

БИОХИМИЯ

А. С. КОНИКОВА, М. Г. КРИЦМАН и О. П. ЮХНОВСКАЯ

ВЛИЯНИЕ КОЭНЗИМАТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ОБРАЗОВАНИЕ БЕЛКА

ДЕЙСТВИЕ БИОТИНА НА СКОРОСТЬ ВКЛЮЧЕНИЯ АМИНОКИСЛОТ В БЕЛКИ ОРГАНОВ И ТКАНЕЙ

(Представлено академиком А. И. Опарином 5 IX 1950)

Рядом работ было показано, что биотин принимает участие в процессах синтеза и дезаминирования аспарагиновой кислоты у бактерий^(1, 2).

Мак-Леод и Лярди⁽³⁾ исследовали с помощью С¹⁴ роль биотина в процессах фиксации СО₂ при образовании аспарагиновой кислоты и аргинина в животных тканях.

Повышенное содержание С¹⁴ в белках печени крыс, получавших биотин, обнаруженное указанными авторами, трактовалось ими как результат активирующего действия биотина на вышеупомянутые процессы.

Нам представлялось вероятным, что это явление могло быть следствием стимулирующего действия биотина на включение аминокислот в белковую молекулу. В связи с этим нами были проведены исследования с помощью меченого метионина по выяснению действия биотина на процесс включения аминокислот в белки различных органов и тканей.

В настоящем сообщении приводятся экспериментальные данные, свидетельствующие о том, что биотин активирует включение аминокислот в белки различных органов и тканей в условиях опыта *in vitro*, а также повышает включение аминокислот в белки переживающих срезов печени.

Экспериментальная часть

Исследования проводились на белых крысах весом в 65—70 г, находившихся на общей диете. Трем сериям крыс вводился внутримышечно меченный метионин из расчета 4000 импульсов на 1 г веса.

В связи с тем, что активность использованного в наших опытах меченого метионина для каждой серии опытов была различна, к каждому опыту ставился соответствующий контроль. В качестве контроля служили крысы, получавшие метион; опытным крысам, кроме метионина, вводился биотин в количестве 10 и 25 γ. После 20 час. все крысы убивались путем декапитации. Из крови, печени, мозга, почек, мышц и кожи выделялись белки, в которых после соответствующей обработки измерялось содержание меченой серы.

Измельченные органы и ткани тщательно растирались в ступке с двойным объемом воды. Белки осаждались трихлоруксусной кислотой

из расчета конечной концентрации 5%. Белковый осадок промывался дважды 5% трихлоруксусной кислотой, фугат отбрасывался, осадок экстрагировался 24 часа 10-кратным объемом спирта, затем осадок промывался спиртом и дважды равным объемом спирта с эфиром.

Из обработанного таким образом сухого белка готовились мишени для определения активности. Обычно для приготовления мишени бралось 10 мг белка из расчета, чтобы мишень имела $\sim 0,04$ мг белка на 1 мм^2 . Определения активности производились с помощью торцовочного счетчика Гейгера-Мюллера.

Для опытов *in vitro* применялись переживающие срезы печени. Срезы взвешивались и помещались в колбочки с пришлифованным шлемом в рингеровский раствор с бикарбонатом в атмосфере из 95% O_2 и 5% CO_2 . К опытной пробе прибавлялся меченный метионин из расчета 8000 импульсов на пробу и биотин в количестве 2 μ . Контролем служила такая же проба, но без биотина. Пробы инкубировались в водяном термостате при 37–38° 2–3 часа. По окончании опыта срезы измельчались, белки осаждались трихлоруксусной кислотой конечной концентрации 5%; далее белки промывались многократно 5% трихлоруксусной кислотой до тех пор, пока упаренные промывные воды оказывались свободными от радиоактивности. После этого белки экстрагировались 24 часа 10-кратным объемом спирта и промывались спиртом и эфиром ранее описанным приемом. Из сухих белков готовились мишени, в которых определялась радиоактивность.

Полученные результаты приведены в табл. 1 и 2.

Для подсчета удельной активности определялась общая сера в белках.

