеризовались высоким содержанием типично митохондриального фосфолипида-дифосфатидилглицерина во фракции более прочно связанных с ПЛБ фосфолипидов (табл.1, 2, 3, 4). В митохондриях клеток коры мозга и сердца превалировал только этот кислый фосфолипид, составляя 37,09% и 38,89% от суммы всех более прочно связанных фосфолипидов соответственно (табл.1, 2). В ПЛ митохондрий клеток коры мозга было сравнительно высоким и содержание более прочно связанного фосфатидилсерина – 15,83% (табл.1), в митохондриях клеток сердца – 12,50% (табл.2). В отличие от митохондрий клеток мозга и сердца, фракция более прочно связанных с ПЛБ фосфолипидов митохондрий клеток печени характеризовалась преобладанием двух кислых фосфолипидов – дифосфатидилглицерина и фосфатидилинозита, которые составляли 27,97% и 28,81% от суммы всех прочно связанных фосфолипидов соответственно (табл. 3). Те же два кислых фосфолипида – дифосфатидилглицерин и фосфатидилинозит превалировали и в более прочно связанной с ПЛБ липидной фракции ПЛ из митохондрий клеток почки, однако содержание первого – 29,92% было здесь примерно в 1,4 раза выше, чем второго – 21,80% (табл.4).

Таким образом, проведенные исследования выявили некоторые характерные особенности фосфолипидного состава ПЛ из митохондрий клеток различных органов. Результаты показали, что имеется совершенно определенное сходство между ПЛ митохондрий клеток коры мозга и сердца, с одной стороны, и ПЛ митохондрий клеток печени и почки – с другой. Различия между препаратами митохондрий клеток исследованных органов были обусловлены превалированием в ли-

пидных фракциях, как менее, так и особенно более прочно связанных с ПЛБ одного (дифосфатидилглицерин) или двух (дифосфатидилглицерин, фосфатидилинозит) кислых фосфолипидов.

Таблица 4. Содержание отдельных фосфолипидов общего липидного экстракта, НПЛ, спиртоэфирных экстрактов НПЛ (менее прочно связанная фракция) и ОПЛ (более прочно связанная фракция) митохондрий почки крысы, % Р от суммы Р фосфолипидов каждой фракции, М±m

Фосфолипиды	Общий липидный экстракт	НПЛ	Спирто-эфирные экстракты НПЛ (менее прочно связанная фракция)	ОПЛ (более прочно связанная фракция)
Фосфатидилинозит	5,95±1,02 (3)	6,72	5,39±0,42(3)	21,80±2,56(3)
Фосфатидилсерин	2,88±0,34(3)	3,20	2,43±0,42(3)	11,97±1,71(3)
Дифосфатидилглицерин	10,40±1,16(3)	11,32	9,67±1,56(3)	29,92±3,42(3)
Фосфатидная кислота	1,77(1)	1,12	0,76 (1)	5,12±0,42(2)
Фосфатидилхолин	34,70±3,89(3)	36,75	38,98±2,31(2)	11,54±0,00(2)
Сфингомиелин	5,99±0,72(3)	7,14	7,24±1,37(3)	5,98±0,86(2)
Фосфатидилэтанолламин	33,96±3,69(3)	32,25	34,13±3,91(3)	11,11±1,28(2)
Лизофосфатидилхолин	1,45±0,27(2)	1,29	1,40±0,23(2)	-
Лизофосфатидил-этанолламин	2,90(1)	0,21	-	2,56(1)
Кислые фосфолипиды	21,00	22,36	18,25	68,81
Нейтральные фосфолипиды	79,00	77,64	81,75	31,19
Сумма фосфолипидов (γР/г влажной массы ткани)	69,90	28,71	26,37	2,34
Фосфолипиды в мг/100 мг ПЛ фракции	-	47,85	43,95	13,93

Выявленные различия связаны, вероятно, с особенностями структуры и функции как самих митохондрий, так и клеток тех органов, из которых они выделены. Как показали наши исследования, высокое содержание фосфатидилинозита во фракциях как менее, так особенно более прочно связанных с ПЛБ фосфолипидов, характерно и для ПЛ клеток целой печени, где в более прочно связанной с ПЛБ фракции фосфолипидов на долю фосфатидилинозита приходилось 27,5%, а дифосфатидилглицерина – 19,0%. В клетках коркового слоя почки преобладающим, более прочно связанным с ПЛБ фосфолипидом, являлся дифосфатидилглицерин, составлявший 46% от суммы всех прочно связанных с ПЛБ фосфолипидов, что свидетельствовало о преимущественно митохондриальной локализации ПЛ. Нами также показано, что, в отличие от клеток коркового слоя, в мозговом слое почки наиболее прочно с ПЛБ связаны два кислых фосфолипида: фосфатидилинозит и фосфатидилсерин, составлявшие 37,0% и 34,5% от суммы всех более прочно связанных фосфолипидов соответственно, на долю дифосфатидилглицерина приходилось лишь 7,12% [7]. Полученное в настоящей работе относительно высокое содержание фосфатидилинозита в ПЛ митохондрий клеток почки обусловлено, по-видимому, тем, что мы изучали митохондрии клеток целой почки, а не коркового и мозгового слоёв раздельно. Проведенные исследования показали, что для ПЛ митохондрий клеток всех изученных органов является характерным преобладание в менее и особенно более прочно связанных с ПЛБ фракциях липидов одного или одновременно двух кислых фосфолипидов - дифосфатидилглицерина и фосфатидилинозита. Первому придаётся важная роль в процессах транспорта протонов во внутренней мембране митохондрий [13], а второй является, по-видимому, компонентом ПЛ ионотранспортирующих систем этой же мембраны, которые, наряду с карриер белками, играют ключевую роль в проявлении функций митохондрий и в клеточном гомеостазе [10].

