

БИОХИМИЯ

Р. В. ХЕСИН

**ОБМЕН ФОСФОРА МИТОХОНДРИЙ КЛЕТОК ПЕЧЕНИ КРЫС
ПРИ РЕГЕНЕРАЦИИ ПОСЛЕ ЧАСТИЧНОЙ ГЕПАТОЭКТОМИИ**

(Представлено академиком А. И. Опарином 2 XI 1950)

Вопрос о роли отдельных структурных элементов цитоплазмы клетки в процессах ее жизнедеятельности, в частности, в процессах синтеза белков, представляет большой интерес. Одним из способов исследования роли отдельных структур клетки в процессах образования белков может служить определение скорости обмена входящих в состав этих структур веществ при различных физиологических состояниях ткани. При этом особенно большой интерес представляет изучение обмена рибонуклеиновой кислоты (РНК), так как в настоящее время есть много оснований считать, что обмен РНК тесно связан с процессами синтеза белков. Поэтому по скорости обмена РНК, входящей в состав отдельных элементов цитоплазмы можно, очевидно, судить о степени участия изучаемых элементов в образовании белков.

Большие цитоплазматические гранулы — митохондрии — содержат основную массу ферментов клетки. Поэтому можно было предположить, что именно митохондрии являются органоидами внутриклеточного синтеза белков. Этот взгляд согласуется с воззрениями школы Опарина, согласно которым синтез белков происходит при участии ферментов, связанных с форменными элементами цитоплазмы ⁽¹⁾.

Данная работа представляет попытку проверить предположение о роли митохондрий в синтезе белков с помощью сравнения скорости обмена веществ (в первую очередь, РНК) митохондрий клеток печени нормальных крыс и крыс после частичной гепатоэктомии. Процесс обмена при регенерации после гепатоэктомии уже исследовался многими авторами ⁽²⁾ и др.), так как удаление большого участка ткани печени влечет за собой усиленный рост оставшихся долей, связанный, несомненно, с резко повышенным по сравнению с нормой образованием белков. При исследовании цельной ткани регенерирующей печени было показано, что процесс усиленного роста ее сопровождается весьма значительным увеличением скорости обмена и количества РНК ⁽³⁻⁵⁾ и др.). Задачей данной работы, в отличие от предыдущих исследований, является определение скорости обмена РНК и других веществ, входящих в состав отдельных структурных элементов цитоплазмы, в первую очередь, в состав митохондрий.

Изучение обмена проводилось с помощью радиоактивного фосфора. Анализировались РНК, фосфолипиды и так называемый «фосфопротеин» (ФП), т. е. белок, с которым связан фосфор, не отделяемый от белка горячей трихлоруксусной кислотой, удаляющей РНК. Митохондрии выделялись из гомогенатов описанным ранее способом ⁽⁶⁾, затем проводилось химическое фракционирование по Шнейдеру ⁽⁷⁾ и опре-

делялись радиоактивность и содержание общего фосфора фракций. В нижеследующих таблицах все данные приведены в виде активности (число импульсов за 1 мин.) 1 мг фосфора данной фракции в процентах от активности фосфата, введенного на 1 г живого веса крысы.

Для исследования обмена фосфора митохондрий после гепатоэктомии был выбран период между 20 и 30 часами после операции, так как в это время обмен фосфора РНК и других веществ печени происходит наиболее интенсивно. Определение скорости обмена вещества по включению в это вещество радиоактивного элемента дает правильный результат только в том случае, если оно проводится в течение периода увеличения удельной активности фракции, а не в период выхода из нее радиоактивного фосфора. На основании данных (табл. 1) по удельным активностям фосфора белковой фракции (РНК + ФП) можно считать наиболее благоприятным для исследования включения фосфора в РНК и ФП в норме период до 24 час., а при регенерации — до 5 час. после введения фосфата.

Таблица 1

Скорость включения P^{32} в „белковую“ фракцию (РНК + ФП).
Средние из 4 опытов

Нормальная печень			Оставшиеся доли печени через 24 часа после частичной гепатоэктомии		
Время после введения P^{32} , час.	Митохондрии	Центрифугат	Время после введения P^{32} , час.	Митохондрии	Центрифугат
8	10,7	18,0	1,5	21,6	25,7
24	21,5	27,9	5	42,1	33,5
48	29,6	38,5	8	79,5	70,6

В табл. 2 приведены данные по включению радиоактивного фосфора в РНК и ФП. Исследовались не только митохондрии, но и центрифугат после их осаждения, свойства которого отражают общий характер обмена веществ всех остальных элементов цитоплазмы (микроплазмы, гиалоплазма и т. д.). Данные по центрифугату позволяют сравнивать обмен митохондрий с обменом всей цитоплазмы в целом.

Таблица 2

Скорость включения P^{32} в РНК и ФП. Средние из 4 опытов

	Нормальная печень				Оставшиеся доли печени через 24 часа после частичной гепатоэктомии			
	Время после введения P^{32} , час.	Митохондрии	Центрифугат	Митохондрии Центрифугат	Время после введения P^{32} , час.	Митохондрии	Центрифугат	Митохондрии Центрифугат
Р РНК	5	5,9	10,1	0,59	3	20,4	24,1	0,85
	14	9,2	19,2	0,48	5	38,4	32,7	1,17
Р ФП	24	19,6	34,8	0,56				
	5	8,4	16,0	0,52				
	14	14,2	—	—	3	38,1	19,7	1,93
	24	18,1	24,6	0,74	5	54,4	31,9	1,70

Результаты, приведенные в табл. 2, показывают следующее. В норме обмен фосфора РНК и ФП митохондрий происходит медленнее, чем

