УДК 577.3:591.047

БИОХИМИЯ

А. Т. ИВАЩЕНКО, Б. С. БАЛМУХАНОВ, А. А. ЖУБАНОВА, академик АН КазССР С. Б. БАЛМУХАНОВ

ВЛИЯНИЕ ОДНОВАЛЕНТНЫХ ИОНОВ НА АТФазную АКТИВНОСТЬ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ КРЫСЫ

В зависимости от характера влияния на структуру воды одновалентные поны можно разделить на две группы: отрицательно гидратирующие ионы K^+ , Rb^+ , Cs^+ , Tl^+ , ClO_4^- , J^- , Br^- , NO_3^- и положительно гидратирующие ионы Li^+ , Na^+ , F^- , Cl^- ($^{1-3}$). В ряде случаев способность некоторых катионов к активации ферментов можно связать с их гидратацией. Так, отрицательно гидратирующие ионы таллия замещают калий в активации Na+, K+-ATФaз из эритроцитов крысы, почки кролика, мозга быка и кожи лягушки (4-8). Рубидий подобно калию повышает активность АТФаз из печени крысы, эпителия хрусталика кролика и бактерий Escherichia coli (9-11). Активирование Na+, K+-ATФазных систем отрицательно гидратирующими понами K+, Rb+, Cs+, NH4+ исследовано и в других работах (12-16). Данных по влиянию анионов на активность Na+, К+-АТФаз немного и они довольно разноречивы. Так, при замене С1- в среде на Br-, J-, NO₃- активность АТФазы из сердца, мозга и почки крысы не менялась, тогда как F- значительно ее подавлял (17). При аналогичной замене хлора среды на NO₃-, J-, CNS- активность АТФазы фрагментов саркоплазматического ретикулума сердца быка уменьшалась, анионы по степени угнетающего действия располагались в ряд: CNS->J->NO₃-

Для выяснения связи между характером гидратации иона и его спо собностью активировать АТФазные системы нами определялась аденозинтрифосфатазная активность мембран эритроцитов крысы при добавлении положительно и отрицательно гидратирующих катионов и анионов

Препарат из мембран эритроцитов крысы получали по методике Поста и соавторов (19) и его ${\rm Mg^{2+}}$, ${\rm Na^+}$, ${\rm K^+\text{-}AT\Phi}$ азную активность оценивали по выходу неорганического фосфора при гидролизе 1 мМ АТФ при 37° в течение 1 часа в 10 мМ трис-HCl-буфере с рН 7,3, содержащем: 130 мМ NaCl, 1 мМ MgCl₂ и 5 мМ KCl (среда I). Влияние других одновалентных ионов на ${\rm AT\Phi}$ азную активность мембран измеряли путем замены 5 мМ KCl в среде I на 5 мМ соли соответствующего иона. Фосфор определяли по методу Фиске и Суббароу, а белок по Лоури. Анионы добавляли

в виде солей натрия, катионы в форме хлоридов.

Данные об АТФазной активности препарата в присутствии исследованного ряда одновалентных ионов приведены в табл. 1 и представляют средний результат 5 измерений. За 100% принята активность препарата в среде I, не содержащей калия, и равная 1,6 имол. Фв на 1 мг белка в час. Полученные данные позволяют заключить, что все выбранные отрицательно гидратирующие ионы стимулируют аденозинтрифосфатазную активность препарата, однако прямого соответствия между степенью гидратации и активирующей способностью ионов не наблюдается. Отсутствие повышения АТФазной активности в присутствии ионов Вг и NO₃ можно объяснить тем, что отрицательная гидратация этих ионов, уменьшаясь с ростом тем-

пературы раствора, при 37° практически исчезает. Приведенные данные показывают, что положительно гидратирующий ион Li⁺ не активирует ATФазу, а F⁻ угнетает ферментативную активность препарата. В табл. 1 также представлены результаты исследования влияния уабаина (строфантина G) в концентрации 0,2 µмол/л на ATФазную активность препарата в присутствии выбранного ряда одновалентных ионов. Из этих данных следует, что уабаин подавляет стимуляцию ATФазной активности, вызванную как катионами, так и анионами.

Далее нами было исследовано влияние отрицательно гидратирующих понов K^+ и ClO_4^- на $AT\Phi$ азную активность препарата при их одновременном и раздельном внесении в среду инкубации. В табл. 2 представлены

Таблипа 1

Добавлен-	АТФазная актив- ность, %		_ Добавлен-	АТФазная актив- ность, %	
ный ион	ион	ион + уабаин	ный ион	ион	ион + уабаин
Na+ K+ Tl+ Rb+ Cs+ Li+	100±3 151±6 183±9 148±5 140±4 101±4	93 ± 4 108 ± 5 126 ± 4 104 ± 3 102 ± 4 92 ± 5	F- Br- NO ₃ - J- ClO ₄ -	95 ± 3 103 ± 4 104 ± 5 121 ± 5 123 ± 3	85 ± 4 94 ± 2 90 ± 3 101 ± 4 98 ± 5