Результаты проведенных исследований подтвердили высказанное нами ранее на основании изучения характерных особенностей ПЛ из различных клеточных мембран заключение о том, что, наряду со сходством, имеется ряд различий не только в белковых, но и липидных (фосфолипидных) компонентах ПЛ разных клеточных мембран в зависимости от локализации ПЛ и их возможной функции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зайцева Г.Н., Яхнин А.В. Протеолипидные комплексы олигомицинчувствительной аденозинтрифосфатазы митохондрий *Cnithidia opcorpelti*. Биохимия, 49, 4, 577-584, 1984.
2. Иващенко А.Г., Карпенюк Т.А., Пономаренко С.В. АТФ-синтаза бактерий, митохондрий и хлоропластов. Свойства мембранного сектора F₀. Биохимия 56, 3, 406-419, 1991.
3. Казарян Т.И., Манукян К.Г. N- и C-концевые аминокислоты протеолипидов головного мозга и некоторых других органов крысы. Украинск. биохим. ж. 60, 3, 71-74, 1988.
4. Коптева Л.А., Бирюзова В.И. Зависимость между функцией разных отделов сердца собак и некоторыми биохимическими и ультраструктурными особенностями митохондрий. Бюлл. экспер. биол. и мед. 7, 19-22, 1968.
5. Манукян К.Г. Липидный компонент протеолипидов разных отделов нервной системы и субклеточных образований мозга. Нейрохимия 1, 2, 51-65, 1982.
6. Манукян К.Г., Киракосян Л.Г., Левонян К.Л., Степанян А.А. О протеолипидах миелина, изолированного из мозга крысы. Вопросы биохимии мозга. Изд. АН АрмССР, 11, 116-128, 1976.
7. Манукян К.Г., Киракосян Л.Г., Левонян К.Л., Казарян Т.И., Степанян А.А. О характерных особенностях фосфолипидного компонента протеолипидов из разных органов крысы. Аннот. докл. III Междунар. симпоз. под эгидой ЮНЕСКО "Проблемы биохимии, радиационной и космической биологии", посвященного 100-летию со дня рождения академика Н.М. Сисакяна, с.46-47, Москва, Дубна, 2007.
8. Манукян К.Г., Левонян К.Л., Степанян А.А., Киракосян Л.Г., Казарян Т.И. Субклеточное распределение протеолипидов в мозгу крысы. Вопросы биохимии мозга. Изд. АН АрмССР, 12, с.68-80, 1977.
9. Blondin L.A. Resolution of the mitochondrial N, N'-dicyclohexylcarbodiimide binding proteolipid fraction into three similar sized proteins. Biochem. Biophys. Res. Commun. 87, 4, 1087-1094, 1979.
10. DaCruz S., Xsenarios J., Langrindge J., Vilbois F. et al. Proteomic analysis of the mouse liver mitochondrial inner membrane. J. Biol. Chem. 278, 41566-41576, 2003.
11. Clouet P., Bezard J. In vitro conversion of erucic acid by microsomes and mitochondria from liver, kidney and heart of rats. Lipids 14, 3, 268-276, 1979.
12. Fillingame R.H. Coupling H⁺ transport and ATP synthesis in F₁F₀-ATP synthases: glimpses of interacting parts in a dynamic molecular machine. J. Exp. Biol. pt.2, 217-224. 1997.
13. Haines T.H., Dencher N.A. Cardiolipin a proton trap for oxidative phosphorylation. Febs Lett. 528, 1-3, 35-39, 2002.
14. Kopesky Z., Houstek Z., Szarska E., Drahota Z. Electrophoretic behavior of the H⁺-ATPase proteolipid from bovine heart mitochondria. J.Bioenergetics Biomembranes 18, 6, 507-519, 1986.
15. Kramarova T.V., Shatalina I.C., Andersson U. et al. Mitochondrial ATP-synthase levels in brown adipose tissue are governed by the c-Fo subunit P1 isoform. The FASEB Journal, 22, 1, 55-63, 2008.
16. Lees M.B., Sakura D.J., Sapirstein V.S. Curatolo W. Structure and function of proteolipids in myelin and non-myelin membranes. Biochim. Biophys. Acta, 553, 2-3, 96-107, 1979.
17. Manukian K.H., Kazarian T.I., Kirakosian L.G., Stepanian H.A., Levonian K.L. Specific features of protein and lipid moieties of proteolipids from rat brain microsomes. Нейрохимия, 20, 2, 101-104, 2003.
18. Murakami M., Ozawa Y., Funahashi S. Proteolipid from beef heart muscle. II. Chemical composition and subcellular distribution. J.Biochemistry. Japan, 54, 2, 166-172, 1963.
19. Vacher M., Waks M., Nicot C. Myelin proteins in reverse micelles: tight lipid association required for insertion of the Folch P_i proteolipid into a membrane-mimetic system. J. Neurochem., 52, 1, 117-123, 1989.
20. Weber K., Osborn M. The reliability of molecular weight determination by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. J. Biol. Chem., 244, 16, 4406-4412, 1969.

Поступила 24.11.2015