

УДК 577.150.8+612.015.1

БИОХИМИЯ

Р. И. САЛГАНИК, Н. А. СОЛОВЬЕВА, В. Ф. ДРЕВИЧ

ИНДУКЦИЯ ФЕРМЕНТОВ, ПРЕВРАЩАЮЩИХ ГАЛАКТОЗУ В ГЛЮКОЗУ В ПЕЧЕНИ ЖИВОТНЫХ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ГАЛАКТОЗЫ

(Представлено академиком В. А. Энгельгардтом 14 VIII 1972)

Известно, что в клетках *Escherichia coli* при переносе их на питательную среду, содержащую галактозу, происходит индукция ферментов, катализирующих превращение галактозы в глюкозу (¹, ²). Такими ферментами являются галактокиназа (КФ 2. 7. 1. 6.), галактозо-1-фосфатуридил-трансфераза (КФ 2. 7. 7. 10) и уридиндифосфогалактозо-4-эпимераза (КФ 5. 1. 3. 2), которые в дальнейшем будут именоваться киназа, трансфераза и эпимераза соответственно. Ниже приведены реакции, которые катализируют эти ферменты: 1) галактоза + АТФ $\xrightarrow{\text{киназа}}$ галактозо-1-фосфат + АДФ; 2) галактозо-1-фосфат + УДФ-глюкоза $\xrightleftharpoons[\text{эпимераза}]{\text{трансфераза}}$ глюкозо-1-фосфат + УДФ-галактоза; 3) УДФ-галактоза $\xrightleftharpoons{\text{эпимераза}}$ УДФ-глюкоза.

Имеется ряд данных, свидетельствующих о том, что структурные гены, программирующие эти ферменты, составляют у *E. coli* один оперон. Так, под действием индукторов (галактозы, фукозы) синтез всех этих ферментов усиливается одновременно; также координированно происходит их репрессия (¹, ³). В ходе анализа конститутивных мутантов *E. coli* установлено наличие гена-регулятора и гена-оператора такого галактозного оперона.

Известно, что в тканях животных имеются аналогичные ферменты, обеспечивающие превращение галактозы в глюкозу.

Предпринятые нами исследования имели своей целью выяснить, происходит ли под действием субстрата индукция ферментов, превращающих галактозу в печени крыс, и каковы принципы регуляции такой функционально связанной последовательности генов у животных.

Опыты проводили на 1,5-месячных самцах крыс линии Вистар (веса тела 70—80 г). Животных опытной группы помещали на рацион, богатый галактозой, который готовили путем добавления до 40% галактозы в стандартный лабораторный корм (⁴). Животные контрольной группы получали стандартный рацион без галактозы. Крыс забивали декапитацией, печень извлекали, отмывали 0,15 М NaCl и с помощью гомогенизатора Поттера готовили 10% водный гомогенат, который центрифугировали при 40 000 g 60 мин. В надосадочной жидкости определяли активность киназы и трансферазы по Лельюару и сотр. (⁵) и эпимеразы по методике Максвелла (⁶). Концентрацию белка в пробах определяли по Лоури и сотр. (⁷).

Об интенсивности синтеза РНК в печени животных судили по включению С¹⁴-аденина (удельная активность 18 мС на 1 мг), который вводили крысам внутрибрюшинно по 12,5 мС на 100 г веса тела. В ряде опытов крысам внутрибрюшинно вводили актиномицин D (25 мкг на 100 г веса) или ауратин по 50 мкг на 100 г веса тела. РНК из печени крыс выделяли по Шмидту и Тангаузеру (⁸).

Как видно из рис. 1, через трое суток после начала скармливания рациона, богатого галактозой, активность киназы в печени крыс возраста-

ет более чем в два раза и к 5 дню она падает ниже исходного уровня. К 7 дню наблюдается повышение активности трансферазы, а к 9 дню активность этого фермента резко снижается. Таким образом, эти два ферментных звена, последовательно участвующих в превращении галактозы, активируются также последовательно. Что касается эпимеразы, то и ее

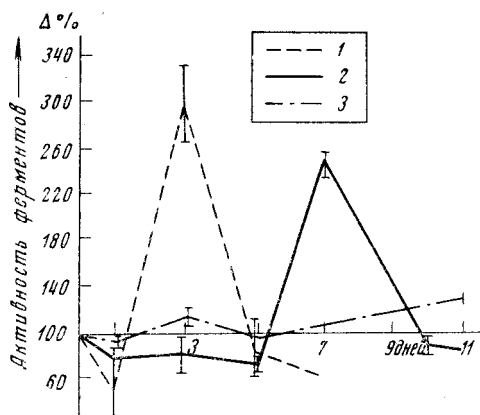


Рис. 1. Изменения активности ферментов «галактозной последовательности» в печени крыс при кормлении рационом, богатым галактозой в отличие от стандартного рациона. 1 — киназа, 2 — трансфераза, 3 — эпимераза

активация также имеет место, хотя она менее выражена, чем активация первых двух ферментов.

Активация этих ферментов находится под влиянием сезонных факторов. Так, в летне-осенний период (август — сентябрь) дача галактозы активирует трансферазу в течение 1—3 дней, а в зимне-весенний период — только на 7—8 сутки.