Таблица 2

Добавленные ионы	АТФаз- ная ак- тив- ность, %	Добавленные ионы	АТФаз- ная ак- тив- ность, %
$2 \text{m} M \ K^{+} \ 2 \text{m} M \ \text{ClO}_{4}^{-} \ 2 \text{m} M \ K^{+} + 2 \text{m} M \ \text{ClO}_{4}^{-} \ 5 \text{m} M \ K^{+} \ 5 \text{m} M \ \text{ClO}_{4}^{-} \ 5 \text{m} M \ K^{+} + 5 \text{m} M \ \text{ClO}_{4}^{-} \ $	$\begin{array}{c} 138 \pm 3 \\ 115 \pm 2 \\ 150 \pm 6 \\ 149 \pm 4 \\ 123 \pm 3 \\ 147 \pm 6 \end{array}$	5MM K+ 5MM Rb+ 5MM K+ + 5MM Rb+ 5MM F- 5MM K+ + 5MM F- 5MM Li+ 5MM K+ + 5MM Li+	148±4 145±5 152±4 94±3 130±4 101±2 136±5

средние результаты 4 соответствующих опытов. Из приведенных данных видно, что суммирование стимулирующего действия ионов K^+ и ClO_4^- наблюдается при концентрации 2 ммол/л и отсутствует при 5 ммол/л. При одновременном внесении положительно гидратирующего иона F^- , уменьшающего $AT\Phi$ азную активность препарата, и отрицательно гидратирующего K^+ , который увеличивает активность препарата, результирующая $AT\Phi$ азная активность его ниже, чем при внесении только калия, что, по-видимому, также свидетельствует о суммирующем характере влияния одновалентных ионов на активность ферментной системы. Аналогичные результаты получены в опытах с одновременным добавлением ионов Li^+ и K^+ , тогда как совместное внесение понов K^+ и Rb^+ не приводит к уменьшейию ферментативной активности препарата. Следует отметить, что Li^+ в отличие от F^- сам не подавляет $AT\Phi$ азную активность пренарата, а только угнетает стимулирующее влияние иона K^+ . Данные этих опытов приведены в табл. 2.

Полученные результаты позволяют связать стимуляцию АТФазной активности одновалентными ионами с их отрицательной гидратацией. Положительно гидратирующие ионы уменьшают эффект отрицательно гидратирующих ионов при одновременном внесении в среду. То, что уабаин уменьшает стимуляцию АТФазной активности, вызванную как анионами, так и катионами, а также суммирующий характер влияния катионов и

анионов на активность препарата свидетельствует о том, что механизм стимуляции $AT\Phi$ азной активности общий для всех одновалентных ионов независимо от знака заряда.

Казахский научно-исследовательский институт онкологии и радиологии

Поступило 30 VII 1973

Институт экспериментальной биологии Академии наук КазССР Алма-Ата

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ О. Я. Самойлов, Структура водных растворов электролитов и гидратация понов, М., 1957. ² Г. А. Крестов, ЖСХ, № 3, 137 (1962). ³ Г. А. Крестов, ЖСХ, № 3, 402 (1962). ⁴ Р. J. Ghering, Р. В. Наштонd, J. Pharmacol. and Exp. Therap., 155, 187 (1967). ⁵ J. S. Britten, M. Blank, Biochim. et biophys. acta, 159, 160 (1968). ⁶ С. Е. Inturrisi, Biochim. et biophys. acta, 178, 630 (1969). ¹ М. Н. Маслова, Ю. В. Наточин, И. А. Скульский, Биохимия, 36, 867, (1971). ³ В. И. Назаренко, А. В. Палладин, В. К. Лишко, Укр. биохим. журн., 44, 139 (1972). ⁵ Р. F. Backer, J. Physiol., 180, 383 (1965). ¹ О. Б. L. Вопting, L. L. Caravaggio, N. M. Hawkins, Arch. Biochem. and Biophys., 101, 47 (1963). ¹ S. L. Bonting, Membranes and Ion Transport, 1, 257 (1970). ¹ A. L. Askari, J. C. Frantantoni, Biochim. et biophys. acta, 92, 132 (1964). ¹ J. P. Quiqley, G. S. Gotterer, Biochim. et biophys. acta, 173, 469 (1969). ¹ J. C. Skou, Membrane Transport and Metabolism. Symp. CSAV, Praha, 1968, p. 228. ¹ J. C. Skou, Biochim. et biophys. acta, 58, 314 (1962). ¹ D. F. H. Wallach, D. Ullrey, Biochim. et biophys. acta, 88, 620 (1964). ¹ L. J. Opit, H. Potter, J. S. Charnock, Biochim. et biophys. acta, 120, 159 (1966). ¹ J. E. Chimoskey, J. Gergely, Arch. Biochem. and Biophys., 128, 601 (1968). ¹ R. L. Post, C. R. Merrit et al., J. Biol. Chem., 235, 1796 (1960).