

З. К. ЛЕУТСКАЯ, Е. Н. ЛЮБОВИЧ, К. М. ЛЕУТСКИЙ

**СОДЕРЖАНИЕ ФРАКЦИЙ ВИТАМИНА А, ХОЛЕСТЕРИНА
И ФОСФОЛИПИДОВ В МЕМБРАНЕ ЭНДОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО
РЕТИКУЛУМА ПЕЧЕНИ ЦЫПЛЯТ**

(Представлено академиком К. И. Скрябиным 30 III 1970)

Наиболее ранней моделью организации клеточных мембран является модель Девсона и Даниэля (¹) в модификации Робертсона (²), из которой следует, что мембрана состоит из непрерывных бимолекулярных пластин липидов с протеннами в значительной части β -конфигурации на их полярной поверхности. Белковолипидное воздействие является электростатическим.

По другой модели, белок простирается через всю толщу мембраны и составляет основной каркас мембранной структуры (³).

Третья модель основана на электронномикроскопических данных о том, что мембрана состоит из отдельных субъединиц (^{4, 5}). Эта модель отрицает первую, совместима со второй и не исключает белковолипидного взаимодействия.

В лецитин-холестериновых субъединицах мембраны периодически расположены глобулярные элементы (^{6, 7}).

Важной функцией мембран является избирательная проницаемость и активный транспорт, продвижение молекул против градиента концентрации. Как мы уже отмечали, мембраны состоят из фосфолипидов и повторяющихся групп белковых макромолекул, а именно белковый состав, видимо, определяет липидное содержание, а последнее влияет на конформацию белковой молекулы.

Удаление липида из мембран меняет ее проницаемость. Трудность изучения внутреннего строения мембран побуждает исследователей строить их модели и изучать функции таких моделей. Оказалось, что в лецитин-холестериновом монослое добавленный ретинол был единственным веществом из всех исследованных, которое способно было вызвать и большое повышение давления при постоянной поверхности, и большое увеличение поверхности при постоянном давлении. Ретинол, таким образом, является сильным поверхностноактивным агентом (⁸). Эстерификация ретинола сильно снижала его поверхностноактивные свойства. Именно ретинол, в отличие от многих родственных соединений, может очень активно взаимодействовать с природными и искусственными липидными оболочками (⁹). Найдено, что избыток витамина А сильно взаимодействует с липопротеидными мембранами клеток (¹⁰).

Холестерин является компонентом всех мембран, в том числе, видимо, и у всех высших организмов (¹¹). В субъединицах мембран различных тканей содержание его колеблется (¹²⁻¹⁴). Содержание холестерина составляет 30—40% от общего количества липидов мембран животных клеток. Здесь он, по-видимому, необходим как основание структуры и стабильности мембран.

Витамин А сильно изменяет содержание холестерина, связанного с отдельными белковыми фракциями сыворотки крови, и сам связан в разных количествах с этими же белковыми фракциями.

Все это дает основание допустить, что какой-то части витамина А принадлежит структурная роль. В мембранах он может занимать промежуточное положение между белками и холестерином, лецитин-холестеринового слоя, связываясь с ними через COOH- , OH- и метильные группы (¹⁵).

Есть основание допускать, что одной из физиологических функций витамина А является стабилизация мембран клеток путем действия в качестве переносчика между липидом и белком, а его связь с этими молекулярными формами не вызывает сейчас сомнений. До сих пор мы не имеем фактически прямого определения наличия витамина А в мембранах, кроме косвенных единичных исследований.

Мы сделали попытку определить витамин А в мембранах эндоплазматического ретикулума, освободив их от рибосом.

Исследование проводили на печени цыплят. Для каждого определения брали 4 животных, что давало от 90 до 110 г печени. До анализа каждый цыпленок получал шесть раз по 50 000 м.е. витамина А для создания нужного резерва этого витамина.

Все количество печени гомогенизировали в 250 мл трис-буфера (0,01 М, рН 7,5), содержащего 0,01 мол. KCl, 0,001 мол. Mg-ацетата и 0,25 мол. сахарозы. Гомогенат центрифугировали 15 мин. при 24 000g для удаления неразрушенных клеток, ядер, митохондрий. Затем концентрацию Mg^{2+} в надосадочной жидкости доводили до 0,006 М. Микросомы осаждали центрифугированием при 65 000g в течение 30 мин.

