

ДЕЙСТВИЕ NaCl И ТРИТОНА X-100 НА ГЕКСОКИНАЗУ МИТОХОНДРИЙ МОЗГА КРЫС

Регуляция активности многих ферментов часто определяется соотношением между связанной с мембранами неактивной формой и растворимой в гиалоплазме активной формой фермента [1, 2]. Действуя детергентами или солями, можно вызвать солиubilизацию связанного с мембранами фермента и выявить таким образом его латентную форму.

Мы изучали солиubilизирующее действие неионного детергента тритона X-100 и NaCl на активность гексокиназы в митохондриях головного мозга белых крыс.

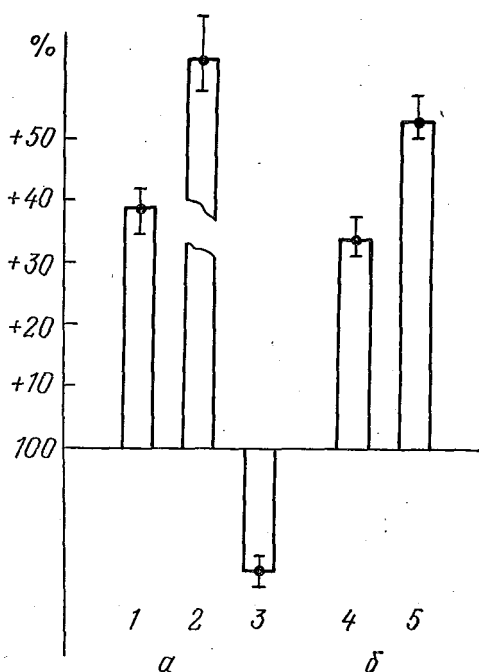
Материал и методика

Для получения митохондрий использовали 10%-ный гомогенат больших полушарий головного мозга белых крыс. Выделение митохондрий проводили методом, описанным в [3]. Митохондрии интактных крыс инкубировали в течение 20 мин на холоде с тритоном X-100, взятым в конечных концентрациях 0,2; 0,5; 1%.

Концентрация NaCl при инкубации митохондрий во второй серии была 0,6 и 0,9 М. Активность гексокиназы определяли по убыли глюкозы [4] ортотолуидиновым методом. Рассчитывали активность в МкМ глюкозы на мг белка за 1 мин. Данные обработаны статистически [5]; в серии восемь опытов.

Результаты и их обсуждение

Полученные результаты (см. рисунок, б) свидетельствуют о том, что NaCl оказывает солиubilизирующее действие на гексокиназу митохондрий мозга крыс. При этом наибольший эффект наблюдался при концентрации соли 0,9 М. (+55%). Такое действие NaCl может быть объяснено, исходя из представлений [2, 6] о том, что солиubilизация гексокиназы зависит от pH. При более низких значениях pH для полной солиubilизации гексокиназы достаточны невысокие концентрации соли: так, 0,4 М NaCl может вызвать освобождение



Влияние солиubilизирующих веществ (а — тритон X-100, б — NaCl) на гексокиназу митохондрий мозга крыс:

1 — 0,2%; 2 — 0,5; 3 — 1%; 4 — 0,6 М; 5 — 0,9 М;
● — статистически достоверные данные

латентной формы фермента при pH 5,0, а при pH 7 такой же эффект может быть достигнут лишь при концентрации 0,9 М. Мы не выявили 100%-ного солиubilизирующего действия соли при pH 7,6, однако наблюдали усиление эффекта при увеличении концентрации NaCl. Возможно, механизм солиubilизирующего действия возрастающих концентраций NaCl на гексокиназу митохондрий мозга крыс объясняется и тем, что одновалентные катионы могут выступать в качестве антагонистов двухвалентных катионов (Mg^{2+} , Ca^{2+}), способствующих прочному связыванию гексокиназы с мембранами митохондрий [2, 7].

Неионный детергент, тритон X-100 (см. рисунок, а) при возрастании

в пробе *in vitro* от 0,2 до 0,5% вызывал увеличение активности гексокиназы в митохондриях мозга крыс до 171% от контрольного уровня. Увеличение его концентрации до 1% приводило к снижению активности фермента на 20%. Такой характер действия различных доз тритона X-100 на гексокиназу митохондрий мозга не случаен. Известно, что тритон X-100 способен вызывать увеличение активности гексокиназы митохондрий из-за выхода латентного фермента при разрушении липопротеидной структуры мембран [8]. Вместе с тем большие дозы детергента, как указывает ряд авторов [2, 9], способны тормозить активность фермента, что мы и наблюдали после преинкубации митохондрий с 1%-ным тритоном X-100. В цитоплазме, где гексокиназа оказывается легкодоступной действию детергента, она ингибируется им почти в два раза: с 1,82 до 0,94 мг/г·мин.

Можно предположить, что на характере действия тритона X-100 отражается различная чувствительность к нему изоферментов гексокиназы мозга [10], обусловленная различиями в степени связанности их с мембранами, чувствительностью к протеолитическим ферментам и пр. Так, например, в мозге преобладает изофермент I, тогда как в сердечной мышце — изофермент II, и именно эти ткани дали различный эффект при внесении нами в пробы тритона X-100.

Таким образом, мы обнаружили, что наибольший солубилизирующий эффект на гексокиназу мозга крыс при pH 7,6 оказывают NaCl в концентрации 0,9 М и 0,5%-ный тритон X-100.

ЛИТЕРАТУРА

1. Wilson I. S.— Arch. of Biochem. a. Biophys., 1973, v. 159, № 2, p. 543.
2. Алексахина Н. В., Ситнина Н. Ю., Щербатых Л. Н.— Биохимия, 1973, т. 38, № 5, с. 915.
3. Somogy et al.— Acta physiol., 1962, v. 21, p. 295.
4. Long C.— Biochem. J., 1952, v. 50, p. 407.
5. Рокицкий П. Ф.— Биологическая статистика.— Минск, 1973.
6. Feichgräber P., Biesold D.— J. Neurochem., 1968, v. 15, № 9, p. 977.
7. Генин М. С., Романов Ю. Ф., Андреев В. С.— Биохимия, 1972, т. 37, № 4, с. 732.
8. Щербатых Л. Н., Гончарова Н. Ю., Алексахина Н. В.— Биохимия, 1977, т. 42, вып. 79, с. 1408.
9. Доведова Е. Л., Бигль Ф.— Биохимические функции в системе клеточных органелл.— М., 1969.
10. Wilson J. S.— J. Biol. Chem., 1968, v. 243, N 13, p. 36.

Поступила в редакцию
17.10.79.

Кафедра биохимии