

УДК 577.1

С. Г. Мовсесян, Р. А. Мирзоян, академик АН Армянской ССР Г. Х. Бунятян

**Участие деамино-НАД в окислительном фосфорилировании  
 в митохондриальной фракции мозга кроликов**

(Представлено 18/III 1969)

Ранее было показано, что в митохондриальной фракции мозга кроликов происходит образование деамино-НАД (Д-НАД) из НАД за счет деаминации остатка аденина (1-3). Проведенные исследования позволили предположить, что Д-НАД играет существенную роль в метаболизме мозговой ткани и, в частности, в окислительно-восстановительных процессах. Так, например, добавление Д-НАД к непромытой митохондриальной фракции вызывает некоторое усиление эндогенного дыхания. При этом значительно повышается сопряженное фосфорилирование, благодаря чему резко возрастает коэффициент Р/О (4). В связи с полученными данными представляло интерес изучить влияние Д-НАД на дыхание и фосфорилирование в митохондриях мозга в присутствии добавленных субстратов окисления.

Подопытными животными служили кролики. После декапитации животного быстро извлекали мозг, помещали в раствор охлажденной сахарозы рН 7,4 и гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе с пестиком из тефлона в течение 30 секунд.

Митохондрии изолировали по ранее описанному методу (1-2), однократно промывали раствором 0,25М сахарозы. Инкубационная смесь (2 мл) содержала в микромолях: субстраты окисления—26,0 или 1,4, фосфат калия—27,0 трис—30,0, MgSO<sub>4</sub>—12,0, глюкоза—56,0, АТФ—2,0, Д-НАД—2,8, НА—16,4 и 1 мг кристаллической гексокиназы. В опыте брали 0,5 мл митохондриальной фракции, что соответствовало 500 мг свежей ткани; инкубацию проводили при 26° в течение 30 минут в атмосфере воздуха. Поглощение кислорода измеряли манометрическим методом. Фосфор определяли методом Лоури и Лопеса (5), в модификации Пила и Лохмэна (6).

Проведенные исследования показали, что скорость поглощения кислорода и убыли неорганического фосфата в сопряженных митохондриях (критерием сопряженности служил коэффициент Р/О) (табл. 1, 1, II

Таблица 1

Влияние Д-НАД на окислительное фосфорилирование в митохондриальной фракции мозга кроликов

№ п/п	Условия опыта	$\Delta P$	$\Delta O$	P (O)
I	Глутамат (26 мк.м)	$25,6 \pm 0,98$ (7)	$11,8 \pm 0,18$ (7)	$2,1 \pm 0,91$ (7)
Ia	Глутамат (1,4 мк.м)	$2,9 \pm 0,69$ (5)	$3,0 \pm 0,25$ (5)	$0,8 \pm 0,3$ (5)
Iб	Глутамат (1,4 мк.м) + Д-НАД	$8,1 \pm 0,9$ $P < 0,001$ (5)	$4,5 \pm 0,55$ $P < 0,001$ (5)	$1,9 \pm 0,26$ $P = 0,01$ (5)
II	Сукцинат (26 мк.м)	$21,0 \pm 1,1$ (6)	$15,0 \pm 0,9$ (6)	$1,4 \pm 0,18$ (6)
IIa	Сукцинат (1,4 мк.м)	$2,8 \pm 0,14$ (7)	$2,7 \pm 0,3$ (7)	$1,1 \pm 0,18$ (7)
IIб	Сукцинат (1,4 мк.м) + Д-НАД	$9,1 \pm 1,0$ $P < 0,001$ (7)	$5,2 \pm 0,8$ $P < 0,002$ (7)	$1,9 \pm 0,2$ $P < 0,002$ (7)
III	$\alpha$ -кетоглутарат (26 мк.м)	$13,0 \pm 1,2$ (5)	$5,5 \pm 0,5$ (5)	$2,4 \pm 0,06$ (5)
IIIa	$\alpha$ -кетоглутарат (1,4 мк.м)	$3,5 \pm 0,4$ (6)	$4,2 \pm 0,14$ (6)	$0,9 \pm 0,26$ (6)
IIIб	$\alpha$ -кетоглутарат (1,4 мк.м) + Д-НАД	$12,8 \pm 0,8$ $P < 0,001$ (6)	$7,8 \pm 0,9$ $P < 0,002$ (6)	$1,7 \pm 0,17$ $P < 0,002$ (6)

$\Delta P$  — убыль неорганического фосфата (в мкатамах фосфора на пробу).

$\Delta O$  — поглощение кислорода (в мкатамах  $O_2$  на пробу).

III) в присутствии избытка всех компонентов окислительного фосфорилирования (субстрата, АТФ и др.) однозначна как в присутствии Д-НАД, так и без него. Отсутствие изменений в окислительном фосфорилировании митохондрий можно было объяснить тем, что в этих условиях окисление и фосфорилирование протекает с максимальной скоростью, в силу чего действие Д-НАД не проявляется.

