

В. С. ШАПOT и В. Л. НЕМЧИНСКАЯ

## ОБ ИСТИННОЙ ПРИРОДЕ ТАК НАЗЫВАЕМЫХ СТРУКТУРНЫХ БЕЛКОВ

(Представлено академиком А. И. Опариным 21 XI 1949)

В 1934—1938 гг. Бенслей <sup>(1)</sup> выделил из печени посредством 10% NaCl прозрачный вязкий гомогенный раствор, из которого при подкислении, а также при диализе выпадал волокнистый белок. По сходству полученного продукта с миозином Бенслей назвал его плазмозином, полагая, что последний происходит из цитоплазмы и определяет способность цитоплазмы к обратимой желатинизации и образованию волокнистых структур.

В 1939—1940 гг. Сент-Дьорди и Банга <sup>(2)</sup> извлекли с помощью раствора Эдзалла (0,6 M KCl с бикарбонатом) и 30% мочевины из животных тканей волокнистые белки, по существу повторяющие свойства плазмозина Бенслей. Исходя из аналогий с миозином, авторы приписали своим препаратам роль основных структурных белков цитоплазмы и назвали их ренозином, гепатозином, соответственно источнику выделения (почки, печень). Представления Сент-Дьорди, связанные с выделенными им «структурными белками», получили широкое распространение и признание, прочно укоренившись как в общебиологической, так и в специальной биохимической литературе (например <sup>(3, 4)</sup>). Эти представления нередко привлекаются для развития сложных теоретических построений в различных областях биологии. Поэтому расшифровка истинной природы так называемых структурных белков представляет несомненный интерес и составила задачу нашего исследования.

Определенное самим Сент-Дьорди отношение азота к фосфору в препаратах структурных белков убедило его в том, что они являются цитоплазматическими нуклеопротеидами. Однако волокнистый характер их, ряд физико-химических свойств (структурная вязкость, растворимость в крепких солевых растворах и осаждение при их разбавлении, отрицательное двоякое лучепреломление в потоке), а также полученная нами положительная реакция Фейльгена указывают на несомненное наличие в этих препаратах ядерных нуклеопротеидов. В этом окончательно убеждают наши опыты с высокоочищенной по Мак-Карти специфической деполимеразой дезоксирибонуклеиновой кислоты. После воздействия этого фермента «структурные белки» печени полностью утрачивают свои характерные свойства (волокнистость, структурная вязкость, способность к переосаждению) точно так же, как это происходит с очищенным ядерным нуклеопротеидом. Когда эти опыты уже были закончены, нам стала известна сводная статья Браше, в которой имеется беглое указание на сходные эксперименты с деполимеразой, произведенные в его лаборатории. К сожалению, сама работа оказалась для нас недоступной.

Однако остался открытым самый важный вопрос, на который ни наши предыдущие опыты, ни работа Браше не дают ответа. Предобра-

зованы ли эти структурные белки в клетке, являются ли они естественными структурными элементами — если не цитоплазмы, то, по крайней мере, ядра? Подойти к этому вопросу нам помог интересный факт, обнаруженный Н. В. Ельциной (5) и затем, независимо, И. И. Ивановым, Б. С. Касавиной и С. И. Пехтеревой (6). Они установили, что структурные белки обладают аденозинтрифосфатазной (АТФ-азной) активностью. Способность структурных белков сохранять АТФ-азную активность после многих переосаждений без снижения ее склоняла авторов к мысли об однородности препаратов (по аналогии с миозином) и о том, что ферментативные свойства присущи самим структурным белкам.

Если основные свойства структурных белков зависят от содержания в них ядерного нуклеопротейда, а с другой стороны, структурные белки тождественны с ферментом АТФ-азой, то следовало ожидать наличие АТФ-азных свойств у самого ядерного нуклеопротейда. Однако опыт показал, что АТФ-азные свойства совершенно не проявляются в очищенном ядерном нуклеопротейде, выделенном по методу Мирского из зубной железы телят и ядерных эритроцитов (гусь, голубь). Вместе с тем соответствующие контроли убеждали, что длительность и характер операций не приводит к инаktivации тканевой АТФ-азы. Следовательно, оставалось предположить способность ядерного нуклеопротейда вступать в относительно прочные комплексы с посторонними цитоплазматическими белками.

В случае основательности этого предположения можно было рассчитывать создать модель «структурного белка», сочетав ядерный нуклеопротейд с «меченым» АТФ-азной активностью белком, наличие которого в препарате обнаруживалось бы по этому отличительному признаку.

Извлеченный физиологическим раствором, отдиализованный и отцентрифугированный печеночный экстракт, содержащий АТФ-азу, смешивался с нуклеопротейдом в молярном солевом растворе. Нуклеопротейд осаждался разбавлением 6 объемами воды и дважды промывался физиологическим раствором, затем снова растворялся. Переосаждение повторялось трижды. В каждом из продуктов трех последовательных переосаждений определялась АТФ-азная активность и белковый азот, так же как и в исходном отдиализованном экстракте. Оказалось, что неактивный нуклеопротейд в результате этих операций приобретает АТФ-азные свойства и удерживает их при трех переосаждениях без какой-либо тенденции к снижению. АТФ-азная активность выражалась в  $Q_p$ , как в (7) (табл. 1).

