

В. В. КОВАЛЬСКИЙ

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГЛИКОГЕНОВ

(Представлено академиком Я. О. Парнасом 29 V 1947)

Хроматографический анализ гликогенов проводился нами с помощью свежеприготовленного карбоната кальция, оказавшегося лучшим адсорбентом для этой цели. Через колонку пропускался раствор гликогена (20—50 мг в 10—20 мл воды); проявление хроматограммы производилось дистиллированной водой (50—100 мл, иногда 200 мл) и последующим пропусканьем 10 или больше мл 0,1% раствора иода. Для наших исследований гликоген получался экстрагированием 4% трихлоруксусной кислотой, осаждался 60% этиловым спиртом, дважды или трижды переосаждался в отдельных случаях подвергался диализу. Такие препараты гликогена содержали 0,03—0,05% азота и не содержали фосфора. Всего нами было поставлено 218 опытов хроматографического анализа гликогенов.

Исследования хроматограмм гликогенов печени и мышц кроликов, свиньи и лягушки показали, что различные гликогены, будучи окрашены иодом на адсорбенте, различаются по характеру зон и по окраске. Гликогены кролика (печеночный и мышечный) приобретают сходную окраску — бурую с лиловым оттенком, причем у мышечного гликогена лиловый оттенок ярнее выражен, чем у печеночного, и окраска его интенсивнее. Гликоген печени лягушек обладает светлой окраской с охристым или розоватым оттенком, тогда как гликоген мышц лягушки окрашен интенсивнее и обладает сиреневым оттенком. Гликоген печени свиньи по характеру и интенсивности окраски большинства зон занимает среднее положение между гликогенами печени кролика и лягушки. Сказанное характеризует преобладающий тон окраски гликогенов, связанных адсорбентом. В пределах же отдельных хроматограмм удается наблюдать зоны, различающиеся по интенсивности и в некоторых случаях по оттенку окраски или даже цвету, как это наблюдалось в хроматограмме гликогена печени свиньи (голубая зона).

Типичной для гликогена печени кролика является хроматограмма, представленная на рис. 1, *a*, где мы различаем верхнюю темную часть 1, занимающую обычно 50—70% хроматограммы, и нижнюю светлую, занимающую 30—50%. В пределах темной части, на границе со светлой, расположена наиболее интенсивно окрашенная зона 2. Нижняя светлая часть хроматограммы состоит обычно из 4 зон, представляющих градации убывающей окраски (3—6).

В различные периоды года, при различных функциональных состояниях организма хроматограмма печеночного гликогена кролика в той или другой степени меняется (наибольшие изменения при этом наблюдаются в переходной области между верхней темной (1) и светлой нижней частями (3—6) хроматограммы), примеры чего показаны на рис. 1, *b*, *c*, *d*, *e*.

Хроматограммы гликогенов, полученных из печени лягушки, отличаются от печеночных кроличьих не только по окраске, о чем говорилось, но и по характеру расположения зон. Печеночный гликоген лягушки не дает интенсивно окрашенной зоны между темной верхней и светлой нижней частями хроматограммы, а также обладает рядом характерных особенностей в расположении зон 3—6 или 3—7 (рис. 2, *a, b*). При различных функциональных состояниях в различные периоды года в хроматограммах гликогенов печени лягушки наблюдаются значительные изменения.

Совершенно особый интерес представляют данные хроматографического анализа гликогена печени свиньи. Были исследованы препараты, полученные от 3 животных в летнее время (июль 1946 г.). Верхняя зона хроматограммы (рис. 3, *1*) соответствует гликогену, окрашивающемуся иодом также интенсивно, как полоса 3, и несколь-

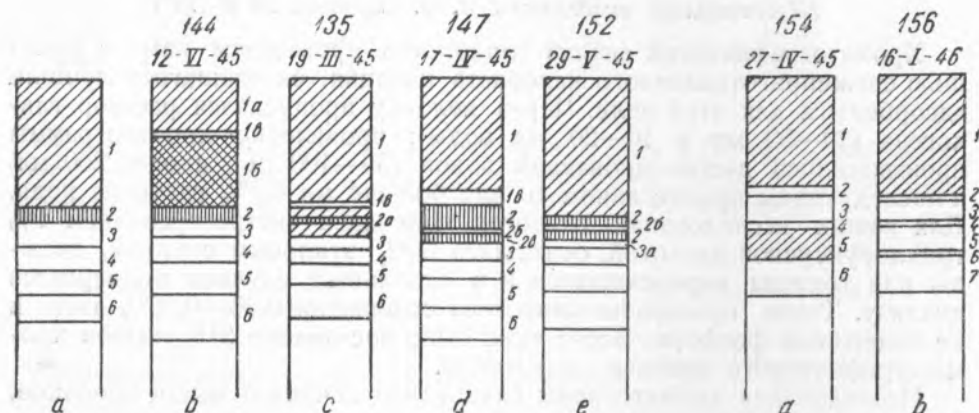


Рис. 1

Рис. 2

ко сильнее, чем полосы 7 и 9; полосы 2, 4, 6 окрашены слабее 7 и 9, а полоса 5 — наиболее интенсивно. Между 7 и 9 полосами залегает голубая зона 8, какой до сих пор для гликогенов других животных нам не удавалось обнаружить. Наличие в гликогене печени свиньи полисахарида, окрашивающегося иодом в голубой цвет, представляет интерес в связи с тем обстоятельством, что в исследованиях Cl. Bernard'a (1) упоминалось об открытии им в парализованной мышце кролика гликогена, также окрашивающегося иодом в синий цвет. Это наблюдение Cl. Bernard'a до сих пор никем не было подтверждено. В результате наших наблюдений удалось показать наличие синей зоны в хроматограмме печеночного гликогена свиньи, что важно для обоснования представления о гликогене как смеси полисахаридов.