Осадок микросом ресуспендировали в трис-буфере, содержащем K^+ и Mg^{2+} и суспензию осветляли центрифугированием при 16 000g в течение 10 мин., а микросомы осаждали центрифугированием в течение 60 мин. при 150 000g. Для получения мембран фракцию микросом обрабатывали раствором 0,5% дезоксихолата и 1% твина 40 и центрифугировали в течение 60 мин. при 150 000g для осаждения рибосом. При этом в надосадочной жидкости оставались мембраны эндоплазматического ретикулума, в которых определяли фракции витамина А по (¹⁶), холестерина по (¹⁷) и фосфолипидов. Липиды экстрагировали по Фолчу (¹⁸). Фосфолипиды разделяли на фракции методом тонкослойной хроматографии (¹⁹), с последующим проявлением их (²⁰) и элюции (²¹). Фосфор определяли по Фиске и Субароу (²²). Содержание фракций витамина А, холестерина и фосфолипидов в мембранах эндоплазматического ретикулума в печени цыплят оказалось следующим (витамин А — $\mu\text{г}$ на 100 г сырой ткани; холестерин — $\mu\text{мол}$. на 100 г сырой ткани; фосфолипиды — $\mu\text{мол}$. Р на 100 г сырой ткани).

Витамин А		Фосфолипиды	
Спирт	528,0	Лизофосфатидилхолин	9,3
Эфир	7,0	Фосфатидилсерин	15,4
Холестерин (липидный)		Сфингомелин	19,3
Общий	4,43	Фосфатидилхолин	56,0
Свободный	7,35	Фосфатидилэтаноламин	27,0
Эфир	3,08	Фосфатидные кислоты	47,0

Содержание витамина А в мембранах не является величиной стабильной и прежде всего, изменяется в зависимости от его поступления в организм и участия в обмене. Если судить по процессам всасывания витамина А в клетках слизистой кишечника, то он, по всей вероятности, должен поступать в мембрану в форме спирта. Его состояние в клетке, естественно, требует изучения.

Лаборатория гельминтологии
Академии наук СССР
Москва

Поступило
30 III 1970

Черновицкий государственный
университет

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ H. A. Davson, J. F. Daniel, *J. Cell. and Comp. Physiol.*, 5, 495 (1935). ² J. D. Robertson, *Prog. Biophys. Chem.*, 50, 345 (1960). ³ A. A. Bension, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 43, 265 (1966). ⁴ F. S. Spotrend, *J. Ultrastruct. Res.*, 9, 561 (1963). ⁵ D. E. Green, J. F. Pertne, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 55, 1295 (1966). ⁶ A. D. Bangham, R. W. Horne, *J. Mol. Biol.*, 8, 660 (1946). ⁷ J. A. Lucy, A. M. Glauert, *J. Mol. Biol.*, 8, 727 (1964). ⁸ A. D. Banham, J. F. Dingle, L. A. Lucy, *J. Biochem.*, 90, 133 (1964). ⁹ J. A. Lucy, *J. Theoret. Biol.*, 7, 360 (1964); *Metabolic Control Mechanisms in Animal Cells*, № 13, 93 (1964). ¹⁰ A. M. Gluert, M. R. Danvel et al., *J. Cell. Biol.*, 17, 411 (1963). ¹¹ P. P. Smith, *Intern. Congr. for Microbiology*, 8th Montreal, 1962, Toronto, 1963, p. 518. ¹² G. V. Marinetti, J. Erbland, E. Stotz, *J. Biol. Chem.*, 233, 562 (1958). ¹³ L. Astworth, C. Green, *Science*, 151, 210 (1966). ¹⁴ W. Norn, L. Autilio, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 122, 77 (1965). ¹⁵ K. M. Леутский, Е. Н. Любович, *Укр. Биохим. журн.*, 5, 742 (1965). ¹⁶ J. Glover, T. W. Goodwin, B. S. Morton, *Biochem. J.*, 43, 106 (1948). ¹⁷ C. Miller, *Zs. Med. Labortechn.*, 7, № 6, 332 (1966). ¹⁸ J. Folch, I. M. Less, M. H. Stanley, *J. Biol. Chem.*, 226, 497 (1957). ¹⁹ W. D. Skidmore, C. Entenman, *J. Lipid Res.*, 3, 471 (1962). ²⁰ G. C. Barret, *Nature*, 194, 1171 (1962). ²¹ L. S. De Bohner, E. F. Soto, T. De Conan, *J. Chromatogr.*, 17, 513 (1965). ²² S. Fiske, I. Subbarow, *J. Biol. Chem.*, 66, 375 (1925).