

УДК 543.865.611.8

БИОХИМИЯ

Г. В. Априкян, Ж. А. Паронян, Г. А. Мкртчян,
Э. Г. Адуни, С. С. Мусаелян

Количественное соотношение амидных групп белков
субфракций грубой митохондриальной фракции
головного мозга крыс

(Представлено академиком АН Армянской ССР Г. Х. Бунятыном 31/X 1975)

Рядом исследователей (^{1,2} и др.) была установлена гетерогенность так называемой грубой митохондриальной фракции головного мозга. В лаборатории Виттекера (¹) в градиенте плотности сахарозы удалось разделить грубую митохондриальную фракцию на субфракции миеллина, нервных окончаний (синапсом) и очищенных митохондрий. Выделение синапсом облегчило изучение процесса передачи нервного импульса через синапсы. Из перечисленных субфракций подробно изучена синапсомальная. В отношении содержания амидных групп белков эти три фракции изучены недостаточно.

Настоящая работа посвящена выявлению количественного соотношения амидных групп белков в субфракциях грубой митохондриальной фракции коры головного мозга белых крыс.

Опыты были поставлены на половозрелых крысах. Животных быстро обезглавливали, извлекали большие полушария и помещали в холодильный шкаф, в котором при температуре 2—4° отделяли кору больших полушарий. Из коры мозга готовили 10%-ный гомогенат на 0,32 М сахарозе, содержащей 1 мМ ЭДТА, при рН 7,4. Дифференциальное и градиентное центрифугирование проводили методом Виттекера (³) в модификациях Брадфорда (^{4,5}) лишь с той разницей, что после осаждения ядерной фракции из исходного гомогената, надосадочную жидкость после двукратного разбавления центрифугировали при 800 г 15 мин для полного осаждения остатков клеточных фрагментов и ядер (см. схему и рис. 1).

Электронномикроскопическое исследование полученных субфракций показало, что чистота синапсомальной фракции составляет 60%, а митохондриальной—80%, что соответствует литературным данным (^{6,7}).

Амидные группы белков определяли по выходу амидоазота белков после двухчасового гидролиза 2н. раствором H₂SO₄ трихлоруксусной

