

УДК 612.8.015

БИОХИМИЯ

Ж. А. Чалабян

Действие судорог на некоторые стороны биосинтеза белков в коре головного мозга

(Представлено академиком АН Армянской ССР Р. Х. Бунятяном 7/VI 1972)

Ранее нами было показано, что активность бесклеточной белок синтезирующей системы из головного мозга, измеряемая по включению S^{35} метионина, заметно увеличивается при судорожных состояниях животных (¹).

Интересно было выяснить как изменяется активность бесклеточной системы по отношению к другим аминокислотам при судорогах, поскольку при таких генерализованных функциональных состояниях нервной системы помимо количественных сдвигов можно было ожидать качественные изменения в эндогенной информации—в наборе и—РНК. В связи с предполагаемой взаимообусловленностью между биосинтезом и—РНК (кодона) и т-РНК (антикодона) приобретает определенное значение изучение вопроса о возможных сдвигах в наборе т-РНК, при судорогах.

Исходя из этих соображений решили изучить действие судорог вызванных внутрибрюшинным введением коразола (50 мг/кг веса животного), на включение C^{14} —глицина и C^{14} —фенилаланина в белки микросом в системе *in vitro*, выделенные из коры головного мозга через 25 мин после наступления судорог. Методы подробно описаны в предыдущей работе (¹). Из данных табл. I видно, что бесклеточная система из мозга контрольных животных интенсивнее включает C^{14} —глицин, чем C^{14} —фенилаланин. Под действием судорог происходят дифференциальные сдвиги в активности бесклеточной системы, по отношению к разным аминокислотам скорость включения C^{14} —глицина увеличивается по сравнению с контролем на 16,6%, тогда как скорость включения фенилаланина почти не меняется. Эти данные, на наш взгляд, указывают на повышение синтеза белков, содержащих большие количества глицина. Совокупность результатов этих и предыдущих наших исследований (¹) свидетельствует о том, что несмотря на снижение доли тяжелых полисом при судорогах (²), биосинтез некоторых белков повышается. По-видимому, эти белки имеют противосудорожное действие.

Возможно также, что для скорости синтеза белков в бесклеточной системе не столько важна структура полисом, сколько характер поступающей в цитоплазму и—РНК (3).

Таблица 1

Влияние судорог на включение C^{14} —аминокислот в белки микросом, выделенных из коры головного мозга (состав бесклеточной системы описан в предыдущей нашей работе (1))

Аминокислота C^{14} —	Радиоактивность в имп/мин на 1 мг белка	
	контроль	судороги
Глицин	156±9	182±11
Фенилаланин	94±7	89±8

Далее, изучали низкополимерную РНК, выделенную из коры головного мозга кроликов фенольным методом и подвергнутую обработке по Ирвингу и Визею (4) для разделения низкополимерной РНК от высокополимерной. Примерно 4 мг низкополимерной РНК наносили на колонку с сефидексом G—100 размерами 2,0×70 см, которая была предварительно уравновешана с аммоний ацетатным буфером 0,5М, РН-5,1. Скорость тока элюирующего раствора была 20 мл/час. Пробы собирали по 5 мл. После спектрофотометрирования, из проб соответствующих отдельным пикам осаждали РНК 3 объемами абсолютного этанола и 1%-ным ацетатом калия.

Данные, приведенные в табл. 2, показывают, что низкополимерная РНК на сефадексе G—100 разделяется на 3 четких пика с содержанием РНК 60, 14 и 26% общего количества соответственно.

Нуклеотидный состав РНК I пика, содержащего наибольшую часть низкополимерной РНК, похож на состав общей РНК, тогда как РНК II и III пиков вместе составляющие 40% общей РНК значительно отличаются своим нуклеотидным составом. Для РНК второй фракции характерно высокое содержание аденина, урацила и низкое—цитозина. Под действием коразоловых судорог происходят заметные сдвиги в нуклеотидном составе I и III фракции РНК, заключающиеся в снижении ГЦ пары в первой фракции и увеличении содержания этой пары в третьей фракции. На основании этих данных можно заключить, что при судорогах синтезируются новые, качественно отличные от предобразованных, т-РНК.

Для полной характеристики полученных фракций низкополимерной РНК и глубокого понимания происходящих в них изменений при судорогах мы определяли акцепторную активность этих фракций. Аминоацил т-РНК—синтетазы получали по методу Келлера-Замечника (5). При определении акцепторной активности смесь в объеме 0,5 мл содержала следующие компоненты в мкмолях: буфер Трис—НСI, РН-7,5 50; $MgCl_2$ —5; KCl —5; АТФ-2; восстановленный глутаттон—2; C^{14} —аминокислота—0,1 мккюри; РНК—200 мкг; фермент—500 мкг. Инкубировали 15 мин при 37°C. Дальнейший ход анализа описан в литературе (6).

