ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՍՍՀ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԿԱԴԵՄԻԱՅԻ ԶԵԿՈՒՅՑՆԵՐ
ДОКЛАДЫ АКАДЕМИИ НАУК АРМЯНСКОЙ ССР

LXXXV 1987 3

УДК 577.15+577.3+591.39

БИОХИМИЯ

А. А. Симонян, Р. Б. Бадалян

Ca^{2+} и Zn^{2+}-зависимый энзиматический гидролиз АТР в мозге и печени кур в отногенезе

(Представлено академиком АН Армянской ССР А. А. Галояном 11/V 1987)

Ранее нами была обнаружена аденозинтрифосфатазная активность в ряде внутриклеточных структур тканей различных органов развивающегося куриного эмбриона ([1]). В этой работе, а также в работах других авторов ([2, 3]) показано, что АТРазы весьма разнообразны, они присутствуют в разных участках клетки, связаны с теми или иными субклеточными структурами и отличаются друг от друга способностью активироваться разными ионами, оптимумом pH и рядом других свойств. Большинство двухвалентных катионов принимают участие в активации различных АТРаз. Обычно в среду инкубации для измерения АТРазной активности вносят магний. Другие двухвалентные катионы в различной степени могут замещать его. Эдстрём и сотр. ([4]) выявили Ca^{2+} или Mg^{2+}-зависимый гидролиз в микросомной и митохондриальной фракциях седалищного нерва лягушки. В этих исследованиях одновременно было показано, что 10^{-4}M Zn^{2+} или Ca^{2+} уже подавляют гидролиз АТР как в микросомной, так и митохондриальной фракциях. Эти данные, а также отсутствие аналогичных исследований в развивающихся тканях куриного эмбриона послужили основанием для изучения в настоящей работе влияния различных концентраций ионов Ca и Zn на гидролиз АТР в изолированных митохондриях мозга и печени кур в различные периоды их онтогенетического развития.

В опытах использованы 15-, 20-дневные куриные эмбрионы, 5-дневные цыплята и половозрелые куры. АТРазную активность в митохондриях определяли по нарастанию P_i в следующей инкубационной смеси: 0,7 мл 0.25 М трис-HCl буфера, 0,1 мл суспензии митохондрий (соответствующей 1—2 мг белка), 2мМ АТР. Zn^{2+} или Ca^{2+} добавляли в количестве 10^{-8} - 10^{-3} М, pH смеси 7,4, время инкубации 30 мин при 37°С. Полученные данные пересчитывали на 1 мг белка. Определение белка проводили по Лоури и сотр. ([5]).

Во всех исследованных возрастных группах активация АТРазы начиналась уже с концентрации 10^{-8} М добавленного Zn^{2+} (рис. 1). По мере увеличения количества Zn^{2+} в реакционной смеси до 10^{-7} М особых сдвигов в активности фермента не наблюдалось, кроме митохондрий 20-дневных эмбрионов. Повышение концентрации Zn^{2+} (10^{-6}—10^{-5} М) приводило к увеличению процента активации фермента, кроме 5-дневных цыплят. Дальнейшее повышение концентрации Zn^{2+}

(10^{-4}—10^{-3} М) подавляло энзимагический гидролиз АТР с 10 до 38% в митохондриях мозга отдельных возрастных групп.

При добавлении ионов Са в концентрации 10^{-8} М активирование фермента в мозге 20-дневных эмбрионов и 5-дневных цыплят доходило до 16 и 23% соответственно (рис. 1). Однако у 15-дневных эмбрионов