Исходя из полученных данных мы попытались выявить действие Д-НАД в условиях недостаточности одного из компонентов окислительного фосфорилирования, в частности, субстрата окисления. Известно, что концентрация субстрата является одним из факторов, лимитирующих скорость окислительного фосфорилирования (7). Проведенные исследования показали, что уменьшение концентрации субстратов окисления в 25 раз ниже оптимального приводит к падению интенсивности как дыхания, так и фосфорилирования. При понижении концентрации глутаминовой кислоты (до 1,4 мк.м) синтез АТФ значительно снижается (примерно в 9 раз). Поглощение кислорода понижается в меньшей степени, вследствие чего P/O уменьшается в 2,5 раза (табл. 1, Ia). В случае сукцината угнетение дыхания и фосфорилирования происходит

примерно в равной степени (величина P/O уменьшалась всего на 20%) (табл. 1, IIa). Что касается  $\alpha$ -кетоглутаровой кислоты, то снижение ее концентрации в меньшей степени отражается на интенсивности дыхания по сравнению с глутаматом и сукцинатом. Однако, как и в случае окисления глутаминовой кислоты, наблюдалось снижение P/O вследствие большого снижения уровня фосфорилирования, чем дыхания.

Из данных, приведенных в табл. 1 (Iб, IIб, IIIб) видно, что добавление Д-НАД одновременно с низкими концентрациями субстрата ( $\alpha$ -кетоглутаровой, глутаминовой и янтарной кислот) приводит к ясно выраженному стимулированию процесса окислительного фосфорилирования. Д-НАД значительно (в 1,5—2 раза) усиливает потребление кислорода митохондриями в присутствии всех трех окисляемых субстратов. При этом скорость синтеза АТФ возрастает почти в три раза. Таким образом, Д-НАД повышает не только общий уровень окислительного фосфорилирования, но и более выражено, по сравнению с окислением, усиливает процесс фосфорилирования, т. е. Д-НАД увеличивает сопряжение (P/O возрастает примерно вдвое).

Из полученных данных видно, что сопрягающее действие Д-НАД не зависит от природы использованного субстрата: Д-НАД одинаково стимулирует окисление и сопряженное с ним фосфорилирование субстратов, окисляющихся через НАД (глутамат и  $\alpha$ -кетоглутарат), а также субстрата (сукцинат), окисление которого происходит за счет переноса электронов непосредственно на ФАД, минуя НАД. Это дает возможность полагать, что точкой приложения действия Д-НАД является 2 или (и) 3 пункт фосфорилирования в дыхательной цепи, локализованные между ФАД и кислородом. Однако, для окончательного решения вопроса о механизме действия Д-НАД требуются дальнейшие исследования.

Институт биохимии  
Академии наук Армянской ССР

Ս. Կ. ՄՈՎՍԻՍՅԱՆ, Բ. Ա. ՄԻԻՉՈՅԱՆ, Հայկական ՍՍՀ ԳԱ ակադեմիկոս Հ. Խ. ԲՈՒՆՅԱՆՅԱՆ

### Դեամինո-նԱԴ-ի մասնակցությունը օքսիդացիոն ֆոսֆորիլացմանը նազառների գլխուղեղի միտոխոնդրիալ ֆրակցիայում

Կատարված էնտազոտոթյունների արդյունքները վիայում են այն մասին, որ ուղեղային էյուսվածքի միտոռոնդրիալ ֆրակցիայում դեամինո-նԱԴ-ը նշանակալից չափերով խթանում է մի շարք սուբստրատների (դյուտամատ,  $\alpha$ - կետոդյուտարատ, սուկցինատ և այլն) օքսիդացումը ևրր ևրանք օդտադործվում են փոքր թանակներով: Հետաքրքրական է նշել, որ դեամինո-նԱԴ-ի ազդեցության ներքո խթանվում է ոչ միայն շնչառության, այլև անորդանական ֆոսֆատի ևս- թերիֆիկացման պրոցեսը, բնդորում վերջինս ավելի ակնառու չափերով: Ստացված տվյալները հանվեցնում են այն եզրակացության, որ դեամինո-նԱԴ-ի հանդիսանում է օքսիդացիոն ֆոսֆորիլացման կարևորագույն պործոններից մեկը:

Նախնական փորձերը թույլ են տալիս ենթադրելու, որ դեամինո-նԱԴ-ի ազդեցությունը կապված է շնչառական շղթայի ֆոսֆորիլացման 2-րդ կամ 3-րդ օղակի հետ:

1 С. Г. Мовсесян и Г. Х. Бунятян, ДАН ССР, т. 41, № 3 (1965). 2 Г. Х. Бунятян, и С. Г. Мовсесян, Вопросы биохимии мозга, изд. АН Арм. ССР, 2, 5, 1966. 3 G. Ch. Vunlattan, S. G. Mousessian, VII Intern. Congr. Biochem. Abstr. V. Tokyo, 1967. p. 1022. 4 Г. Х. Бунятян и С. Г. Мовсесян, ДАН АрмССР, т. 45, № 5 (1967). 5 O. Lowry, A. Lopez, J. Biol. Chem. 162, 421 (1946). 6 C. L. Peel and K. L. Loughman, Biochem. J. 65, 709 (1957). 7 B. Chance, G. R. Williams. Advan. Enzym. 17, 65 (1956).