обмен этих веществ в среднем во всей цитоплазме. При регенерации резко ускоряется обмен фосфора как РНК, так и ФП обеих фракций цитоплазмы. Однако скорость обмена фосфора РНК митохондрий увеличивается в значительно большей степени, чем средняя скорость обмена РНК всей цитоплазмы. Еще более заметно это ускорение обмена фосфора митохондрий при регенерации при анализе ФП: в норме фосфор ФП митохондрий обменивается значительно медленнее, чем фосфор ФП всей цитоплазмы, а при регенерации скорость обмена фосфора ФП митохондрий почти вдвое превышает скорость обмена этой фракции центрифугата (т. е. значительно превышает обмен всей цитоплазмы в целом). Интересно, что и в норме, и при регенерации фосфор ФП митохондрий обменивается заметно быстрее, чем фосфор РНК. При исследовании центрифугата это или не обнаруживается (при регенерации) или не особенно четко выражено (в норме).

Таблица 3

Скорость включения P^{32} в фосфолипиды. Средние из 5 опытов

Время по-сле вклю- чения P^{32} , час.	Нормальная печень		Оставшиеся доли печени через 24 часа после частичной гепатоэктомии				
	Митохон- дрии	Центри- фугат	Митохондрии Центрифугат	Время по-сле вклю- чения P^{32} , час.	Митохон- дрии	Центри- фугат	
5	44,2	66,9	0,66	1,5	35,8	36,6	0,98
8	64,0	94,7	0,68	3	76,1	78,5	0,97
14	61,7	66,9	0,92	5	77,6	75,1	1,03

Анализ скорости обмена фосфора фосфолипидов (табл. 3) также показывает, что при регенерации происходит усиление обмена веществ митохондрий опять же в большей степени, чем обмена всей цитоплазмы в целом. Однако обмен фосфолипидов повышен при регенерации по сравнению с нормой значительно слабее, чем это наблюдается для фосфора РНК и ФП. Это еще раз подчеркивает специфическое значение РНК для процессов синтеза белков. Резкое повышение скорости обмена ФП при регенерации (особенно в митохондриях) показывает, что и эта фракция фосфора тесно связана с процессами образования белков или отражает скорость их синтеза.

Полученные нами данные по обмену РНК хорошо согласуются с результатами Жене⁽⁸⁾, показавшего, что фосфор РНК больших цитоплазматических гранул обменивается в ткани печени взрослых крыс медленнее, а в тканях эмбриона мыши быстрее, чем фосфор РНК малых гранул и конечного центрифугата.

Интересно, что концентрация белкового фосфора (РНК + ФП) в митохондриях печени через сутки после удаления части ее заметно повышается по сравнению с митохондриями нормального органа. Об этом можно судить по отношению фосфора к азоту белков в митохондриях после удаления липоидов (табл. 4). Количество белкового фосфора (вероятно, РНК) повышается в митохондриях при регенерации печени значительно сильнее, чем количество фосфора в остальных элементах цитоплазмы.

Все приведенные данные показывают, что при регенерации, связанной с усиленным образованием белков, происходит весьма значительная интенсификация обмена фосфора РНК, ФП и в меньшей степени — фосфолипидов митохондрий, заметно превышающая усиление обмена

этих веществ всей цитоплазмы в целом. Полученные данные указывают на то, что митохондрии, видимо, играют весьма существенную роль в процессах, связанных с ростом и размножением клетки, т. е. в образовании структурных веществ, в первую очередь, в процессах синтеза белков. Надо, однако, отметить, что значительная скорость обмена фосфора центрифугата говорит об участии в процессах синтеза белков и других элементов цитоплазмы (микрозомы). Особенно отчетливо это видно на нормальной ткани, когда скорость обмена фосфора центрифугата значительно превышает скорость обмена фосфора митохондрий.

Таблица 4

Количество Р РНК и ФП на 1 мг азота белка митохондрии и центрифугата $\left(\frac{\text{мг Р} \times 100}{\text{мг N белка}} \right)$. Средние из 5 опытов

	Нормальная печень	Оставшиеся доли печени через 24 часа после частичной гепатэктомии	Регенерат. Норма
Митохондрии .	5,24	8,21	1,57
Центрифугат .	4,78	5,54	1,16
Митохондрии .	1,09	1,48	
Центрифугат			

В заключение надо подчеркнуть, что вывод о существенной роли митохондрий в процессах, связанных с ростом и размножением клеток, в процессах синтеза белков основан лишь на косвенных данных. Поэтому этот вывод является еще весьма предварительным и требует тщательной проверки с помощью разных методов.

Выражаю благодарность проф. С. Я. Капланскому за ряд ценных советов и указаний.

Институт биологической и медицинской химии
Академии медицинских наук СССР

Поступило
18 VII 1950

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. Л. Курсанов, Обратимое действие ферментов в живой растительной клетке, М.—Л., 1940. ² А. С. Коникова, В. Н. Орехович и др., ДАН, 65, 325 (1949). ³ А. М. Brues, M. M. Tracy and W. E. Sohn, Journ. Biol. Chem., 155, 619 (1944). ⁴ A. Bergstrand, N. A. Eliasson et al., Symp. Quant. Biol., 13, 22 (1948). ⁵ A. B. Novikoff and V. R. Potter, Journ. Biol. Chem., 173, 223 (1948). ⁶ Р. В. Хесин, ДАН, 73, 359 (1950). ⁷ W. C. Schneider, Journ. Biol. Chem., 161, 293 (1945). ⁸ R. Jeener and D. Szafarz, Arch. Biochem., 26, 54 (1950).