

БИОХИМИЯ

Т. А. ФЕДОРОВА и А. С. КОНИКОВА

СОДЕРЖАНИЕ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ В НЕКОТОРЫХ ОРГАНАХ И ТКАНЯХ ЖИВОТНЫХ

(Представлено академиком А. И. Опарином 28 II 1950)

Содержание свободных аминокислот в органах и тканях животных может характеризовать некоторые процессы аминокислотного и белкового обмена.

В последнее время метод распределительной хроматографии на бумаге был применен для определения свободных аминокислот в органах и тканях животных⁽¹⁻³⁾. Авапара и Марвин⁽¹⁾ исследовали способность печени, почек и мышц удерживать определенную концентрацию свободных аминокислот после внутривенного их введения. ЧАО и Робертс⁽⁴⁾, применив вышеуказанный метод, показали, что способность поддерживать относительно высокое содержание свободных аминокислот в органах и тканях возникает после определенной стадии развития эмбриона.

В данной работе при помощи метода одномерной распределительной хроматографии на бумаге в сочетании с методом колориметрического определения аминоазота мы исследовали количественное и качественное содержание свободных аминокислот в органах и тканях крыс, кроликов и лягушек с целью установления состава свободных аминокислот в органах, в связи с видовыми и функциональными различиями.

Экспериментальная часть

Для исследования брались животные-самцы, голодавшие 12 час. до опыта. Все животные убивались обезглавливанием. Из печени, почек и селезенки приготавливались гомогенаты; органы брались немедленно после обезглавливания животных; 100 мг ткани после прекращения протеолиза прогреванием растиралось в гомогенизаторе, белки осаждались и безбелковые фильтраты исследовались на содержание свободных аминокислот.

Определение количества аминоазота производилось колориметрическим методом⁽⁵⁾, который позволяет определить от 4 до 40 γ аминоазота в пробе с точностью от 1 до 2%. Результаты опытов представлены в табл. 1.

Из данных табл. 1 видно, что среднее содержание аминоазота у крыс в печени и селезенке одинаково, а в почках незначительно выше. Величина колебаний содержания аминоазота в разных органах почти не превышает индивидуальные различия содержания аминоазота в одноименных органах (в печени 10%, в почках 16,3%, в селезенке 15,4%). Индивидуальные колебания содержания аминоазота в крови крыс более значительны.

Таблица 1

Содержание аминоазота в органах и крови различных животных в мг на 1 г ткани

Животные	№ опыта	Вес животных в г	Аминоазот			
			% Печень	Почки	Селезенка	Кровь
Крысы	1	120	0,96	0,41	0,36	0,20
	2	120	0,40	0,43	0,36	0,19
	3	110	0,38	0,45	0,33	0,20
	4	110	0,37	0,46	0,36	0,23
	5	120	0,38	0,43	0,39	0,20
	6	130	0,36	0,49	0,35	0,24
	В среднем		0,38	0,45	0,36	0,21
Кролики	1	2200	0,41	0,42	0,66	0,19
	2	2100	0,42	0,42	0,66	0,19
	3	2200	0,42	0,42	0,66	0,19
В среднем			0,42	0,42	0,66	0,19
Лягушки	1	—	0,39	0,37	—	—
	2	—	0,45	0,40	—	0,21
	3	—	0,30	0,29	—	0,25
	4	—	0,34	0,43	—	0,24
	5	—	0,32	0,38	—	0,17
	6	—	0,35	0,38	—	0,24
В среднем			0,36	0,38	—	0,22

У кролика количество аминоазота в печени и почках одинаково. Селезенка отличается повышенным содержанием свободных аминокислот (\sim на 57% больше, чем в печени и почках). Количество аминоазота крови кроликов близко к таковому у крыс.

Лягушки исследовались весенние. Для определения содержания свободных аминокислот в органах лягушек приготавливались гомогенаты из органов трех животных.

Данные табл. 1 свидетельствуют о наличии больших индивидуальных колебаний в содержании аминоазота в органах лягушек по сравнению с таковыми у крыс и кроликов. Средние данные по количеству аминоазота в печени и почках лягушек почти совпадают между собой.

Качественная характеристика свободных аминокислот в органах животных

Определение свободных аминокислот проводилось по методу одномерной распределительной хроматографии на бумаге (⁶). Для качественного определения аминокислот в гомогенатах белки осаждались шестью объемами 96% спирта.

