



## КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 577.157

АКТИВНОСТЬ  $\gamma$ -ГЛУТАМИЛТРАНСФЕРАЗЫ В РАЗНЫХ ОТДЕЛАХ И СУБКЛЕТОЧНЫХ ФРАКЦИЯХ МОЗГА КРЫС

ТУРЦИЯН Г. А., АКОЦЯН Г. Е., САФРАЗЯН С. С.

Институт биохимии АН АрмССР, Ереван

Вопрос о физиологической роли  $\gamma$ -глутамилтрансферазы КФ 2.3.2.2. [(5-глутамил) пептид: аминокислота 5-глутамилтрансфераза] до сих пор остается неразрешенным. Нет единого мнения о том, какую общую для всех организмов функцию выполняет этот фермент. По мнению Meister и Tate [1], физиологическая роль  $\gamma$ -глутамилтрансферазы в значительной степени определяется видовой принадлежностью, типом ткани или органа и, возможно, возрастом организма. Однако же, несомненно, что  $\gamma$ -глутамилтрансфераза ответственна за биосинтез  $\gamma$ -глутамилпептидов, образование которых доказано прямыми опытами [2]. Одна из общепринятых гипотез о физиологической роли  $\gamma$ -глутамилтрансферазы—это гипотеза об ее участии в транспорте аминокислот, пептидов, аминов в виде  $\gamma$ -глутамильных производных через клеточные мембраны [3—5]. Ее авторы считают транспортную функцию  $\gamma$ -глутамилтрансферазы почти очевидной в почках.

Активность  $\gamma$ -глутамилтрансферазы в ткани мозга во много раз меньше, чем в почках, поджелудочной железе и печени, но превосходит таковую в легких, скелетных мышцах и сердечной мышце [1]. Достаточной высокой активностью фермента обнаружена в сосудистых сплетениях мозга [1] и мозговых капиллярах [6]. Кинетические исследования  $\gamma$ -глутамилтрансферазы в капиллярах головного мозга барана [6] не подтверждают гипотезы об участии ее в поглощении мозгом аминокислот. Но неоспорим тот факт, что  $\gamma$ -глутамилтрансфераза играет определенную роль в обмене глутаминна, который наряду с глутатионом и различными  $\gamma$ -глутамилпептидами является донором  $\gamma$ -глутамильного радикала [4, 7—10]. Роль глутаминна важна в ЦНС в качестве предшественника медиаторных аминокислот—глутамата, аспартата, возможно, и ГАМК.

Целью работы было изучение субклеточного распределения  $\gamma$ -глутамилтрансферазы в мозгу и определение ее активности в разных его отделах: коре больших полушарий, гипоталамусе, полосатом теле, гипофизе, эпифизе.

Исследования проводили на крысах массой 180—200 г.  $\gamma$ -Глутамилтрансферазу определяли в 10%-ном гомогенате, приготовленном из цельного мозга и разных его отделов на 0,1 М трис-НСI буфере, рН 7,5, используя в качестве донора  $\gamma$ -глутамильной группы  $\gamma$ -глутамил-*p*-нитроанилид, а акцептора—глицилглицин [4]. Инкубацию проводили в 0,1 М трис-НСI буфере, рН 7,5, при 37°. Белок определяли по методу Lowry и соавт. [11]. Субклеточные фракции выделяли из 10%-ного гомогената цельного мозга, приготовленного на растворе 0,25 М сахарозы в 0,01 М трис-НСI буфере, рН 7,3. Гомогенат центрифугировали в течение 10 мин при 900 г, осадок—ядерную фракцию—дважды промывали. Надосадочные жидкости соединяли и центрифугировали 25 мин при 20000 г, полученный осадок—митохондриальную фракцию—промывали один раз, после чего надосадочные жидкости соединяли и центрифугировали 120 мин при 105000 г, полученный осадок представлял собой микросомную фракцию, надосадочная жидкость—растворимую фракцию. Синаптосомную фракцию получали также из цельного мозга крыс методом Hajos [12].

Таблица 1

$\gamma$ -Глутамилтрансферазная активность в разных отделах головного мозга крыс (n=22)

Отделы мозга	Активность (мкмоль <i>p</i> -нитроанилина/100 мг белка/ч
Цельный мозг	16,0 $\pm$ 0,9
Кора больших полушарий	27,00 $\pm$ 1,75
Гипоталамус	44,0 $\pm$ 5,0
Полосатое тело	38,00 $\pm$ 3,72
Гипофиз	16,00 $\pm$ 1,44
Эпифиз	10,00 $\pm$ 1,38

Таблица 2

$\gamma$ -Глутамилтрансферазная активность в гомогенате и в субклеточных фракциях цельного мозга крыс (n=19)

Исследуемые фракции	Активность (мкмоль <i>p</i> -нитроанилина/100 мг белка/ч
Гомогенат	16,0 $\pm$ 0,9
Ядерная фракция	76,0 $\pm$ 6,0
Митохондриальная фракция	29,0 $\pm$ 2,2
Микросомная фракция	33,0 $\pm$ 2,1
Растворимая фракция	15,0 $\pm$ 1,2
Синаптосомная фракция	40,0 $\pm$ 2,5

Принято считать, что оптимальная величина рН для действия  $\gamma$ -глутамилтрансферазы колеблется в пределах 8—9 [4]. Нами обнаружено, что для  $\gamma$ -глутамилтрансферазы мозга крыс рН 7,5 является оптимальным, что согласуется с исследованиями Lisy, Lodin [13], проведенными на ферменте из мозга мышей. Из данных, приведенных в табл. 1, следует, что по величине удельной активности  $\gamma$ -глутамилтрансферазы исследуемые отделы головного мозга располагаются в следующей последовательности: гипоталамус, полосатое тело, кора больших полушарий, гипофиз, эпифиз.

