

А. С. КОНИКОВА, М. Г. КРИЦМАН, В. Н. ОРЕХОВИЧ, С. Я. ДАВЫДОВА,
Б. В. ОТТЕСЕН, М. И. МЕНЬШИКОВ, Л. Л. ГОЛЬДИН и Г. М. КУКАВАДЗЕ

ИССЛЕДОВАНИЕ ОБНОВЛЕНИЯ АМИНОДИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ В КРОВИ С ПОМОЩЬЮ ТЯЖЕЛОГО УГЛЕРОДА C^{13}

(Представлено академиком А. И. Опариным 18 IV 1949)

Несмотря на то, что некоторые данные, полученные при изучении скорости обновления белков в различных тканях организма, давали основание предполагать возможность самостоятельного обновления белков и аминокислот в крови, ряд исследователей продолжал утверждать, что кровь «пассивна» в отношении обмена аминокислот и обновления белка. Считалось доказанным, что единственным местом синтеза аминокислот и белков, входящих в состав крови, является печень.

Решение этого вопроса значительно облегчилось в связи с внедрением в биохимию метода изотопной метки. Мы попытались изучить этот вопрос с помощью тяжелого углерода C^{13} . Опыты были поставлены с изолированной свежей, цельной кровью крыс и голубей. Показателем наличия самостоятельного обмена аминокислот и белков послужило внедрение C^{13} в аминодикарбоновые кислоты, свободные и включенные в белковую молекулу. В настоящем сообщении приводятся данные, которые дают основание утверждать, что в крови содержатся ферментные системы, осуществляющие синтез и обновление аминокислот и белков.

Экспериментальная часть. В газовые колбочки емкостью 100 мл вносилось по 7,0 мл свежей гепаринизированной цельной крови, к ним добавлялось по 250 мг $NaHC^{13}O_3$, 5 ат. % обогащения, и добавки в μ молях: аланин 25, пировиноградная кислота 25, кетоглутаровая кислота 250, фумаровая кислота 25 и хлористый аммоний; конечная концентрация 0,05 М. рН среды 7,6; объем пробы 10 мл; время опыта 24 часа. Первые 4 часа инкубация проводилась в водяном термостате с качанием, остальное время пробы содержались в обычном термостате при 37—38°. Опыты проводились в атмосфере кислорода. Контролем служили пробы аналогичного состава, содержащие $NaHCO_3$, не обогащенный C^{13} . По окончании инкубации пробы осаждались трихлоруксусной кислотой. Свободные аминодикарбоновые кислоты осаждались спиртом из трихлоруксусного фильтрата после подщелачивания CaO .

В аминодикарбоновых кислотах исследовалось содержание C^{13} . Белковый осадок отмывался 5% трихлоруксусной кислотой, затем спиртом и эфиром и высушивался на воздухе. Высушенный белок подвергался 26-часовому гидролизу 6 М HCl в автоклаве при давлении 1,5 атм. Полученный гидролизат обесцвечивался углем и освобождался от HCl путем многократного выпаривания в вакууме.

Из обработанного таким образом гидролизата были осаждены аминодикарбоновые кислоты тем же способом, как и свободные аминодикарбоновые кислоты крови. Аминодикарбоновые кислоты, получен-

ные после осаждения, хорошо высушивались и затем из них вытеснялась углекислота вингидриновым методом Ван-Слайка. Выделившийся газ собирался в специальные ампулы. Изотопный состав полученных проб газа измерялся на масс-спектрометре. Краткая характеристика этого прибора дана в сообщении (1). Полученные результаты приведены в табл. 1.

Таблица 1

Атомный % избытка C^{13} свободных и выделенных из белков крови аминокислот

Исследованные ткани	Аминокислоты крови	
	свободные	в белках
Кровь крысы	$0,072 \pm 0,01$ $0,043 \pm 0,007$	$0,03 \pm 0,007$
Кровь голубя	$0,032 \pm 0,007$ $0,013 \pm 0,007$	$0,012 \pm 0,007$ $0,001 \pm 0,007$
Контроль	$0,001 \pm 0,005$	

избытка C^{13} по сравнению с контролем, что, по видимому, является следствием малого обогащения аминокислот, которые при включении их в белковую молекулу были столь сильно разведены аналогичными аминокислотами белковой молекулы, что избыток C^{13} оказался ниже предела ошибки измерения.

Обсуждение результатов. Установленный нами избыток C^{13} в аминокислотах белков крови в опытах с изолированной цельной кровью при добавлении кетокислот и бикарбоната натрия, обогащенного C^{13} , указывает на наличие в крови следующих процессов: фиксация углекислоты, превращение кетокислот по циклу трикарбонных кислот, аминирование кетокислот и включение аминокислот в белковую молекулу. Следовательно, в крови содержатся соответствующие ферментные системы. Хотя значение крови в аминокислотном обмене уже неоднократно отмечалось (Б. И. Збарский, например, указывал на то, что эритроциты являются депо аминокислот), нам впервые удалось показать наличие в крови процессов фиксации углекислоты, синтеза аминокислот и обновления белка, причем, согласно нашим данным, указанные процессы интенсивнее протекают в крови, содержащей безъядерные эритроциты (крысы), чем в крови, содержащей ядерные эритроциты (голубя).

В работах Шенгеймера и др., исследовавших скорость обновления аминокислот белков у крыс в целом организме с помощью меченого N^{15} лейцина и гистидина, было установлено, что максимальное количество меченого лейцина и гистидина обнаруживается в белках крови, причем после кормления указанными веществами аминокислоты белков крови были сильнее обогащены N^{15} , чем белки печени.

Это явление в свете наших данных может найти объяснение в самостоятельном обмене белков крови у млекопитающих. Таким образом, полученные нами данные дают основание считать, что в крови происходит обмен белка и его структурных единиц. Наличие избытка C^{13} в свободных аминокислотах изолированной крови крыс и голубей в наших опытах свидетельствует, что фиксация углекислоты, показанная Вудом и Веркманом, имеет место в крови.

Институт биологической и медицинской химии
Академии медицинских наук СССР

Поступило
18 IV 1949

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1 А. С. Конилова, В. Н. Орехович, М. Г. Крицман, С. Я. Давыдова, А. С. Хохлов, Г. М. Кукавадзе, Б. В. Оттесен, М. И. Меньшиков и Л. Л. Гольдин, ДАН, 65, 325 (1949).