Какова природа последовательной активации под действием субстрата ферментов, превращающих галактозу?

Оказалось, что введение животным галактозы усиливает в их печени синтез РНК (табл. 1). В этих опытах изучали активность киназы и трансферазы, которые также возрастали при даче галактозы (табл. 2). Если животным предварительно вводили актиномицин D или его аналог — аурафин, то активация киназы и трансферазы подавлялась. Полученные данные позволяют предположить, что под действием галактозы в печени животных происходит индукция ферментов, превращающих галактозу в глюкозу, подобно тому, как это имеет место в клетках *E. coli*. Однако, если у бактерий на галактозной среде активность этих трех ферментов увеличивается одновременно, то у животных активация их происходит последовательно. У *E. coli* гены, программирующие эти ферменты, составляют один оперон (¹, ³). Очевидно, что у животных эти гены не входят в состав одного оперона, а регулируются независимо, образуя, вероятно, связанные метаболитами временные констелляции генов.

Из рис. 1 видно, что несмотря на продолжающуюся дачу галактозы индукция киназы, трансферазы и эпимеразы сменяется подавлением их.

По мере нарушения индукции ферментов, превращающих галактозу в глюкозу, при продолжающемся введении с пищей галактозы, у животных развиваются явления галактоземии: катаракты, поражения печени, задержка роста. Аналогичные симптомы, как известно, развиваются при

Таблица 1

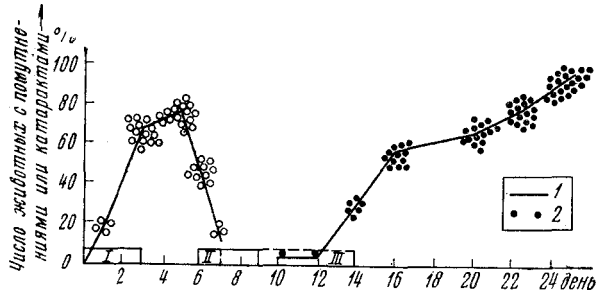
Влияние богатого галактозой рациона на синтез РНК в печени крыс

№ № п. п.	Включение аденина-С ¹⁴ в РНК (имп/мин на 1 мг)	
	богатый глюкозой рацион	богатый галактозой рацион
1	1410	2542
2	1222	2023
3	1015	1700
4	1400	2516

Примечание. Опыты проводили в летний период, когда активация ферментов, превращающих галактозу, происходит уже в течение первых суток дачи богатого галактозой рациона.

наследственной галактоземии у детей (⁹). Образование катаракт при галактоземии связывают с накоплением галактозо-1-фосфата в хрусталике. На рис. 2 показана динамика развития катаракт у крыс на фоне индукции и репрессии ферментов «галактозной последовательности». Активация

Рис. 2. Динамика развития катаракт у крыс, получавших богатый галактозой рацион. 1 — помутнения хрусталика, 2 — катаракта. Периоды активации ферментов: I — киназа, II — трансфераза, III — эпимераза. Опыт проводили на 20 крысах



киназы (и, очевидно, накопление галактозо-1-фосфата) сопровождается быстрым развитием помутнений хрусталика. Активация трансферазы (и, очевидно, усиление превращения галактозо-1-фосфата в УДФ-галактозу) ведет к исчезновению помутнений, а падение активности трансфера-

Таблица 2

Влияние богатого галактозой рациона и актиномицина D на активность галактокиназы и галактозо-1-фосфат-уридилтрансферазы

Условия опытов	Активность галактокиназы (μ галактозо-1-фосфата за 30 мин. на 1 мг белка)	Активность трансферазы (μ глюкозо-6 фосфата в 1 час на 1 мг белка)
Стандартный рацион	0,29 \pm 0,05	0,76 \pm 0,50
Богатый галактозой рацион	0,622 \pm 0,042	10,42 \pm 0,78
Богатый галактозой рацион + актиномицин D*	0,254 \pm 0,023	6,76 \pm 0,72

* В опытах по определению активности трансферазы животным вводили не актиномицин D, а ауратин.

зы ведет к стойкому развитию катаракт у всех животных. Не исключено, что некоторые наследственные заболевания и иные патологические состояния возникают в результате длительного действия индукторов.

Институт цитологии и гепетики
Сибирского отделения Академии наук СССР
Новосибирск

Поступило
7 VIII 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ H. M. Kalckar, K. Kurahashi, E. Jordan, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 45, 1776 (1959). ² C. Kurahashi, Science, 125, 114 (1957). ³ G. Buttin, Cold Spring Harbour Symp. on Quant. Biol., 26, 213 (1961). ⁴ Н. В. Козляков, Г. М. Ерастов и др., Руководство по кормлению лабораторных животных, М., 1968. ⁵ L. E. Leloir, R. E. Frusso, In: Methods in Enzymology, 1, N. Y., 1955, p. 290. ⁶ E. S. Maxwell, J. Biol. Chem., 229, 139 (1957). ⁷ O. H. Lowry, N. J. Rosenbrough et al., Biol. Chem., 193, 265 (1961). ⁸ G. Schmidt, S. J. Tannhauser, J. Biol. Chem., 161, 83 (1945). ⁹ D. Garrel, Am. J. Dis. Childr., 104, 401 (1962).