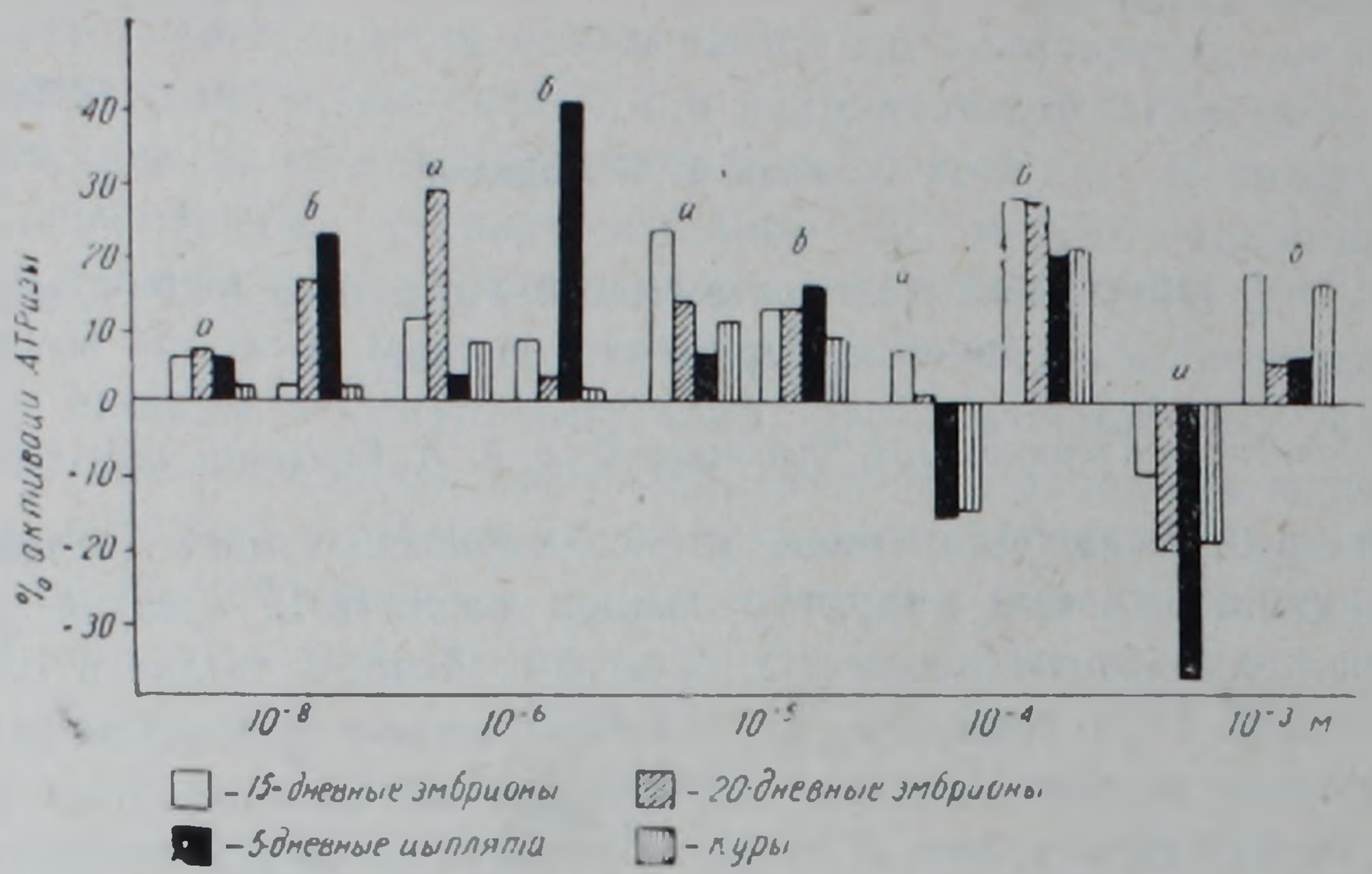

Рис. 1. Влияние различных концентраций Zn^{2+}(*а*) и Ca^{2+}(*б*) на АТРазную активность митохондрий мозга кур в онтогенезе

и кур оно составляло всего 2%. Дальнейшее увеличение концентрации ионов кальция приводило к постепенному увеличению процента активации фермента. В присутствии 10^{-3} М Ca^{2+} гидролиз АТР заметно угнетался по сравнению с 10^{-4} М. В митохондриях печени активация гидролиза АТР находится в прямой зависимости от концентрации добавленного Zn^{2+} или Ca^{2+} (рис. 2).

