

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<sup>(1, 2)</sup>. Такими ферментами являются галактокиназа (КФ 2. 7. 1. 6.), галактозо-1-фосфатуридилтрансфераза (КФ 2. 7. 7. 10) и уридинифосфогалактозо-4-эпимераза (КФ 5. 1. 3. 2), которые в дальнейшем будут называться 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  $\xrightleftharpoons[\text{трансфераза}]{\text{киназа}}$  глюкозо-1-фосфат + УДФ-галактоза; 3) УДФ-галактоза  $\xrightleftharpoons[\text{эпимераза}]{\text{киназа}}$  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<sup>(1, 3)</sup>. 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 связанный последовательности генов у животных.

Опыты проводили на 1,5-месячных самцах крыс линии Вистар (вес тела 70—80 г). Животных опытной группы помещали на рацион, богатый галактозой, который готовили путем добавления до 40% галактозы в стандартный лабораторный корм<sup>(4)</sup>. Животные контрольной группы получали стандартный рацион без галактозы. Крыс забивали декапитацией, печень извлекали, отмывали 0,15 M 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.<sup>(5)</sup> и эпимеразы по методике Максвелла<sup>(6)</sup>. Концентрацию белка в пробах определяли по Лоури и сотр.<sup>(7)</sup>.

Об интенсивности синтеза РНК в печени животных судили по включению C<sup>14</sup>-аденина (удельная активность 18 μC на 1 мг), который вводили крысам внутривенно по 12,5 μC на 100 г веса тела. В ряде опытов крысам внутривенно вводили актиномицин D (25 μg на 100 г веса) или ауратин по 50 μg на 100 г веса тела. РНК из печени крыс выделяли по Шмидту и Танггаузеру<sup>(8)</sup>.

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

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

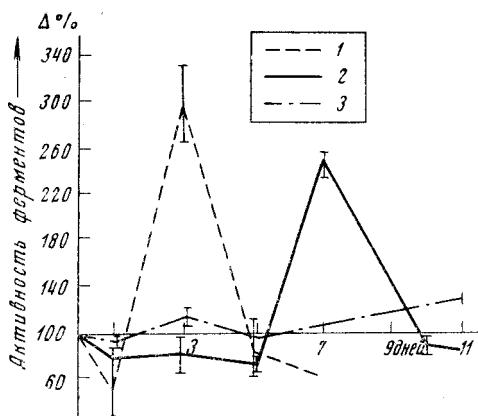


Рис. 1. Изменения активности ферментов «галактозной последовательности» в печени крыс при кормлении рациона, богатым галактозой в отличие от стандартного рациона. 1 — киназа, 2 — трансфераза, 3 — эпимераза

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 возрастили при даче галактозы (табл. 2). Если животным предварительно вводили актиномицин D или его аналог — ауратин, 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 (<sup>1, 2</sup>). 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: катаркты, поражения печени, задержка роста. Аналогичные симптомы, как известно, развиваются при

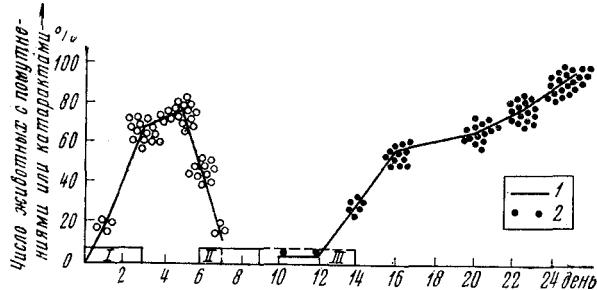
Таблица 1  
Влияние богатого галактозой рациона на синтез РНК в печени крыс

№ №	Включение аденина-С <sup>14</sup> 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 (<sup>9</sup>). 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 трансферазы

Таблица 2

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

Условия опытов	Активность талактоиназы (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 ± 0,05	0,76 ± 0,50
Богатый галактозой рацион	0,622 ± 0,042	10,42 ± 0,78
Богатый галактозой рацион + актиномицин D *	0,254 ± 0,023	6,76 ± 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 генетики  
Сибирского отделения Академии наук СССР  
Новосибирск

Поступило  
7 VIII 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> H. M. Kalckar, K. Kurahashi, E. Jordan, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., **45**, 1776 (1959). <sup>2</sup> C. Kurahashi, Science, **125**, 114 (1957). <sup>3</sup> G. Buttin, Cold Spring Harbour Symp. on Quant. Biol., **26**, 213 (1961). <sup>4</sup> Н. В. Козляков, Г. М. Ерастов и др., Руководство по кормлению лабораторных животных, М., 1968.
- <sup>5</sup> L. E. Leloir, R. E. Frusco, In: Methods in Enzymology, **4**, N. Y., 1955, p. 290.
- <sup>6</sup> E. S. Maxwell, J. Biol. Chem., **229**, 439 (1957). <sup>7</sup> O. H. Lowry, N. J. Rosenbrough et al., Biol. Chem., **193**, 265 (1961). <sup>8</sup> G. Schmidt, S. J. Tannhauser, J. Biol. Chem., **161**, 83 (1945). <sup>9</sup> D. Garrel, Am. J. Dis. Childr., **104**, 401 (1962).