Данные, относящиеся к гомогенату из цельного мозга, соответствуют литературным [1]. Полученные результаты свидетельствуют о том, что активность  $\gamma$ -глутамилтрансферазы в мозгу значительно выше в тех регионах, где нейрональные клетки преобладают над глиальными.

$\gamma$ -Глутамилтрансфераза ткани мозга отличается от фермента почек не только низкой удельной активностью, но и субклеточной локализацией. В исследованиях Welbougne [14] показано, что наибольшая удельная активность фермента проявлялась в растворимой фракции почек, затем в микросомной, ядерной и, наконец, в митохондриальной. В наших исследованиях (табл. 2) наиболее низкая активность наблюдалась в растворимой фракции мозга, а самая высокая—в ядерной.

Активность фермента во фракции синаптосом была почти в 2 раза ниже, чем в ядерной, а митохондриальная и микросомная фракции обладали еще меньшей, почти одинаковой по величине удельной активностью фермента.

По данным Meister и Tate [1],  $\gamma$ -глутамильный цикл может участвовать в регуляции белкового синтеза, обеспечивая его чистенном, внутриклеточное содержание которого очень мало, что согласуется с результатами исследований Cheng и соавт. [15] о возрастании интенсивности транспептидазных процессов, катализируемых  $\gamma$ -глутамилтрансферазой при регенерации печени. Высокую активность фермента в ядерной фракции мозговой ткани по сравнению с почечной, по-видимому, можно объяснить тем, что в мозгу процессы синтеза белка протекают более интенсивно, чем в почках.

Наличие значительной активности  $\gamma$ -глутамилтрансферазы в синаптосомной фракции, выделенной из мозга, подтверждает гипотезу о транспортной функции  $\gamma$ -глутамильного цикла в обмене аминокислот, в частности глутаминна и глутаминовой кислоты, и указывает на определенную роль этого фермента в синаптической передаче. Это предположение подтверждается исследованиями Meister и соавт. [16, 17] о присутствии  $\gamma$ -глутамилтрансферазы в клетках Пуркинне мозжечка и клетках переднего рога спинного мозга. Meister и Tate [1] считают, что глутатин с мембраносвязанной  $\gamma$ -глутамилтрансферазой на рецепторной стороне мембраны может вызывать поведенческую реакцию (раскрытие ротового отверстия и движение щупальцев у *Hydra littoralis*), возможно, посредством  $\gamma$ -глутамильного производного, выполняющего роль нейротрансмиттера.

## $\gamma$ -GLUTAMYLTRANSFERASE IN RAT BRAIN DIFFERENT AREAS SUBCELLULAR FRACTIONS

TURSHYAN G. A., AKOPYAN G. E., SAPHRAZIAN C. S.

Institute of Biochemistry, Armenian SSR Academy of Sciences, Yerevan

The activity of  $\gamma$ -glutamyltransferase is significantly higher in the areas where neurons prevail and is maximal in nuclear fraction, approximately equal in mitochondrial and microsomal fractions, being slightly higher in synaptosomes.

## Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Meister A., Tate S. S. Annual Rev. Biochem., 45, 553—560, 1976.
2. Hanes C. S., Hird F. J., Inherwood F. A. Nature, 166, 288—290, 1950.
3. Connell Cr. E., Srewezuk A. Clin. et chim. acta, 173, 423—430, 1967.
4. Orłowski M., Meister A. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 67, 1248—1252, 1970.
5. Meister A. Science, 180, 33, 1973.
6. Picard J., Couelles F., Morelts P. Biochimie, 60, 17—22, 1978.
7. Waelsch H. Adv. in Enzymol., 13, 237—319, 1952.
8. Schou M., Grosswicz N., Waelsch H. J. Biol. Chem., 192, 187—196, 1951.
9. Orłowski M., Meister A. J. Biol. Chem., 240, 338—347, 1965.
10. Tate S. S., Meister A. J. Biol. Chem., 249, 7593—7602, 1974.
11. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. J. Biol. Chem., 193, 265—275, 1951.
12. Hajos F. Brain Res., 93, 485—490, 1975.
13. Lisy L., Lodin Z. Collect. Czechosl. Chem. Commun., 42, 2967—2975, 1977.
14. Welbourne T. C. Proc. Soc. Exp. Biol. Medicine, 159, 294—301, 1978.
15. Cheng S., Massar K., Levy D. FEBS Lett., 85, 310—312, 1978.
16. Meister A. Symposium on Brain Dysfunction in Metabolic Disorders, Research Publications of the Assoc. for Res. in Nervous and Mental Disease, 53, 273—291, N. Y., Raven Press, 1974.
17. Meister A., Tate S. S., Ross L. L. In the Enzymes of Biological Membranes (Martinosi, ed.), 3, 315—347, 1976.

Поступила 24. II 1983