

Е. Л. РОЗЕНФЕЛЬД

О СОЕДИНЕНИИ ГЛИКОГЕНА С БЕЛКАМИ

(Представлено академиком Я. О. Парнасом 21 III 1947)

Вопрос о существовании связанного с белком гликогена возник с тех пор, как Вильштеттер и Родевальд (1) показали, что при извлечении гликогена горячей водой или слабым раствором трихлоруксусной кислоты на холоду из печени и мышц, а также из лейкоцитов часть его остается неизвлеченной и освобождается только при действии концентрированных щелочей или протеолитических ферментов. Это гликоген, связанный с белками, — десмогликоген.

Основываясь на этих исследованиях, многие авторы пытались выделить и изучить оба вида гликогена — свободный и связанный — и выявить их соотношение в зависимости от ряда условий. Изучалось влияние возраста животных, времени года, пищевого режима, эндокринных и ряда других факторов на содержание в органах свободного и связанного гликогена. Большой и пестрый экспериментальный материал в этой области, однако, крайне противоречив, и выводы различных авторов подчас диаметрально противоположны. Между тем с вопросом о соединении гликогена с белками естественно связывается представление об интенсивности гликогенолиза. По мнению ряда авторов, резервом углеводов в печени является не гликоген, а гликогено-белковый комплекс, не подвергающийся воздействию энзимов.

Нами было, однако, показано, что для извлечения из тканей всего содержащегося в них гликогена нет необходимости в действии щелочей или протеолитических ферментов. Извлекая последовательно гликоген с помощью горячей воды или слабого раствора трихлоруксусной кислоты, нам удавалось удалять из ткани весь гликоген при любых экспериментальных условиях (независимо от пищевого режима, возраста животного и т. д.). Таким образом, деление гликогена на свободный и связанный произвольно.

Невозможность изолировать десмогликоген отнюдь не свидетельствует об отсутствии в тканях соединений гликогена с белками. Напротив, поведение гликогена при экстрагировании заставляет предполагать, что в клетках и тканях он связан с белками. Однако все без исключения способы извлечения гликогена, включая и термическую денатурацию белков водной или осаждающей их с помощью трихлоруксусной кислоты, приводят к глубокому изменению белков и делают невозможным установление границы между свободным (если он существует) и связанным гликогеном. Поэтому следует говорить не о свободном и связанном, а о легко и трудно извлекаемом гликогене.

Происходит ли при повторных извлечениях гликогена постепенная диссоциация гликогено-белкового комплекса или же, как утверждают Мейер и Жанло (2), постепенное извлечение гликогена происходит

независимо от белковых веществ - сказать в настоящее время не представляется возможным.

Образование *in vitro* соединений между гликогеном и различными белками (главным образом, денатурированным) изучалось Пшилецким и его сотрудниками (3, 4). Многочисленные исследования в этом направлении давали лишь косвенные доказательства образования *in vitro* „полисахаропроteidов“.

Нашей задачей было исследовать вопрос о возможности образования *in vitro* соединений между гликогеном мышц и миозином путем изучения иодной реакции гликогена, с одной стороны, и спектральных исследований, с другой

Опыты проводились нами с гликогеном, полученным из мышц кроликов, и миозином, полученным из мышц тех же кроликов. Гликоген получался извлечением с помощью 4% трихлоруксусной кислоты и переосаждался три раза из водного раствора спиртом. Миозин получался по методу Любимовой и переосаждался из раствора 2 или 3 раза. В некоторых опытах мы применяли кристаллический миозин, полученный по Сцент-Джорджи (5) и растворенный в 0,6 М КСI.

В I серии опытов мы изучали реакцию гликогена с иодом в присутствии миозина. Некоторое количество иода связывается миозином. Для того чтобы раствор миозина при прибавлении иода не обесцвечивался, а оставался окрашенным в желтый цвет, к нему приходилось добавлять некоторый избыток иода. Если к раствору миозина прибавлялся гликоген (0,5—0,8 мг на мл миозина, содержащего 0,7—1,0 мг азота), а затем раствор иода в том же количестве, что и к контрольному раствору миозина, то в некоторых случаях окрашивание было желтым, несколько не отличавшимся от окрашивания контрольного раствора миозина, и, следовательно, гликоген с помощью иодной реакции вовсе не обнаруживался; в других случаях наблюдалось коричневатое-красное окрашивание раствора, значительно менее интенсивное, однако, чем окрашивание контрольного раствора гликогена той же концентрации, но без миозина.

Повидимому, связывание гликогена миозином, вызывающее исчезновение иодной окраски гликогена, зависит от ряда условий и не всегда может быть полностью обнаружено. Фосфатный буфер (рН 7—8) крайне благоприятствует исчезновению иодной окраски раствора гликогена в присутствии миозина. При том же рН в отсутствие фосфатов эффект менее значителен. Если после прибавления гликогена раствор миозина осадить разбавлением водой (от 3 до 6 раз), то в осадок переходит гликоген, что обнаруживается после центрифугирования исследованием раствора над осадком с помощью иодной реакции.

Сравнение гликогена в растворе после осаждения миозина с контролем (т. е. с раствором гликогена той же концентрации, но не содержащим миозина) обнаруживает уменьшение в опытном растворе редуцирующих веществ после кислотного гидролиза гликогена. Таким образом, в присутствии миозина окраска иодом, столь характерная для гликогена, исчезает совсем или становится значительно менее интенсивной. Это свидетельствует о том, что при взаимодействии с миозином некоторые характерные особенности гликогена исчезают.

II серия опытов касалась вопроса об изменении свойств миозина, вызванном присутствием гликогена. С этой целью нами изучался спектр поглощения миозина в ультрафиолете в присутствии гликогена.

В присутствии гликогена, взятого в тех же количествах и в тех же условиях, в которых мы получали исчезновение иодной реакции или значительное уменьшение ее интенсивности, максимум поглощения миозина смещался в коротковолновую часть спектра на 100—160 Å.

Между тем гликоген в исследованной области ультрафиолета не дает поглощения*.

Это резкое смещение максимума поглощения миозина в ультрафиолете в присутствии гликогена, так же как и исчезновение иодной реакции гликогена в тех же условиях опыта с несомненностью свидетельствуют об образовании нового вещества, обладающего иными свойствами по сравнению с исходными и представляющего, повидимому, соединение гликогена с миозином.

Вопрос о том, какие условия в наибольшей степени благоприятствуют или препятствуют образованию подобного соединения, а также вопрос о взаимодействии других белков и других полисахаридов являются предметом дальнейших исследований.

Лаборатория
физиологической химии
Академии Наук СССР

Поступило
21 III 1947

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ R. Willstätter u. M. Rohdewald, *Z. physiol. Chem.*, **225**, 103 (1934).
² K. Meyer et Jeanloz, *Helv. Chim. Acta*, **26**, 1784 (1943). ³ St. J. Przylecki u. R. Majmin, *Bioch. Z.*, **271**, 168 (1934); **273**, 262 (1934); **275**, 56 (1935); **277**, 420 (1935). ⁴ St. J. Przylecki u. H. Rafalowska, *ibid.*, **277**, 424 (1935).
⁵ A. Szent-Györgyi, *Studies on Muscle*, Stockholm, 1945.

* Экспериментальная часть будет подробно опубликована в сообщении совместно с X. Н. Равиковичем.