

Академик АН УзССР Я. Х. ТУРАКУЛОВ, А. К. МИРАХМЕДОВ,
П. ПАТХИДИНОВ

ВКЛЮЧЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ В БЕЛКИ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ РАЗЛИЧНОМ СОДЕРЖАНИИ ТИРЕОИДНОГО ГОРМОНА В ОРГАНИЗМЕ

Митохондрии являются автономными самовоспроизводящимися органоидами клетки, способными самостоятельно синтезировать белки. Было показано (¹⁻³), что на митохондриальной ДНК может синтезироваться ДНК, подобная РНК, соответствующей информационной РНК. Рядом исследователей установлено, что митохондриальная ДНК программирует синтез нерастворимых структурных белков митохондрий (⁴). Известно, что гормоны участвуют в регуляции биосинтеза нуклеиновых кислот и белков. В этой связи представляет интерес изучить роль тиреоидных гормонов (тироксина T_4) в регуляции биосинтеза нерастворимых белков митохондрий.

В настоящем сообщении описываются результаты исследований влияния T_4 *in vivo* на включение C^{14} -лейцина и C^{14} -лизина в белки митохондрий печени нормальных, тиреоидэктомированных, гипертиреоидных и тиреотоксических крыс. Гипертиреоз создавали путем введения 20γ T_4 на 100 г веса через каждые 4 дня в течение 3 недель, тиреотоксикоз вызывали путем введения 4 мг T_4 на 100 г веса в течение 6—8 дней. Тиреоидэктомированных крыс забивали через 30—50 дней после операции.

В опытах использовали белых крыс-самцов (нелинейных) весом 150—160 г. Митохондрии выделяли из печени путем дифференциального центрифугирования гомогенатов ткани, приготовленных на 0,25 *M* сахарозе. Осадок митохондрий отмывали несколько раз. Чистоту митохондриальных фракций контролировали электронмикроскопически (⁵). Количество белка в митохондриях определяли по Лоури и др. (⁶). Инкубацию с T^{14} -лейцином и C^{14} -лизином проводили при 37° в течение 60 мин. при постоянном встряхивании в среде, содержащей: 200 ммол. сахарозы, 30 ммол. KCl, 25 ммол. трис-HCl pH 7,4; 10 ммол. KH_2PO_4 , 10 ммол. $MgCl_2$, 1 ммоль ЭДТА, 10 ммол. сукцината, 1 ммоль АТФ, 4 ммоль фосфоэнолпирувата, 50 μ г пируваткиназы, 2 мг/мл смеси немеченных аминокислот (без лейцина и лизина), 0,125 μ C C^{14} -лейцина (125 мС/ммол), 0,125 μ C C^{14} -лизина (120 мС/ммол) и митохондрии (2—4 мг белка). Объем инкубационной среды составлял 1 мл. Реакцию останавливали добавлением холодной 10% трихлоруксусной кислоты (ТХУК). Осадок отмывали 4 раза холодной 5% ТХУК, прогревали 15 мин. при 100° с 5% ТХУК, растворяли в 0,4 *N* NaOH, переосаждали 20% ТХУК и промывали смесью спирт: эфир (3:1) несколько раз. Затем осадок растворяли в муравьиной кислоте и подсчитывали радиоактивность в пробах на торцовом счетчике БФЛ-25. Включение C^{14} -лейцина и C^{14} -лизина в белок митохондрий печени выражали в имп/мин на 1 мг белка. В параллельных опытах, после инкубации, митохондрии осаждали центрифугированием, суспендировали в 0,25 *M* сахарозе и использовали для выделения структурного белка (^{7, 8}).

Данные по включению C^{14} -лейцина и C^{14} -лизина в белки митохондрий печени представлены в табл. 1.