Интересно отметить, что в аналогичных экспериментах по мере

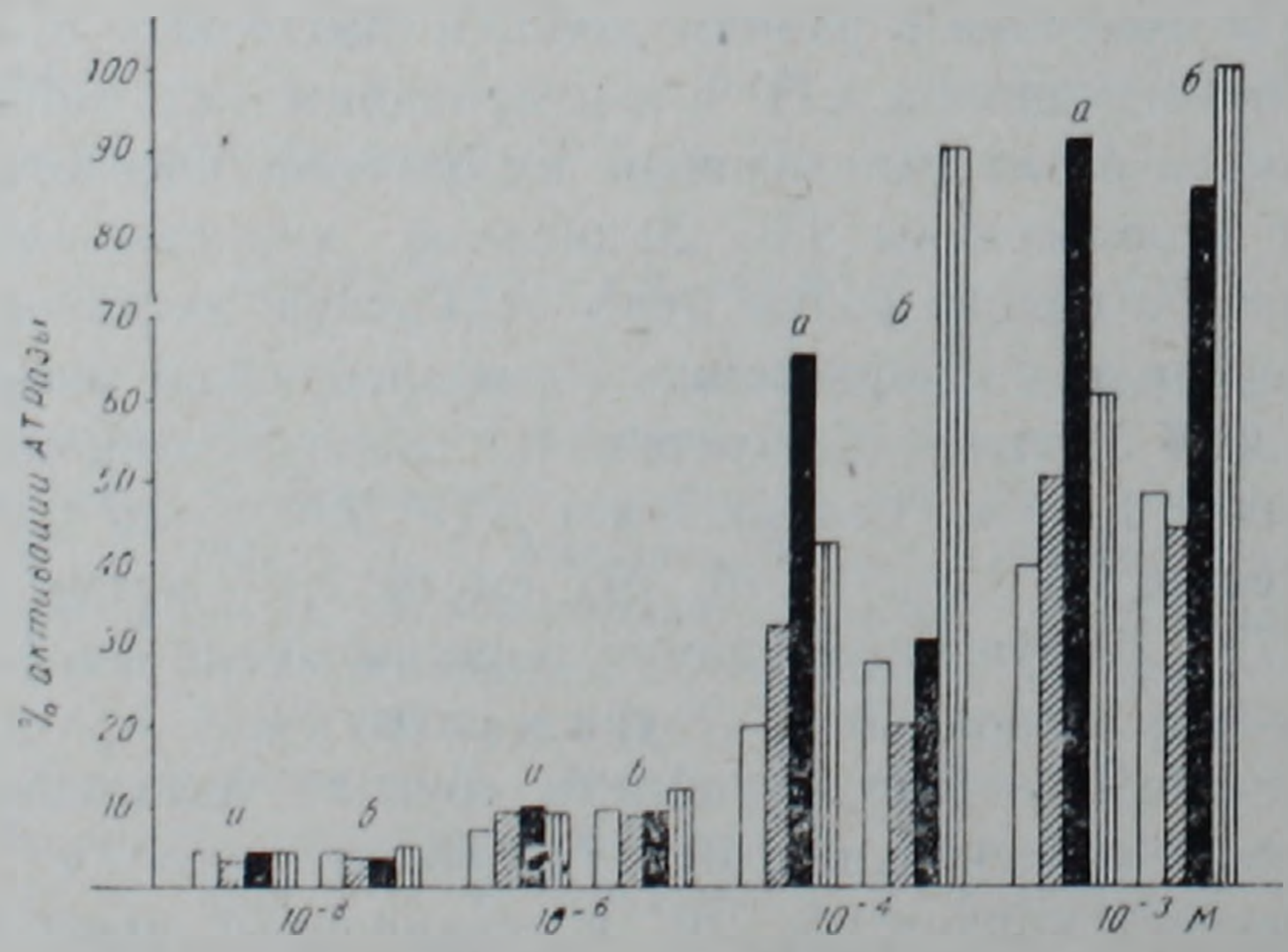

Рис. 2. Влияние различных концентраций Zn^{2+}(*а*) и Ca^{2+}(*б*) на АТРазную активность митохондрий печени кур в онтогенезе. Обозначения те же, что на рис. 1

повышения концентрации использованных ионов Zn или Ca процент активации АТРазы возрастает в митохондриях мозга крысы. Однако 10^{-4}—10^{-3}M Zn^{2+} заметно (до 17%) подавляет гидролиз АТР в этих органеллах печени. В тех же условиях активность фермента подавляется только при добавлении 10^{-3}M Ca.