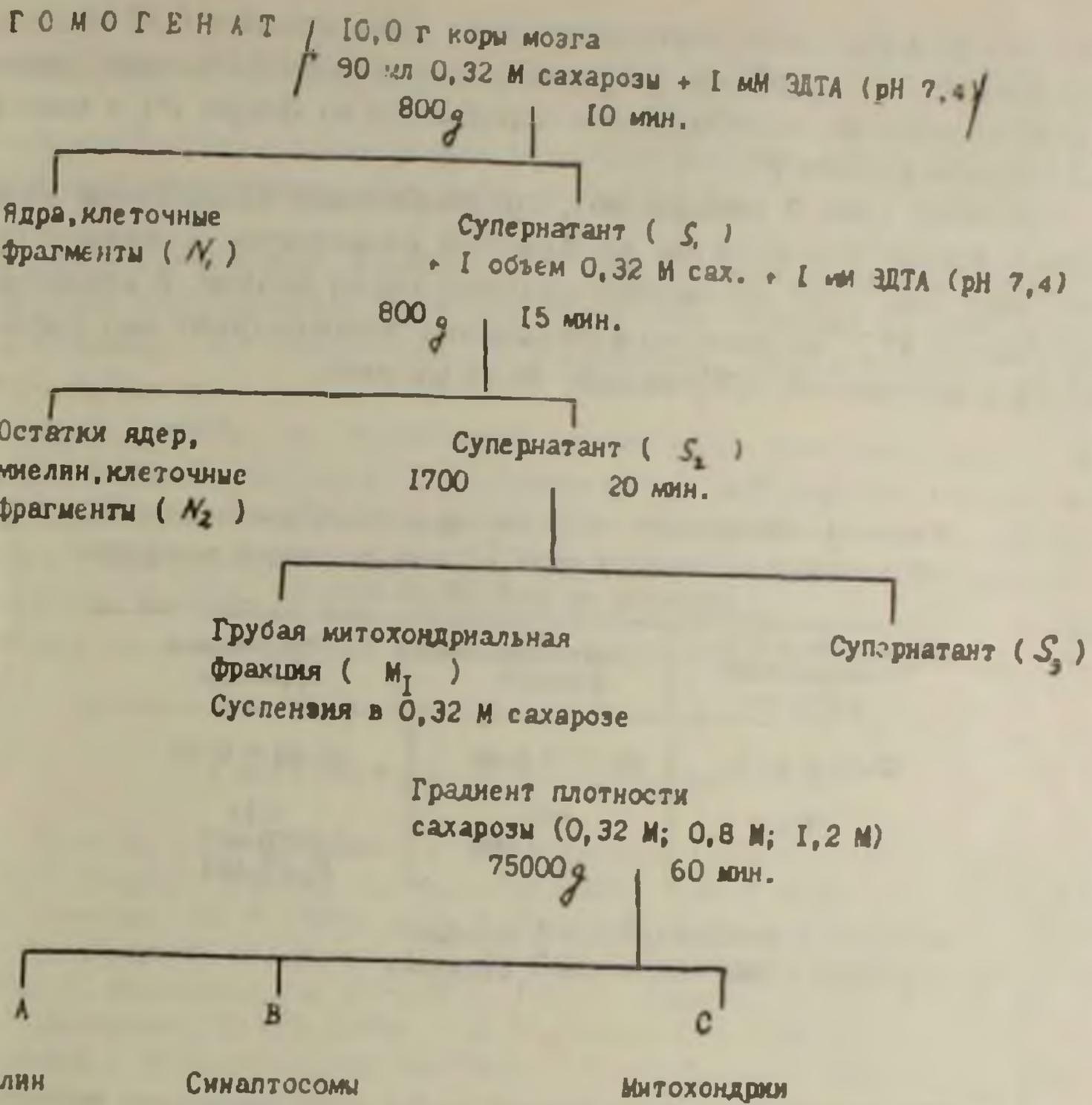


Схема выделения первичных фракций гомогената, субфракций митохондрий дифференциальным центрифугированием и центрифугированием в градиенте плотности сахарозы.

Плотность сахарозы **Колич в мл.**

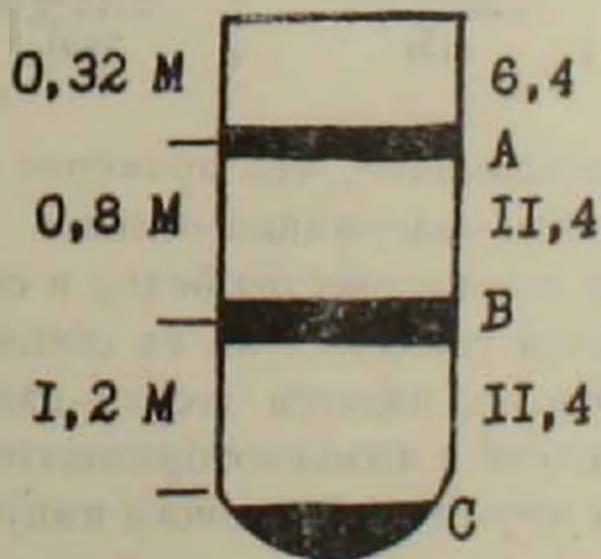


Рис. 1. Выделение субфракций грубой митохондриальной фракции при 75.000 г в течение 60 мин. А—миелин; В—синаптосомы; С—очищенные митохондрии

лых осадков суспензий соответствующих субфракций в 0,32 М сахарозе. Осадок перед гидролизом двукратно промывали 1,5%-ным раствором трихлоруксусной кислоты. Белок определяли по Лоури (8) в модификации Хесс и Левина (9).

