

УДК 577.152.3

**СУБКЛЕТОЧНАЯ ЛОКАЛИЗАЦИЯ  
АДЕНОЗИН-ТИАМИНТРИФОСФАТ-ГИДРОЛАЗЫ  
В ПЕЧЕНИ КРЫСЫ**

**Клюка Т.В.<sup>1</sup>, Лучко Т.А.<sup>2</sup>, Макарчиков А.Ф.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> – УО «Гродненский государственный университет им. Я. Купалы»  
г. Гродно, Республика Беларусь

<sup>2</sup> – ГП «Институт биохимии биологически активных соединений  
НАН Беларуси»

г. Гродно, Республика Беларусь

<sup>3</sup> – УО «Гродненский государственный аграрный университет»  
г. Гродно, Республика Беларусь

Аденозин-тиаминтрифосфат (АТТФ) обнаружен в клетках представителей различных царств живых организмов – бактерий, грибов, растений и животных [1]. В настоящее время биохимическая функция этого соединения неизвестна; в литературе также отсутствуют какие-

либо сведения о ферментах метаболизма АТТФ у эукариотных организмов. Цель проводимых нами исследований состоит в выяснении физиологической роли АТТФ. Одно из направлений на пути решения указанной проблемы – всестороннее изучение биологии ферментов, осуществляющих биосинтез и деградацию АТТФ. В данной работе исследована субклеточная локализация АТТФ-гидролазы в печени крысы.

В предварительных экспериментах нами было установлено, что при центрифугировании (60 мин, 19000 g) гомогената печени АТТФ-гидролазная активность осаждается вместе с нерастворимыми компонентами клетки, т.е. фермент имеет мембранную локализацию [2]. Чтобы составить более ясное представление о том, в каких субклеточных структурах может находиться АТТФ-гидролаза, мы исследовали распределение ферментативной активности во фракциях, выделенных методом дифференциального центрифугирования. Образцы печени крысы гомогенизировали в 4-х объемах 0.25 М сахарозного буфера, рН 7.4, содержащего 0.5 мМ ЭДТА, 0.1 мМ  $MgCl_2$ , 10 мМ трис-НСl, в гомогенизаторе с тефлоновым пестиком семью треками. Ядра осаждали 10 мин при ускорении 600 g, митохондрии – 10 мин при 12000 g. Для выделения микросом рН постмитохондриального супернатант доводили до 7.5 с помощью 0.5 М трис-НСl буфера, рН 8.0, и добавляли  $CaCl_2$  до конечной концентрации 15 мМ. Через 5 мин инкубации на холоде супернатант центрифугировали при 10000 g в течение 10 мин. Осадки субклеточных фракций дважды промывали средой выделения и хранили при  $-80\text{ }^{\circ}C$ . Чистоту фракций контролировали, измеряя активности ферментов-маркеров (сукцинатдегидрогеназы, глюкозо-6-фосфа-тазы, лактатдегидрогеназы) и содержание ДНК. Активность АТТФ-гидролазы определяли по разработанному ранее методу [2].

Как показали результаты, 65% от общей АТТФ-гидролазной активности гомогената печени крысы сосредоточено в ядрах, 20% – в митохондриях, 15% – в микросомах. В цитозольной фракции гидролиз АТТФ практически не протекает.

Полученные нами данные о локализации АТТФ-гидролазы в ядре клетки хорошо согласуются с результатами исследований Tanaka с соавт. [3], согласно которым АТТФ способен ингибировать активность поли(АДФ-рибоза)-полимеразы-1 – ядерного фермента, занимающего центральное место в системе клеточных ответов на различные стрессорные факторы [4]. Таким образом, получен еще один аргумент в пользу концепции, предполагающей участие витамина  $B_1$  в молекулярных механизмах краткосрочной адаптации [1].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Макавичков, А.Ф. Тиаминтрифосфат: новый взгляд на некоферментную функцию витамина В<sub>1</sub> / А.Ф. Макавичков. – Минск: Белорусская наука, 2008. – 433 с
2. Ключка, Т.В., Макавичков, А.Ф., Лучко, Т.А., Кудырко, Т.Г. Определение активности и исследование свойств фермента, катализирующего гидролиз аденилированного тиаминтрифосфата в печени крысы // XVI Международная научно-практическая конференция «Современные технологии сельскохозяйственного производства». Материалы конференции. – Гродно, 2013. – С. 235–237.
3. Tanaka, T., Yamamoto, D., Sato, T., Tanaka, S., Usui, K., Manabe M., Aoki, Y., Iwashima, Y., Saito, Y., Mino, Y., Deguchi, H. Adenosine thiamine triphosphate (AThTP) inhibits poly(ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) activity // J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo). – 2011. – Vol. 57. – P. 192–196.
4. Luo, X., Kraus, W.L. On PAR with PARP: cellular stress signaling through poly(ADP-ribose) and PARP-1 // Genes Dev. – 2012. – Vol. 26. – P. 417–432.