Таким образом, ионы Zn стимулируют гидролиз АТР в митохондриях мозга в различные периоды эмбрионального развития кур. Однако большие концентрации подавляют активность АТРазы как в эмбриональном состоянии, так и после выхода цыплят. В работах Эдстрёма и Матсона ([6,7]) Zn^{2+}, который является потенциальным сульфгидрильным реагентом, стимулирует гидролиз АТР микросомной фракции при низких (10^{-6}—10^{-5}M) концентрациях и подавляет при более высоких; *n*-хлормеркурифенилсульфонат и N-этилмалеимид также стимулируют или ингибируют АТРазную активность в зависимости от добавленных концентраций. Zn^{2+}, а также органические SH-блокирующие агенты при низких концентрациях одновременно повышают количество белка, транспортирующегося в сенсорные аксоны седалищного нерва лягушки ([7]). Однако при высоких концентрациях этот транспорт подавляется. Показано, что оптимальная стимулирующая концентрация аксонального транспорта Zn^{2+} составляет 5.10^{-6}M, т.е. это та концентрация, которая вызывает интенсивный гидролиз АТР в седалищном нерве лягушки. Исходя из этих данных авторы делают предположение о возможной роли АТР в аксональном транспорте.

В отличие от мозга, в печени Zn^{2+} в низких концентрациях в меньшей степени стимулирует гидролиз АТР, однако большие концентрации не только не подавляют, а, наоборот, значительно активируют АТРазу. На основании этих данных можно полагать, что в двух различных тканях куриного эмбриона АТРаза в определенной степени отличается по своим конформационным и кинетическим свойствам.

Для сравнения с ионами цинка показательны результаты, полученные при исследовании Ca-АТРазной системы, осуществляющей активный перенос кальция. В наших опытах ионы Ca также активируют гидролиз АТР, однако это действие неоднозначно в отдельных возрастных группах кур. В мозгу 15-дневных эмбрионов стимулирование активности АТРазы находится в возрастающей зависимости от добавленной концентрации Ca^{2+}, в то время как у 20-дневных эмбрионов определенной закономерности не наблюдается. В мозгу 5-дневных цыплят интенсивный гидролиз АТР отмечается при низких концентрациях Ca^{2+} (10^{-8}—10^{-6}M); более высокие концентрации снижают процент активации фермента, не подавляя ее по сравнению с контрольными данными. В митохондриях печени всех возрастных групп кур наблюдается выраженная корреляция возрастания активации Ca-АТРазы в зависимости от добавленной концентрации кальция. Полученные нами данные свидетельствуют об определенных каталитических и конформационных изменениях Ca^{2+}-зависимой АТРазы в мозге и печени по ходу развития куриного эмбриона.

Институт биохимии Академии наук Армянской ССР

Ա. Ա. ՍԻՄՈՆՅԱՆ, Ի. Բ. ԲԱԴՄԱԼՅԱՆ

Ca^{2+}-ից կամ Zn^{2+}-ից կախված ATP-ի հիդրոլիզը հավերի ուղեղում և լյարդում օնտոգենեզում

Ուսումնասիրվել է Ca^{2+}-ի կամ Zn^{2+}-ի տարբեր խտությունների ազդեցությունը ATP-ի հիդրոլիզի վրա հավերի ուղեղից կամ լյարդից անջատված միտոքոնդրիումներում օնտոգենեզի ընթացքում։ Յուց է տրվել, որ 10^{-8}—10^{-5}M Zn^{2+} խթանում է ATP-ի հիդրոլիզը ուղեղում։ Այդ իոնի ավելի բարձր խտությունների դեպքում ֆերմենտային ակտիվությունը ճնշվում է։ Ուղեղում Ca-ի իոններով ATP-ազայի ակտիվության ճնշում դիտվում է 10^{-3}M-ի ավելացման դեպքում։ Լյարդի միտոքոնդրիումներում ATP-ի ակտիվացման մեծությունը ուղիղ համեմատական է ավելացված իոնների քանակին։

ЛИТЕРАТУРА — ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

[1] *А. А. Симонян*, Особенности энергетического метаболизма в мозгу и печени кур в онтогенезе, Автореф. дис., Ереван, 1973. [2] *Л. Т. Иващенко*, Анионные аденозинтрифосфатазы, Наука, Алма-Ата, 1982. [3] *А. И. Силакова, Л. Б. Беляева*, ДАН СССР, т. 208, № 5 (1973). [4] *A. Edström, M. Hanson, K. Prus* e. a., J. Neurochem., v. 35, p. 297—303 (1980). [5] *O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr* e. a., J. Biol. Chem., v. 193, p. 265—269 (1951). [6] *A. Edström, H. Mattsson*, Brain Res. v. 86, p. 162—167 (1975). [7] *A. Edström, H. Mattsson*, Brain. Res. v. 108, p. 381—395 (1976)