

Х. М. РАВИКОВИЧ

## О СПЕКТРАХ ПОГЛОЩЕНИЯ КОМПЛЕКСА МИОЗИНА С ПОЛИСАХАРИДАМИ

(Представлено академиком А. И. Опариным 23 V 1949)

В наших предыдущих работах (<sup>1-3</sup>) было показано, что спектры поглощения мышечного белка миозина содержат ряд полос, которые оказалось возможным идентифицировать с характерными полосами поглощения ароматических аминокислот тирозина, триптофана, фенилаланина. Было также обнаружено, что в присутствии других высокомолекулярных веществ — гликогена и аденозинтрифосфорной кислоты — в спектре миозина происходит смещение определенных полос поглощения в коротковолновую часть спектра. В связи с полученными результатами мы высказали предположения о том, что ответственными за смещение полос поглощения в спектре белка являются тирозин-триптофановые группы и что поглощение, обнаруживаемое в более коротковолновой части спектра белка, принадлежит комплексу белок — небелковое вещество.

Данные этих работ были получены качественным фотографическим методом, позволяющим с достаточным приближением определять положение максимумов поглощения.

Ввиду имевших место возражений против примененного метода измерения и способов выражения результатов, нами был предпринят пересмотр полученных данных с применением количественного фотоэлектрического метода.

В настоящей работе такой проверке подверглись наши прежние данные по спектрам поглощения системы миозин — гликоген, полученные в совместной работе с Е. Л. Розенфельд. Эта система особенно удобна для изучения смещения полосы поглощения белка, так как второй связанный с ним компонент — полисахарид прозрачен в исследуемой ультрафиолетовой области спектра.

Спектр миозина исследовался в 0,6 М растворе KCl в присутствии фосфатного буфера (рН = 7,1). При одинаковой концентрации белка (0,12 мг N в мл) растворы содержали различное количество гликогена (0,08; 0,12; 0,24; 0,48 мг в мл). Миозин и препараты гликогена были получены из мышц кролика. Приводятся данные для двух препаратов гликогена: № 1 (от 2 X) и № 2 (от 13 XII).

На рис. 1 изображены кривые поглощения для чистого миозина и для миозина в присутствии гликогена № 2; в последнем случае 1 мл раствора содержал миозин в количестве 0,12 мг N и 0,24 мг гликогена. Такое количественное соотношение миозина и гликогена является оптимальным для выявления смещения полосы поглощения в спектре миозина. Если к раствору миозина добавлять гликоген № 2, то в случае оптимальных концентраций обоих компонентов в спектре миозина неизменно наблюдается смещение на 100 Å основной полосы поглощения у

2775 Å. При малых концентрациях того же препарата гликогена (0,08 и 0,12 мг в мл) смещения полосы в спектре миозина не наблюдается. В присутствии препарата гликогена № 1 в спектре миозина наблюдается смещение основной полосы поглощения на 120 Å при концентрации гликогена 0,12 мг в мл и при прежней концентрации миозина (0,12 мг N в мл). Различные другие препараты гликогена обуславливают смещение полосы поглощения в спектре белка на 50—175 Å. Из кривых погло-

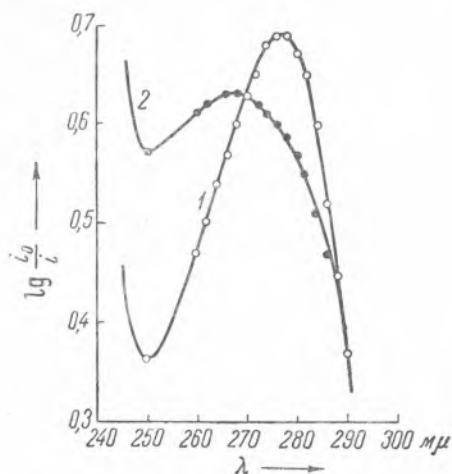


Рис. 1. 1 — кривая поглощения миозина;  $c = 0,12$  мг N в мл; рН = 7,1; 2 — кривая поглощения комплекса миозин — гликоген;  $c_{\text{миоз}} = 0,12$  мг N в мл;  $c_{\text{глик}} = 0,24$  мг в мл; рН = 7,1

щения можно видеть, что относительное поглощение миозина в присутствии гликогена несколько меньше, чем поглощение одного миозина. Такое соотношение величин интенсивностей поглощения сохраняется в опытах со свежим миозином. После 6—7 дней хранения в холодильнике препарата миозина его поглощение в присутствии гликогена возрастает.

Таким образом, при измерении спектров с помощью спектрофотометра Бекмана выявилось, что в спектре миозина в присутствии гликогена происходит смещение основной полосы поглощения в сторону коротких волн. Величина смещения полосы по длине волны, а также величина поглощения зависят в основном от углеводного компонента раствора и в меньшей степени от свойств самого миозина.

Характерная тирозин-триптофановая полоса поглощения у 2775 Å и сдвиг этой полосы к коротковолновому концу спектра в присутствии гликогена были выявлены повторно также фотографическим методом. Спектр миозина фотографировался в 0,6 M растворе KCl ( $c = 0,5$  мг N в мл) в присутствии фосфатного буфера при рН = 7,1. Препарат гликогена № 1 в концентрации от 1 до 2 мг в мл вызывал смещение основной полосы поглощения в спектре миозина на 120 Å. Препарат гликогена № 2 в концентрации 1 мг в мл вызывал сдвиг максимума постоянно на 100 Å.

Сопоставление кривых поглощения, снятых фотометрически, с фотографиями спектров показывает, что результаты, полученные этими обоими методами, полностью совпадают как в отношении положения максимума, так и в отношении величины и характера его смещения.