Из данных табл. 1 видно, что содержание общего белка митохондрий увеличивается на 29% в случае гипертиреоза и значительно снижается в

Включение C^{14} -лейцина и C^{14} -лизина в белки митохондрий печени крыс

Варианты	Число опытов	Мг белка на 1 г печени		Активность, имп/мин на 1 мг белка			
				общий белок		структурный белок	
		$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%
Норма	8	10,92 $\pm$ 0,47	100,0	349 $\pm$ 2,00	100,0	194 $\pm$ 3,40	100,0
Тиреотоксикоз	8	7,5 $\pm$ 0,26	64,5	197 $\pm$ 1,80	56,4	60 $\pm$ 1,45	30,9
Гипертиреоз	8	14,10 $\pm$ 0,09	129,0	487 $\pm$ 1,80	139,0	241 $\pm$ 1,76	124,0
Тиреоидэктомия	8	5,60 $\pm$ 0,07	51,3	247 $\pm$ 1,70	70,7	99 $\pm$ 1,25	51,0

митохондриях печени тиреотоксических и, особенно, тиреоидэктомированных крыс (до 64,5 и 51,3% соответственно). Изменение содержания митохондриального белка при различных уровнях содержания тиреоидного гормона в организме сопровождается изменением скорости включения меченых аминокислот в белки митохондрий. Включение C^{14} -лейцина и C^{14} -лизина в общий митохондриальный белок при тиреотоксикозе резко уменьшается и составляет всего 56,4% от нормы. Включение в структурный белок падает еще больше и доходит до 30,9% по сравнению с нормой. У гипертиреоидных крыс включение в общий белок повышается на 39%, а в структурный белок — на 24%. При тиреоидэктомии наблюдается уменьшение включения аминокислот в суммарный белок до 70,7%, а в структурный белок — до 51%.

Изолированные митохондрии печени, выделенные нами методом дифференциального центрифугирования, относительно мало загрязнены другими клеточными органоидами. Субмикроскопические изменения митохондрий клеток печени отличаются по форме и плотности матрикса при различном уровне тиреоидных гормонов в организме^(9,10).

Наши данные об изменении содержания общего белка и интенсивности включения смеси аминокислот в общий митохондриальный белок аналогичны данным, полученным ранее^(11,12). Однако в литературе нет сведений о действии тиреоидных гормонов на биосинтез структурных белков митохондрий. Обнаруженные нами изменения интенсивности включения C^{14} -лейцина и C^{14} -лизина в структурные белки в различных тиреоидных состояниях указывают, что изменения интенсивности включения меченых аминокислот в общий белок митохондрий⁽¹³⁻¹⁵⁾ обусловлены в основном изменением синтеза структурных белков под действием гормона щитовидной железы.

Институт биохимии
Академии наук УзССР
п.э. Улутбек Ташкентск. обл.

Поступило
5 V 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Л. С. Рахимбекова, В. С. Гайцхоки, Мол. биол., 3, в. 3, 315 (1969).
- ² Ж. Г. Шмерлинг, Н. И. Борисова, Я. М. Розовский, Мол. биол., 4, в. 1 (1970).
- ³ Т. Б. Казакова, М. М. Гачава, К. А. Маркосян, Биохимия, 34, в. 5 (1969).
- ⁴ Д. Рудин, Д. Уилки, Биосинтез митохондрий, М., 1970.
- ⁵ Я. Х. Туракулов, А. К. Мирахмедов и др., Биохимия, 35, в. 2, 349 (1970).
- ⁶ O. H. Lowry, N. I. Rosebrough et al., J. Biol. Chem., 193, 265 (1951).
- ⁷ R. S. Criddle, R. M. Bock et al., Biochemistry, 1, 827 (1962).
- ⁸ D. S. Beattie, R. E. Basford, S. B. Koritz, Biochemistry, 5, 3, 926 (1966).
- ⁹ Я. Х. Туракулов, А. К. Мирахмедов, Д. Х. Хамидов, Узб. биол. журн., 3, 3 (1968).
- ¹⁰ Я. Х. Туракулов, Д. Х. Хамидов, А. К. Мирахмедов, Электронномикроскопическое исследование печени при различных уровнях тиреоидного гормона. Матер. Всесоюз. конфер. электронномикроскопических исследований клеток и тканей, Л., 1968, стр. 85.
- ¹¹ D. B. Roodyn, K. B. Freeman, I. R. Tata, Biochem. J., 94, 628 (1965).
- ¹² Т. Б. Казакова, К. А. Маркосян, ДАН, 168, 697 (1966).
- ¹³ I. R. Bronk, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 50, 524 (1963).
- ¹⁴ I. Buchanan, D. F. Tapley, Endocrinology, 79, 1, 81 (1966).
- ¹⁵ I. Buchanan, M. P. Primack, D. F. Tapley, Biochim. et biophys. acta, 222, 2, 536 (1970).