

Э. В. ДЯТЛОВИЦКАЯ, А. М. НОВИКОВ, Н. П. ГОРЬКОВА,
И. Б. СОРОКИНА, член-корреспондент АН СССР Л. Д. БЕРГЕЛЬСОН

ГАНГЛИОЗИДЫ МИТОХОНДРИЙ И МИКРОСОМ ГЕПАТОМЫ 27 И ПЕЧЕНИ КРЫС

Процесс опухолевого роста характеризуется изменением ряда свойств клеточной поверхности, в том числе увеличением поверхностного заряда, нарушением клеточных контактов и потерей контактного ингибирования. Поскольку поверхностный заряд клеток определяется, в частности, наличием в их плазматической мембране сиаловых кислот, можно предположить, что малигнизация сопровождается изменением количественного состава и структуры ганглиозидов, которые в нормальных клетках локализованы преимущественно на наружной поверхности (1-3). Такие изменения, действительно, были обнаружены при сравнении культур трансформированных и нормальных клеток (4), а также клеток гепатомы и нормальной печени (5-7). Однако ввиду того, что внутриклеточная локализация ганглиозидов в злокачественных клетках до сих пор не была установлена, неясно, правомерно ли связывать эти изменения с нарушением поверхностных свойств. Что касается нормальной печени, то было показано, что ганглиозиды содержатся не только на поверхности клеток, но входят также и в состав внутриклеточных мембран (8). Однако в последних определялось только общее содержание ганглиозидов, ганглиозидный же состав оставался неизученным. Поэтому в настоящей работе проведено сравнительное изучение количественного содержания и состава ганглиозидов митохондрий и микросом гепатомы 27 и печени крыс.

Для исследования использовали ткань гепатомы 27 (20-21 день после перевивки опухоли) и печень беспородных крыс весом 120-150 г. Митохондрии и микросомы выделяли методом дифференциального центрифугирования, как указано ранее (8). Чистота субклеточных фракций контролировалась определением активности маркерных ферментов: сукцинатдегидрогеназы (9), холестеринэстеразы (10), 5'-нуклеотидазы (11), β-галактозидазы (12). Экстракцию ганглиозидов и определение общих и липидносвязанных сиаловых кислот проводили, как указано в (6). Хроматографию ганглиозидов в тонком слое силикаталя и определение количественного содержания каждой индивидуальной фракции проводили ранее описанными методами (7). Ганглиозиды субклеточных фракций идентифицировали по хроматографической подвижности, сравнивая их с ганглиозидами печени.

Как видно из табл. 1, в клетках печени крыс как общие, так и липидно-связанные сиаловые кислоты распределены неравномерно: в микросомах отмечается более высокое относительное содержание обоих видов сиаловых кислот, чем в целой клетке и в митохондриях. Митохондрии и микросомы гепатомы по содержанию ганглиозидов существенно отличаются от соответствующих субклеточных фракций печени: в митохондриях гепатомы относительное содержание ганглиозидов повышено в шесть раз, а в микросомах — в три раза по сравнению с соответствующими фракциями печени. Это свидетельствует о том, что увеличение содержания ганглиозидов в гепатоме по сравнению с нормальной печенью (8) происходит не только во наружных, но и во внутриклеточных мембранах. Полученные данные показывают также, что существующее представление о внутриклеточном рас-

пределении ганглиозидов, согласно которому относительно высокое содержание ганглиозидов характерно только для плазматических мембран, неприменимо к клеткам гепатомы. Исследованная нами гепатома 27 характеризуется почти равномерным распределением общих и липидно-связанных сиаловых кислот между митохондриями и микросомами. По-видимому, выравнивание относительного содержания ганглиозидов между субклеточ-

Таблица 1

Содержание общих и липидно-связанных сиаловых кислот в митохондриях и микросомах гепатомы 27 и гомологичной ей печени крыс *

Ткани	Содержание сиаловых кислот, нмол. на 1 мг белка		Липидно-связанные сиаловые кислоты, % от суммы
	общие	липидно-связанные	
Печень			
Целые клетки	6,6±1,2	0,5±0,05	8±1
Митохондрии	6,2±1,1	0,4±0,04	6±1
Микросомы	13,0±2,7	0,8±0,05	6±1
Гепатома 27			
Целые клетки	10,2±1,1	1,8±0,2	18±1
Митохондрии	10,3±1,2	2,4±0,1	23±1
Микросомы	11,3±0,4	2,5±0,3	22±1

* Приведены средние значения из 3 опытов.