Данные табл. 1 показывают, что наибольшее содержание амидных групп белков определяется во фракции синапсом, а наименьшее — в миелине. Так, если количество амидных групп белков, в синапсоме составляет 82,77 мк атом, то в очищенных митохондриях оно составляет 65,43, в миелиновой субфракции — 46,13 мк атом.

Таблица 1

Распределение амидных групп белков среди субфракций грубой митохондриальной фракции коры больших полушарий мозга крыс (мк атом амидо-N/100 мг белка)

Очищенная митохондриальная фракция	Синапсомальная фракция	Миелиновая фракция
65,43 ± 0,74 (41)	82,77 ± 0,86 (40) P < 0,001	46,13 ± 0,55 (31) P < 0,001 P ₁ < 0,001

P — по сравнению с митохондриальной фракцией;

P₁ — по сравнению с синапсомальной фракцией

Таблица 2

Распределение белка среди субфракций грубой митохондриальной фракции коры больших полушарий мозга крыс (мг/г коры)

Грубая митохондриальная фракция	Субфракции		
	очищенная митохондриальная	синапсомальная	миелиновая
28,45 ± 0,8 (15)	3,69 ± 0,1 (15)	8,14 ± 0,3 (15)	1,81 ± 0,09 (15)

Данные табл. 2 показывают, что примерно такое же соотношение существует и в отношении содержания белка.

Сравнительно большое количество белка в синапсоме и высокая степень их амидирования указывает на их специфическую роль в нервных окончаниях. Вероятно, имеется тесная взаимосвязь между уровнем амидных групп белков и аминокислотнообразовательной функцией синапсом, участвующих в проведении нервного импульса.

Институт биохимии

Академии наук Армянской ССР

Սպիտակ առնետների ուղեղի կուպիտ միտոֆոնդրիալ ֆրակցիայի էներաֆրակցիաների սպիտակուցների ամիդ խմբերի բանակական փոխհարաբերությունը

Ներկա աշխատանքի նպատակն է եղել պարզարանել, թե ինչպիսի բանակական փոխհարաբերություն գոյություն ունի մաքրված միտոքոնդրիալ, սինապտոսոմալ և միելինային ֆրակցիաների սպիտակուցների ամիդ խմբերի միջև:

Ցույց է տրված, որ սպիտակուցներն ամենից շատ ամիդացված են սինապտոսոմալ ֆրակցիայում: Սպիտակուցների ամիդացման աստիճանով միտոքոնդրիալ և, հատկապես, միելինային ֆրակցիան զիջում են սինապտոսոմալ ֆրակցիային: Հնարավոր է, սինապտոսոմներում ընդհանուր սպիտակուցի համեմատաբար մեծ քանակը և նրանց ամիդացման բարձր աստիճանը սերտ առնչություն ունեն ամոնիակառաջացման պրոցեսների հետ:

Л И Т Е Р А Т У Р А — Կ Ր Ա Կ Ա Ն Ո Ւ Թ Յ Ո Ւ Ն

- ¹ C. O. Hebb, V. P. Whittaker, J. Physiol., 142, 187 (1958). ² E. Petrusik, A. Giuditta, J. Biophys. Biochem. Cytol., 6, 129 (1959). ³ E. G. Gray, V. P. Whittaker, J. Anat. (London), 96, 79 (1962). ⁴ H. F. Bradford, J. Neurochem., 16, 675 (1969). ⁵ H. F. Bradford, G. W. Bennet, A. J. Thomas, J. Neurochem., 21, 495 (1973). ⁶ S. H. Barondess, J. Neurochem., 13, 721 (1966). ⁷ P. D. Swanson, F. H. Harvey, W. L. Stahl, J. Neurochem., 20, 465 (1973). ⁸ O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, R. J. Randall, J. Biol. Chem., 193, 265 (1951). ⁹ H. H. Hess, E. Lewin, J. Neurochem., 12, 205 (1965).