

С. А. МОРЕНКОВА, Г.-Ю. ХАН (ГДР) *, Н. А. РАБЕН

ДЕЙСТВИЕ ГЛЮКОЗЫ НА ВКЛЮЧЕНИЕ C¹⁴-ТИРОЗИНА В А- И В-ЦЕПИ ИНСУЛИНА

(Представлено академиком В. В. Париным 15 IV 1971)

В ряде исследований показано, что некоторые сахара, в частности глюкоза и маноза, специфически повышают включение меченых аминокислот в инсулин (¹⁻³). Однако серией предыдущих исследований было выявлено, что факторы, влияющие на синтез инсулина, оказывают неоднозначный эффект на образование А- и В-цепей (⁴⁻⁶). Так, при действии низких температур на целостный организм животного резко активировался синтез В-цепи, в то время как скорость синтеза А-цепи была сходна с таковой интактных животных; метилтиоурацил повышал включение S³⁵-цистеина в А-цепь и не менял его в цепь В.

В настоящей работе нами исследовалось действие глюкозы на включение C¹⁴-тирозина в А- и В-цепи инсулина путем раздельного определения величин их удельных активностей. Мы пытались выяснить, ограничивается ли воздействие глюкозы на биосинтез молекулы инсулина только изменением валового количества этого

белка, или же глюкоза влияет на промежуточные процессы его биосинтеза, т. е. на синтез предшественников инсулина. К последнему заключению можно было бы прийти в случае, если удельная активность А- и В-цепей под действием глюкозы изменялась бы по-разному.

Работа проведена на ткани поджелудочной железы крыс. Капсулу ткани поджелудочной железы весом в 3 г инкубировали в 15 мл бикарбонатного буфера Рингера — Кребса pH 7,4, содержащем 3 мг глюкозы на 1 мл в присутствии 1-C¹⁴-тирозина (удельная активность 60 мС/мг) в течение 1 часа при медленном равномерном покачивании. Меченую аминокислоту добавляли из расчета 0,33 мС на 1 г ткани. Контролем служили пробы, инкубированные в аналогичных условиях, без глюкозы.

По окончании инкубации ткань отмывали трижды от свободной радиоактивной аминокислоты бикарбонатным буфером Рингера — Кребса (по 40 мл), содержащим 0,1% немеченного тирозина.

Удалив последнюю порцию буфера, ткань замораживали сухим льдом и выделяли инсулин экстракцией спиртом, подкисленным конц. H₂SO₄ до pH 2,0 (⁷), с последующей трехкратной перекристаллизацией с помощью «носителя» (нерадиоактивный кристаллический инсулин) при изoeлектрической точке инсулина (⁸). «Носитель» добавляли из расчета 1 мг нерадиоактивного кристаллического инсулина на 1 мг белка кислого экстракта.

Таблица 1

Изменение величин удельных активностей А- и В-цепей инсулина при включении C¹⁴-тирозина под действием глюкозы (имп·мин⁻¹·μмол⁻¹, тирозинового остатка)

Цепи	Без глюкозы	С глюкозой	Изменение, %
А	112; 220	198; 357	+76; 62
В	278; 432	357; 540	+20; 25
А/В	0,40; 0,51	0,55; 0,66	

* Г.-Ю. Хан — сотрудник Центрального института Диабета «Герхард Катш», Карлсбург.

Очищенный инсулин окисляли надмуравьиной кислотой ⁽⁹⁾ и разделяли с помощью электрофореза на бумаге на А-, В-цепи ⁽¹⁰⁾. Локализацию цепей определяли окрашиванием краевой полосы электрофореграммы диазотированной сульфаниловой кислотой ⁽¹¹⁾, цепи элюировали 0,01 N уксусной кислотой, отсчитывали радиоактивность на 4л-газопроточном счетчике и определяли количественное содержание каждой цепи ⁽¹²⁾. Величины радиоактивности выражали в $\text{имп} \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \mu\text{мол}^{-1}$ тирозинового остатка.

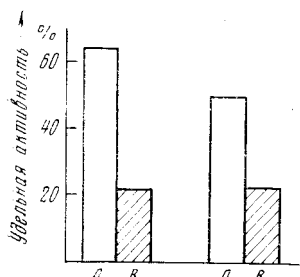


Рис. 1. Изменение величин удельных активностей А- и В-цепей, выделенных окислительным сульфитоллизом (слева) и окислением надмуравьиной кислотой

В параллельных пробах очищенный инсулин сульфировали и разделяли на А- и В-цепи на колонке ($1,0 \times 4,5$ см) с Дауэксом 50×2 ⁽¹³⁾ с последующим освобождением цепей от мочевины на колонке (2×20 см) с Сефадексом Г-50. Растворы цепей лиофилизировали и также определяли их радиоактивность и количество.

Полученные данные показали, что удельная активность тирозиновых остатков А-цепи значительно отличается от таковой В-цепи. Глюкоза повышает удельную активность тирозиновых остатков как А-, так и В-цепей инсулина. Однако, несмотря на то, что влияние глюкозы однонаправлено, удельная активность тирозиновых остатков А-цепи повышается на 62—76%, а В-цепи — только на 20—25% (табл. 1).

Сходные результаты были получены при разделении А- и В-цепей инсулина двумя методами: сульфитоллизом инсулина с последующей ионообменной хроматографией и окислением его надмуравьиной кислотой с последующим электрофорезом на бумаге (рис. 1).

Обнаруженная асинхронная утилизация меченых предшественников — аминокислот А- и В-цепями инсулина в процессе его биосинтеза наблюдалась ранее как в интактном организме животного, так и при измененном его функциональном состоянии ⁽⁶⁾.

Из приведенного экспериментального материала следует, что глюкоза оказывает влияние на синтез полипептидных предшественников молекулы инсулина — А- и В-цепей, которое проявилось в разной степени интенсификации их образования.

Институт хирургия им. А. В. Вишневского
Академии медицинских наук СССР
Москва

Поступило
10 IV 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ L. G. Caro, J. Cell. Biol., **20**, 473 (1964).
- ² S. L. Howell, D. G. Parry, K. W. Taylor, Nature, **208**, 487 (1965).
- ³ G. E. Morris, A. Korner, Biochim. et biophys. acta, **208**, 404 (1970).
- ⁴ С. А. Моренкова, А. С. Коникова, М. Г. Крицман, ДАН, **163**, 503 (1965).
- ⁵ С. А. Моренкова, Вопр. мед. хим., **7**, 204 (1966).
- ⁶ А. С. Коникова, С. А. Моренкова, М. В. Kritsman, Biochim. et biophys. acta, **168**, 252 (1968).
- ⁷ C. W. Pettinga, Biochem. Prep., **6**, 28 (1958).
- ⁸ M. Vanghan, C. B. Anfinsen, J. Biol. Chem., **211**, 367 (1954).
- ⁹ F. Sanger, J. Biol. Chem., **44**, 126 (1949).
- ¹⁰ G. Volker, E. Schumann, V. Holt, Biochem. Zs., **335**, 382 (1962).
- ¹¹ H. Brown, F. Sanger, P. Kitai, Biochem. J., **60**, 556 (1955).
- ¹² M. L. Anson, J. Gen. Physiol., **22**, 79 (1938).
- ¹³ G. L. Bailly, Biochem. J., **67**, 21 (1957).