Таблица 2

Содержание ганглиозидов в целой клетке и субклеточных фракциях гепатомы 27 и нормальной печени крыс (в % от суммы ганглиозидов)

Ганглиозиды	Печень				Гепатома 27		
	митохондрии	микросомы	плазматические мембраны	целые клетки	митохондрии	микросомы	целые клетки
G_{M_3}	64±3	50±3	30±2	51±3	14±1	23±1	42±1
N-гликолил-гематозид	4±1	6±1	—	10±1	—	—	4±1
G_{M_1}	8±1	20±1	22±3	9±1	12±1	15±2	9±1
$G_{D_{1a}}$	11±2	13±2	21±1	10±1	20±1	10±1	13±2
G_{D_x}	—	—	—	—	54±2	52±2	32±2
G_T	13±1	9±1	27±1	15±1	—	—	—
Полисиало-ганглиозид	—	2±1	—	5±1	—	—	—

ными фракциями гепатомы связано с общей тенденцией к «липидной дедифференцировке» мембран в опухолевых клетках, отмеченной ранее для фосфолипидов (8).

Существенные различия между печенью и гепатомой найдены и в составе ганглиозидов внутриклеточных мембран. Как видно из табл. 2, в целых клетках, митохондриях и микросомах печени преобладает гематозид (G_{M_3}) *. В митохондриях и микросомах гепатомы относительное содержание G_{M_3} резко падает, в то время как в целой клетке оно снижается лишь незначительно. Главным ганглиозидным компонентом митохондрий и микросом гепатомы является дисиалоганглиозид G_{D_x} неустановленной структуры, отсутствующий в печени. Поскольку углеводный состав дисиа-

* Ганглиозиды обозначены по Свеннерхольму (13).

логанглиозидов $G_{D_{1a}}$ и G_{D_x} одинаков, очевидно, что G_{D_x} отличается от дисialogанглиозида печени лишь порядком связывания компонентов олигосахаридного остатка. Сравнение ганглиозидного состава клеток и субклеточных фракций гепатомы свидетельствует о том, что гематоид в основном сосредоточен в наружных плазматических мембранах, в то время как ганглиозиды с более длинной углеводной цепью более характерны для внутриклеточных мембран. В печени в плазматических мембранах * присутствует значительное количество трисialogанглиозида, а относительное содержание гематоида существенно меньше, чем в митохондриях и микросомах (табл. 2).

Так как длина углеводной цепи ганглиозидов влияет на контактное ингибирование (^{4, 15}), не исключено, что потеря последнего при малигнизации клетки обусловлена не только нарушениями биосинтеза ганглиозидов (^{4, 5, 7}), но и изменением их внутриклеточного распределения.

Институт биоорганической химии
им. М. М. Шемякина
Академии наук СССР
Москва

Поступило
11 XI 1974

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ H. D. Klenk, P. W. Choppin, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., v. 66, 57 (1970).
² O. Renkonen, C. G. Gahmberg et al., Acta chem. scand., v. 24, 733 (1970); Biochim. et biophys. acta, v. 255, 66 (1972). ³ C. L. Schengrund, D. S. Jensen, J. Biol. Chem., v. 247, 2742 (1972). ⁴ S.-I. Hakomori, In: Tumor Lipids, Biochemistry and Metabolism, Champaign, Illinois, 1973, p. 269. ⁵ B. Siddiqui, S.-I. Hakomori, Cancer Res., v. 30, 2930 (1970). ⁶ Э. В. Дятловицкая, А. М. Новиков, Л. Д. Бергельсон, ДАН, т. 197, 966 (1974). ⁷ Э. В. Дятловицкая, А. М. Новиков, Л. Д. Бергельсон, Биохимия, т. 39, 552 (1974). ⁸ L. D. Bergelson, E. V. Dyatlovitskaya et al., Biochim. et biophys. acta, v. 210, 287 (1970). ⁹ E. C. Slater, W. D. Bonner, Biochem. J., v. 52, 185 (1952). ¹⁰ Г. А. Понькова, Н. П. Горькова и др., ДАН, т. 207, 232 (1972). ¹¹ P. Emmelot, C. J. Bos et al., Biochim. et biophys. acta, v. 90, 126 (1964). ¹² R. J. Shamberger, Biochem. J., v. 111, 375 (1969). ¹³ L. Svennerholm, J. Neurochem., v. 10, 613 (1963). ¹⁴ P. R. Dorling, R. N. Le Page, Biochim. et biophys. acta, v. 318, 33 (1973). ¹⁵ S.-I. Hakomori, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., v. 67, 1741 (1970).

* Препараты плазматических мембран печени были получены по модифицированному методу [¹⁴] В. Л. Воейковым.