Безбелковый фильтрат выпаривался на водяной бане до сухого остатка, который затем растворялся в 4 каплях дестиллированной воды. На полоску фильтровальной бумаги (ватман № 1) наносились в один ряд капельки разных проб анализируемых экстрактов объемом в 738

0,02 мл. Одновременно с испытуемым экстрактом на бумагу наносилась в качестве контроля капля смеси известных аминокислот.

Подвижной фазой служил насыщенный водой фенол.

Нам удалось обнаружить в безбелковых фильтратах, полученных из печени, почек и селезенки крыс, кроликов и лягушек, одни и те же аминокислоты: аспарагиновую и глутаминовую кислоты, цистин, глицин, серин, аланин, метионин, аргинин и фенилаланин*.

На рис. 1 приведена типичная хроматограмма, полученная при анализе безбелковых фильтратов органов крыс, кроликов и лягушек.

Обсуждение результатов

Количественное содержание аминоазота в печени и почках мало отличается между собой у одного и того же вида животных. У кроликов при равном содержании аминоазота в печени и почках обнаружено более высокое количество его в селезенке.

Наши данные показывают сходство качественного состава свободных аминокислот в почках, печени и селезенке исследованных животных.

Возможно, что в различных органах животных содержатся не только обнаруженные нами 9 свободных аминокислот, но и другие, которые методом одномерной распределительной хроматографии не могут быть обнаружены.

На основании экспериментального материала можно считать, что 9 указанных аминокислот всегда находятся в исследованных органах. При сходстве суммарного количества аминоазота и качественного состава свободных аминокислот в органах не исключена вероятность, что содержание отдельных аминокислот в них может изменяться. Повидимому, в этом проявляется своеобразие в содержании свободных аминокислот отдельных органов.

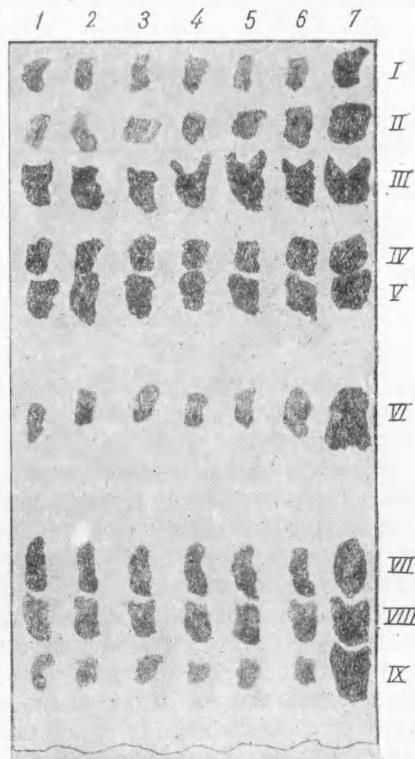


Рис. 1. Хроматограмма свободных аминокислот в органах крыс, кроликов и лягушек. 1 и 2 — печень, 3 и 4 — почки, 5 и 6 — селезенка. 7 — контроль (смесь известных аминокислот): I — аспарагиновая к-та 0,07; II — цистин 0,12; III — глутаминовая к-та 0,19; IV — глицин 0,26; V — серин 0,32; VI — аланин 0,54; VII — метионин 0,70; VIII — аргинин 0,76; IX — фенилаланин 0,80

Поступило
21 II 1950

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ J. Awara, Journ. Biol. Chem., 178, No. 1, 113 (1949); 179, No. 2, 691 (1949).
- ² E. Roberts and S. Frankel, Cancer Research, 9, No. 11, 645 (1949).
- ³ P. Boullenger et G. Biserte, Bull. Soc. Chim. Biol., 31, No. 3—4, 696 (1949).
- ⁴ L. Chao-te and E. Roberts, Science, 110, 425 (1949). ⁵ E. G. Frame, J. A. Russel and A. E. Wilhelmi, Journ. Biol. Chem., 149, No. 1, 254 (1943).
- ⁶ R. Consden, A. H. Gordon and A. J. P. Martin, Journ. Biochem., 38, 224 (1944).

* Наличие цистина и аргинина было подтверждено рядом качественных проб; наличие глицина, серина, метионина и фенилаланина — усилением соответствующего пятна при добавлении указанной аминокислоты к испытуемым фильтратам.