Из табл. 3 следует, что способность т-РНК акцептировать все три меченные аминокислоты снижается при судорогах, если в качестве

Таблица 2

Влияние судорог на нуклеотидный состав отдельных фракций низкополимерной РНК из коры головного мозга кроликов. (коразол—50 мг/кг веса внутрибрюшинно)

ПИКИ		Аденин	Урацил	Гуанин	Цитозин	$\frac{\Gamma+\Pi}{\text{А}+\text{У}}$
Общая низкополимерная РНК	Норма	20,4 ± 1,15	17,6 ± 1,06	31,5 ± 1,74	30,9 ± 0,96	1,64 ± 0,061
	Судороги	20,9 ± 0,98	18,8 ± 1,30	30,7 ± 1,24	30,0 ± 1,42	1,53 ± 0,068
Пик I (60%)	Норма	18,6 ± 1,07	18,7 ± 1,23	31,0 ± 1,54	32,3 ± 1,25	1,69 ± 0,045
	Судороги	19,1 ± 1,22	21,1 ± 1,25	29,5 ± 1,46	30,9 ± 1,29	1,50 ± 0,076
Пик II (14%)	Норма	21,5 ± 1,34	20,8 ± 1,10	30,5 ± 1,40	27,0 ± 1,20	1,36 ± 0,078
	Судороги	22,7 ± 1,24	20,6 ± 1,25	28,4 ± 1,38	28,3 ± 1,15	1,30 ± 0,005
Пик III (26%)	Норма	20,6 ± 1,09	19,2 ± 1,13	30,1 ± 1,29	30,4 ± 1,34	1,52 ± 0,060
	Судороги	19,1 ± 1,10	18,1 ± 1,00	30,9 ± 1,40	31,8 ± 1,11	1,69 ± 0,049

фермента использован аминоктил—т-РНК—синтетаза контрольных животных.

Наибольшей степени подавляется акцептирование S^{35} -метионина, а наименьшей фенилаланина.

Таблица 3

Акцепторная активность отдельных фракций низкополимерной РНК коры головного мозга в норме и под действием судорог (аминокислоты по 0,1 мккюри, РНК—200 мкг)

(среднее из четырех опытов) а—фермент из мозга контрольных животных;

б—фермент из мозга судорожных животных

Условия опыта		Аминокислота число импульсов в минуту на 200 мкг РНК			
		метионин— S^{35}	глицин— C^{14}	фенилаланин C^{14}	
Пик I норма		264	330	245	
Пик II норма		250	840	430	
Пик III	норма	1950	3460	2840	
	судороги	а	1415	2820	2370
		б	1840	3570	2980

Если в качестве фермента добавляется аминокцил—т-РНК-синтетаза, полученная из мозга судорожных животных, то заметных изменений по сравнению с контролем не наблюдается. Полученные результаты свидетельствуют о качественных изменениях в наборе т-РНК при судорогах, заключающихся в синтезе таких изоакцепторных т-РНК, взаимодействие которых с аминокцил т-РНК синтетазой понижено. Об этом говорят также сдвиги в нуклеотидном составе III пика низкополимерной РНК, который по сравнению с остальными пиками обладает наибольшей акцепторной активностью.

Институт биохимии
Академии наук Армянской ССР

Ժ. Ա. ՉԱԼԱԲՅԱՆ

Ցնցումների ազդեցությունն սպիտակուցների սինթեզի որոշ կողմերի վրա գլխուղեղի կեղևում

Այս հետազոտությունների նպատակն է եղել պարզաբանել, թե ինչպիսի փոփոխություններ են առաջանում գլխուղեղի մեծ կիսագնդերից անջատված ոչ բջջային սպիտակուց սինթեզող սիստեմի ակտիվության մեջ՝ կորագոլային ցնցումների ազդեցության տակ: Ցույց է տրված, որ ցնցումները խթանում են այնպիսի սպիտակուցների սինթեզը, որոնք պարունակում են ավելի շատ գլիցին, քան ֆենիլալանին:

Բացի այդ, մեր փորձերով պարզաբանված է, որ փոխադրող ՌնԹ-ների ֆրակցիայում տեղի են ունենում զգալի որակական տեղաշարժեր կորագոլային ցնցումների ազդեցության տակ:

ЛИТЕРАТУРА — ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Ж. А. Чалабьян, *Вопр. мед. химии*, т. 17, стр. 212 (1972).
2. C. Vesco and A. Giuditta, *J. Neurochem.*, 15, 81 (1968).
3. O. Z. Sellinger and J. M. Azcurra, in: *Protein metabolism of the Nervous System*, ed. A. Lajtha, p. 517. New York, London 1970.
4. Ch. Irving and R. A. Veazey, *Biochim. Biophys. Acta*, 166, 246 (1968).
5. E. Keller, P. Zamecnik, *J. Biol. Chem.* 221, 45, (1956).
6. А. В. Ельская, Г. Х. Мацука, *Укр. биохим. журнл.*, 40, 120, (1968).