Исследования хроматограмм мышечных гликогенов кролика и лягушки показывают существенные различия между гликогенами мышц различных животных, с одной стороны, и с другой стороны — между гликогенами одного вида животных, но полученными в различные периоды года, при различных функциональных состояниях организма. На рис. 4 представлены схемы хроматограмм для мышечного гликогена кролика (*a*) и лягушки (*b, c*). В хроматограмме мышечного гликогена кролика между верхней темной и нижней светлой зонами залегают одна или две узкие интенсивно окрашенные полоски (рис. 4, *a* — 2, 2*a*), что обычно в гликогене мышц лягушки не наблюдается. Очень часто (в апреле, июне и июле) верхняя зона хроматограмм гликогенов мышц лягушки оказывается светлее (рис. 4, *b* — 1) сравнительно с нижней частью. Этим гликогены мышц лягушки и отличаются от всех других. В зимнее время гликоген мышц лягушки наиболее стабилизуется —

он даже после тщательного проявления дает минимальное число полос (рис. 4, *c*). Светлая нижняя часть хроматограмм мышечных гликогенов значительно отличается от нижней части хроматограмм печеночных гликогенов.

Соотношение между отдельными хроматографическими зонами гликогенов, как показывают изложенные выше наблюдения, обнаруживают непостоянство, что, очевидно, отражает физиологическую изменчивость гликогена.

Исходя из данных о зависимости иодной окраски полисахаридов от степени ветвления боковых глюкозных цепей в частицах полисахаридов⁽²⁾, можно считать, что степень ветвления преобладающих фракций в различных изученных гликогенах возрастает в такой последовательности: гликоген мышц

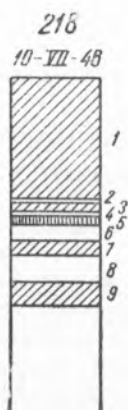


Рис. 3

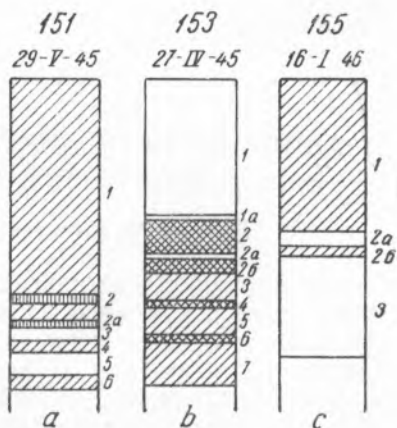


Рис. 4

кролика, печени кролика, мышц лягушки, печени свиньи, печени лягушки (первый гликоген имеет наиболее интенсивную бурую окраску с лиловым оттенком, тогда как последний, завершая шкалу переходов, имеет окраску наиболее светлобурую с охристым оттенком). Наряду с таким преобладанием у различных гликогенов окраски того или другого характера, каждый гликоген дает хроматограмму, состоящую из ряда зон, характеризующихся также оттенками и интенсивностью иодной окраски. Голубая зона гликогена печени свиньи соответствует гликогену, обладающему, вероятно, минимальной степенью ветвления.

Можно предположить, что зоны, различающиеся по цвету и характеру оттенков (например светлобурая с охристым оттенком, бурая с сиреневым оттенком, бурая с лиловым оттенком, голубая), выявляют индивидуальные вещества, различающиеся по структуре (элюированные из этих зон гликогены при повторной абсорбции не расслаиваются на зоны), тогда как зоны, обладающие окраской одного оттенка, но различной интенсивности, выявляют гликогены одной структуры, но различающиеся по величине частиц.

На основании литературных данных⁽³⁻⁵⁾, а также изложенных в этой статье материалов можно считать, что так называемый гликоген не является однородным веществом и представляет собой смесь индивидуальных веществ (что согласуется с учением об апогликогенах⁽⁶⁾), составляющих группу близких между собой полисахаридов гликогенного типа, обладающих при различных условиях различной степенью дисперсности и различной растворимостью.

Лаборатория физиологической химии
Академии Наук СССР

Поступило
29 V 1947

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Cl. Bernard, *Leçons sur le diabète*, p. 553, 1877, Paris. ² K. Meyer, *Advances in Enzymol.*, 3 (1943). ³ M. Samec and V. Isajewic, *C. R.*, 176, 1419 (1923). ⁴ H. Staudinger and E. Husemann, *Ann.*, 530, 1 (1937). ⁵ K. Meyer et R. Jeanloz, *Helv. Chim. Acta.* 26, 1784 (1943). ⁶ J. Parnas, *Ergebnisse der Enzymforsch.*, 6 (1937).