

В. Н. ОРЕХОВИЧ, А. А. ТУСТАНОВСКИЙ и Н. Е. ПЛОТНИКОВА

**ВЫДЕЛЕНИЕ КРИСТАЛЛИЧЕСКИХ БЕЛКОВ НОВОГО ТИПА
(ПРОКОЛЛАГЕНА) ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНОВ ПОЗВОНОЧНЫХ**

(Представлено академиком Я. О. Парнасом 27 II 1948)

Мы уже сообщали (¹⁻⁶), что в нашей лаборатории обнаружена новая группа соединительнотканых белков, названных проколлагенами. Отдельные представители проколлагенов ранее изучались некоторыми гистологами (⁷⁻⁸), но ошибочно были приняты за коллаген.

В предыдущих сообщениях мы описали выделение кристаллических проколлагенов из кожи различных позвоночных, а также некоторые свойства этих белков.

Установив широкое распространение проколлагенов в животном мире (эти белки встречаются в коже всех без исключения классов позвоночных), мы предприняли работу по установлению пределов распространения этого типа белков в различных органах и тканях позвоночных.

Обследованию подверглись различные ткани и органы животных и человека. Полученные данные будут кратко изложены ниже.

1. Получение кристаллического проколлагена из сухожилий быка. 3 кг свежих сухожилий быка были очищены от других тканей и несколько раз пропущены через мясорубку. К 1,5 кг кашицы было добавлено 7 л цитратного буфера (0,1 M), рН = 3,48. Смесь хранилась в холодильнике при 0° С в продолжение 2 суток. По истечении этого срока кашница была отделена от жидкости на корзинной центрифуге и вновь залита 7 л цитратного буфера, рН = 3,5. Смесь хранилась в холодильнике 6 суток.

Для отделения жидкости от сильно набухших кусочков ткани смесь центрифугировалась, и полученный экстракт фильтровался. К прозрачной, слегка вязкой жидкости добавлялся сернокислый аммоний до полного насыщения.

Выпавшие белки собирались на фильтре и затем растворялись в дистиллированной воде. В раствор переходила только часть белка. Эти две различные фракции белков разделялись фильтрованием.

Прозрачный белковый раствор ставился на диализ против водопроводной воды. Через сутки выпадали кристаллы проколлагена.

По форме и размерам кристаллов проколлаген сухожилий ничем не отличается от проколлагена кожи ряда животных. Содержание проколлагена в сухожилиях крайне невелико и составляет значительно меньше 1% общего количества белков, содержащихся в сухожилиях.

2. Получение кристаллического проколлагена из некоторых органов собаки. а) Желудок. Ткани желудка собаки были тщательно очищены от слизи, промыты водой и затем размельчены в мясорубке.

В опыт было взято 80 г кашицы. Из этого количества было приготовлено 10 навесок по 8 г каждая. К навескам было добавлено по 24 мл цитратного буфера (0,1 М), рН от 1,67 до 6,0. Все пробы были поставлены в холодильник на 2 суток.

По истечении этого срока кашица после фильтрования выбрасывалась, а в экстрактах определялось наличие проколлагена по галертной пробе. Из 10 проб только в 6 был обнаружен проколлаген. Этот белок отсутствовал в экстрактах цитратным буфером с рН = 1,67; 2,12; 5,32 и 6,0.

Экстракты, содержащие проколлаген, были поставлены на диализ против водопроводной воды и 0,01 М раствора двузамещенного фосфата натрия. Кристаллы выпали только в 2 пробах (исходное рН цитратного буфера, примененного для экстракции, 3,94 и 4,45), диализовавшихся против раствора фосфата натрия.

В остальных пробах, подвергшихся диализу против водопроводной воды и раствора фосфата натрия, кристаллы проколлагена не образовались.