Сравнивая спектры миозина, полученные в растворе, содержащем гликоген, и в отсутствие гликогена, можно видеть, что полосы поглоще-

ния в обоих случаях подобны и лишь смещены по длинам волн. Это указывает на то, что основной хромофор белка, бензольная группа, присутствующая в ароматических аминокислотах, в данном случае не изменяется. Смещение основной полосы поглощения могло произойти вследствие присоединения молекулы гликогена к хромофорной системе белка или к смежным с ней группам. В результате такого взаимодействия может образоваться комплекс белок — полисахарид, имеющий поглощение в коротковолновой части спектра.

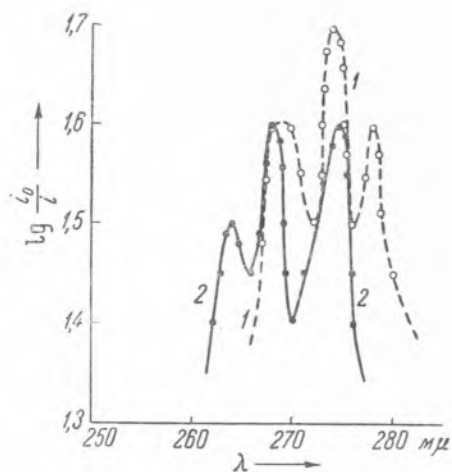


Рис. 2. 1 — кривая поглощения тирозина;  $c = 0,16$  мг в мл;  $pH = 7,1$ ; 2 — кривая поглощения комплекса тирозин — гликоген;  $c_{\text{тироз}} = 0,16$  мг в мл;  $c_{\text{глик}} = 1$  мг в мл;  $pH = 7,1$

Высказанное предположение относительно образования комплекса белок — гликоген, имеющего характерное коротковолновое поглощение, нашло существенное подтверждение в работе Е. Л. Розенфельд (4) относительно условий расщепляемости гликогенов ферментами. По данным этой работы, различие гликогенов в отношении их расщепляемости фосфоролазой проявляется только при их взаимодействии с белками. При этом оказалось, что гликогены, которые вызывают большее смещение основного максимума поглощения в спектре, расщепляются фосфоролазой в значительно большей степени в комплексе с белком, чем гликогены, вызывающие меньший сдвиг. В частности, легче расщепляются препараты гликогена, в присутствии которых происходит сдвиг полосы на  $175 \text{ \AA}$ , между тем как более устойчивыми оказались препараты, вызывающие сдвиг полосы только на  $55 \text{ \AA}$ . Таким образом, параллельно с изменениями спектральных свойств комплекса белок — гликоген наблюдаются изменения расщепляемости гликогена ферментами.

В связи с тем, что, по нашим наблюдениям, смещению подвергаются тирозин-триптофановые полосы поглощения, нами были также исследованы спектры поглощения чистых аминокислот тирозина и триптофана в присутствии препаратов гликогена № 1 и № 2.

Измерения спектров и в этом случае производились как на приборе Бекмана, так и фотографическим методом. Предварительные данные, полученные в обоих случаях, совпадают между собой. В солевом растворе в присутствии фосфатного буфера при  $pH = 7,1$  в спектре тирозина обнаружены три узкие полосы поглощения, соответствующие длинам волн:  $2780, 2740, 2690 \text{ \AA}$ . При тех же условиях в спектре триптофана обнаружено два максимума поглощения: у  $2910$  и  $2770 \text{ \AA}$ . Макси-

мум поглощения, выявленный у 2770—2780 Å в спектрах обеих аминокислот, соответствует поглощению в спектре миозина, наблюдаемому при  $\text{pH} = 7,1$  у 2770—2780 Å. В присутствии гликогена № 1 максимум у 2780 Å в спектре тирозина совсем не наблюдается. Одновременно наблюдаются два максимума в более коротковолновой части спектра у 2650 и 2600 Å. В присутствии гликогена № 2 в спектре тирозина максимум у 2780 Å также не выявляется и регистрируются только максимумы у 2740 и 2680 Å и также коротковолновый максимум у 2640 Å.

Таким образом, при исследовании спектров тирозина в присутствии гликогена оказалось возможным выявить смещение полосы поглощения у 2780 Å в сторону коротких волн. Величина смещения полосы определяется свойствами гликогена, вероятно, в такой же степени, как это имеет место в системе белок — гликоген. Но выявление коротковолновых полос поглощения, характерных, по видимому, для комплекса тирозин — полисахарид, происходит при других соотношениях аминокислоты и гликогена, чем в первом случае. В комплексе белок — полисахарид тирозин и гликоген находятся в соотношении 1 : 12,5 вес. ч., а в комплексе аминокислота — гликоген на то же количество тирозина приходится вдвое меньшее количество гликогена.

Эти наблюдения и данные, по видимому, указывают на непосредственное участие тирозиновой группы белковой молекулы при взаимодействии последней с молекулой полисахарида. Относительно участия триптофана данных пока не имеется.

Институт биологической и медицинской химии  
Академии медицинских наук СССР

Поступило  
14 V 1949

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> Х. М. Равикович, О. Н. Сеткина и К. Д. Леонтьева, ДАН, 58, № 3 (1947). <sup>2</sup> Е. Л. Розенфельд и Х. М. Равикович, ДАН, 59, № 1 (1948). <sup>3</sup> Х. М. Равикович, О. Н. Сеткина и К. Д. Леонтьева, ДАН, 60, № 6 (1948). <sup>4</sup> Е. Л. Розенфельд, ДАН, 62, № 3 (1948).