Таблица 1

Влияние биотина на включение меченого метионина в белки

№ опытов	Органы и ткани	Число имп/мин в 10 мг белка		
		контроль	опыт	разность в %
1 2 3	Кровь	205	349	70,6
		125	228	82,4
		104	138	32,7
1 2 3 4	Печень	453	592	30,7
		314	463	47,5
		230	320	39,0
		80	114	42,5
1 2 3	Почки	598	825	38,4
		732	1084	48,1
		180	229	27,2
1 2	Мышцы	135	201	48,9
		159	211	34,4
1	Кожа	282	430	52,0
1	Мозг	140	162	15,7

Как видно из приведенных в таблице данных, включение метионина в белки органов резко повышается при введении подопытным животным 10 μ биотина.

В отдельных органах и тканях интенсивность зключения этой аминокислоты под влиянием биотина повышается на 15–82%, по сравнению с контрольными животными, не получавшими биотина.

Таблица 2

Изменение удельной активности S^{35} в белках под влиянием биотина

	Исследованные ткани и органы	Содержание в 100 мг белка	Число имп/мин в сульфатах из 100 мг белка	Удельная активность
Контроль	Кровь	7,75	191	24,91
Опыт	Кровь	7,60	291	36,85
Контроль	Печень	7,55	583	76,65
Опыт	Печень	7,60	837	105,97

При введении биотина в больших количествах (25 γ) не наблюдалось дальнейшего повышения интенсивности включения. Для выяснения, имеет ли место активирующее действие биотина на процесс включения аминокислот в опытах *in vitro*, были проведены опыты на переживающих срезах печени. Полученные данные приведены в табл. 3.

Из табл. 3 видно, что биотин значительно активирует включение метионина в белки срезов печени.

Таблица 3

Включение меченого метионина в белки печени в присутствии биотина

(Состав проб: контроль — 1 г срезов печени + 4 мл бикарбонатного буфера, pH 7,5, + меченный метионин из расчета 8000 импульсов на пробу; опыт — то же + 10 γ биотина. Пробы инкубировались в атмосфере газовой смеси 95% O_2 и 5% CO_2 . Время инкубации 4 часа)

№ опытов	Число импульсов на 10 мг/мин		Разность в %
	контроль	опыт	
1	135	194	31
2	437	698	38

Как видно из приведенных в табл. 1 данных, биотин повышает интенсивность включения серусодержащих аминокислот в органы и ткани.

В почках и крови интенсивность включения этих аминокислот в белки повышается в среднем на 43—76%.

Активирующим действием обладают сравнительно малые количества добавленного биотина (10 γ), повышение концентрации введенного биотина не приводит к дальнейшему повышению интенсивности аминокислот.

Полученные нами данные в опытах *in vitro* дают основание считать, что биотин непосредственно активирует включение серусодержащих аминокислот в процессе синтеза белка, возможно, выполняя функцию коэнзима фермента, катализирующего синтез белка.

В настоящее время нельзя считать окончательно решенным, является ли биотин стимулятором включения только серусодержащих аминокислот либо всех аминокислот, включение которых в белки при нормальной жизнедеятельности организма должно быть сопряжено между собою, обеспечивая постоянство аминокислотного состава белков органов и тканей.

В связи с полученными нами результатами представляется вероятным, что данные Мак-Леода и Лярди (3) по повышению активности

включения С¹⁴ в белки могут быть объяснены, независимо от активации биотином процесса фиксации углекислоты (по реакции Вуда и Веркмана и др.), стимулирующим действием биотина на включение аминокислот в белковую молекулу.

Институт биологической и медицинской химии
Академии медицинских наук СССР

Поступило
4 IX 1950

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ J. L. Stokes, A. Lassen and M. Guinness, *Journ. Biol. Chem.*, **167**, 613 (1947).
² C. M. Lyman, O. Moseley, S. Woods, B. Butler and F. Hale, *ibid.*, **167**, 177 (1947). ³ P. R. MacLeod and H. A. Lardy, *ibid.*, **179**, 733 (1948).