б) Мочевой пузырь*. Мочевой пузырь собаки тщательно промыт и размельчен. К 7 г кашицы добавлено 21 мл цитратного буфера (0,1 М), рН = 3,5. Смесь хранилась на холоду (0° С) в течение 2 суток, затем кашица была отфильтрована и вновь залита цитратным буфером, рН = 3,45. Смесь хранилась на холоду 3 суток.

После фильтрования экстракт поставлен на диализ против 0,01 М раствора двузамещенного фосфата натрия. Через сутки выпали кристаллы проколлагена. Содержание этого белка в тканях мочевого пузыря крайне незначительно.

3. Получение кристаллического проколлагена из зоба курицы. Ткань зоба 6-месячных кур тщательно очищена, промыта и затем измельчена в мясорубке. К навескам кашицы по 8,5 г добавлен цитратный буфер (0,1 М), рН от 1,5 до 5,5. Пробы хранились в холодильнике одни сутки, после чего кашица отфильтровывалась и выбрасывалась. В экстрактах определялось наличие проколлагена.

Белок этот содержался в очень небольшом количестве только в пробах с более кислым раствором (исходный рН цитратного буфера 1,5—2,99). При диализе против 0,01 М раствора двузамещенного фосфата натрия кристаллы проколлагена выпали только в одной пробе, полученной экстракцией белка цитратным буфером с исходным рН = 2,05. Размеры кристаллов 91—130 μ .

В тканях желудка курицы проколлагена не содержится.

4. Получение кристаллического проколлагена из тканей плавательного пузыря рыбы. Плавательные пузыри рыбы (судака) были тщательно измельчены и затем к навескам кашицы (6 г) было добавлено по 18 мл цитратного буфера (0,1 М), рН = 2,5; 4,0; 5,0. Пробы хранились на холоду, а затем кашица отфильтровывалась и выбрасывалась. Прозрачные экстракты исследовались на содержание проколлагена.

Белок этот был обнаружен только в двух последних пробах (исходное рН буферных растворов, применяемых для экстракции белка, 4,0 и 5,0).

После диализа против водопроводной воды и 0,01 М раствора двузамещенного фосфата натрия выпали хорошо сформированные мелкие кристаллы проколлагена только в одной пробе (исходное рН буфера 4,0). Размеры кристаллов 13—39 μ .

Предпринятые нами попытки выделить проколлаген из тканей кровеносных сосудов (артерий и вен) человека не увенчались успехом.

* Проколлаген из мочевого пузыря собаки в кристаллической форме был получен сотрудницей нашей лаборатории О. С. Хохловой.

В результате проведенных исследований нам удалось доказать правильность высказанного нами ранее предположения о том, что проколлагены широко распространены в животном мире и что они встречаются во всех тканях, где содержится коллаген.

Соотношение между количествами проколлагена и коллагена различно для разных тканей, причем нет прямой пропорциональности между количеством этих белков. В коже, например, проколлагена содержится во много раз больше, а коллагена значительно меньше, чем в сухожилиях. Это зависит, повидимому, от биологической активности ткани.

Лаборатория химии белков
Института биологической и медицинской химии
Академии Медицинских Наук СССР

Поступило
21 II 1948

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ В. Н. Орехович и А. А. Тустановский, Бюлл. эксп. биол. и мед., **23**, 197 (1947). ² В. Н. Орехович, А. А. Тустановский и К. Д. Орехович, ДАН, **57**, 475 (1947). ³ А. А. Тустановский, Биохимия, **12**, 285 (1947). ⁴ В. Н. Орехович, Усп. хим., **16**, 690 (1947). ⁵ Н. Е. Плотникова, ДАН, **58**, 1715 (1947). ⁶ В. Н. Орехович, А. А. Тустановский, К. Д. Орехович и Н. Е. Плотникова, Биохимия, **13**, в. 1 (1948). ⁷ J. Nageotte, C. R. Soc. Biol., **96**, 172 (1927). ⁸ G. Leplat, *ibid.*, **112**, 1256 (1933).