Таблица 1

Аденозинтрифосфатазная активность, выраженная в  $Q_p$

нуклеогистон	Исходная активность			Активность после комплексирования					
	печеночный экстракт			Число переосаждений					
				1		2		3	
	7 IX	23 VI	4 X	23 VI	4 X	7 IX	23 VI	4 X	7 IX
0	30	22	11	37	40	33	39	36	56

Такое же комплексирование нуклеопротейда нам удалось получить с каталазой из печени и АТФ-азой картофеля, выделенной по Калькару. Очевидно, что в данном случае сохранение ферментативной активности препарата не может служить критерием его однородности. Это становится особенно наглядным в последнем примере, когда ядерный нуклеопр-

теид животного происхождения комплексовался с растительным ферментом.

Мы, однако, еще не считали основным вопросом о предобразованности «структурных белков» окончательно разрешенным на основании опытов с их моделями. Необходимо было выяснить, с какими структурными элементами клетки связана АТФ-азная активность, с ядром или с цитоплазмой, или она свойственна в равной степени тому и другому. С этой целью мы многократно выделяли из животных клеток (печень, зубная железа) чистые ядра различными приемами (с лимонной кислотой по Мирскому, а также с лимоннокислым буфером рН 6,1—6,2). Ни разу нам не удавалось обнаружить в хорошо очищенных от цитоплазмы ядрах следы АТФ-азной активности.

Отсюда приходится заключить, что аденозинтрифосфатаза — фермент чисто цитоплазматического происхождения, а также, что утверждения о существовании водонерастворимой тканевой (но не мышечной) АТФ-азы требуют серьезной проверки.

На основании наших опытов следует считать «структурный белок» не предобразованным, а искусственным продуктом, состоящим как из цитоплазматических, так и ядерных элементов. Физико-химические свойства его обусловлены ядерным нуклеопротеидом, ферментативные же — цитоплазматическими белками.

Это положение можно подкрепить еще следующими фактами.

1) Мы обнаружили, что, наряду с АТФ-азными, «структурные белки» обладают также и каталазными свойствами, удерживая свою каталазную активность без снижения после трех пересаждений (табл. 2). Но, по данным Доунса (8), в ядре нет каталазы, т. е. она также является ферментом цитоплазматического происхождения.

2) Мы произвели детальный анализ структурных белков на содержание в них нуклеиновых кислот, фракционируя фосфорные соединения с помощью комбинированного метода Шмидта, Тангаузера (9) и Шнейдера (10). Определения количества дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) и рибонуклеиновой кислоты (РНК) велись независимо двумя различными методами — по фосфору и специфическими реакциями (Дише и орциноловой). Оба метода дали совпадающие результаты.

Пример. Из общего количества Р нуклеиновых кислот в «структурном белке» печени в 6,8 мг/г на долю Р ДНК пришлось 2,07 мг, а на долю Р РНК 4,62 мг. Следовательно, отношение РНК/ДНК оказалось равным 2,2, т. е. нехарактерным для ядерных элементов и вместе с тем совершенно исключаящим цитоплазматическое происхождение структурного белка, ибо ДНК в цитоплазме вообще никогда не была найдена.

У нас есть основания полагать, что рибонуклеопротеиды, найденные в «структурном белке», принадлежат митохондриям, прочно комплексировавшимся с ядерным нуклеопротеидом.

Из всех наших опытов вытекает один методический принцип, существенный, как нам кажется, для экспериментальных исследований в области структурных белков: невозможно выделить индивидуальные белки, так же как и некоторые другие компоненты клеточных структур, в неизменном виде, если исходить из разрушенной клетки, из «гомогената» в целом. Для выделения структурных белков, действительно пред-

Таблица 2

Каталазная активность структурных белков, выраженная в  $Q_{O_2}$

Исходная активность	Активность после пересаждений		
	Число пересаждений		
	1	2	3
106	2686	2708	2772

образованных в клетке, необходимо сперва изолировать сами внутриклеточные структуры (ядра, митохондрии, микросомы и т. п.), а затем уже изолировать индивидуальные белки, входящие в их состав. Этот принцип совпадает с соответствующим тезисом, выдвинутым И. Б. Збарским<sup>(11)</sup>. Такой же подход следует сохранить и при изучении ферментов, ибо выделение последних из целой клетки может привести к ошибочным выводам относительно существования в одной и той же клетке ферментов однозначной функции, но различной белковой природы.

Институт экспериментальной медицины  
Академии медицинских наук СССР

Поступило  
18 VII 1949

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> R. Bensley and N. Hoerr, *Anat. Rec.*, **60**, 251, 449 (1934); R. Bensley, *ibid.*, **72**, 351 (1938). <sup>2</sup> J. Varga and Scent-Gyorgyi, *Enzymologia*, **9**, 111 (1940); см. также Сент-Дьорди, О мышечной деятельности, 1947. <sup>3</sup> Б. В. Кедровский, Белковая структура клеточного тела, 1946. <sup>4</sup> F. Schmitt, *Advances in Protein Chemistry*, **1**, 26 (1944). <sup>5</sup> Н. В. Ельцина, *Биохимия*, **13**, 35 (1948). <sup>6</sup> И. И. Иванов, Б. С. Касавина и С. И. Пехтерева, *Биохимия*, **13**, 310 (1948). <sup>7</sup> М. Н. Любимова и В. А. Энгельгардт, *Биохимия*, **4**, 716 (1939). <sup>8</sup> A. Dounce, *Journ. Biol. Chem.*, **147**, 685 (1943). <sup>9</sup> D. Schmidt and S. Thannhauser, *ibid.*, **161**, 84 (1945). <sup>10</sup> W. Schneider, *ibid.*, **164**, 747 (1946). <sup>11</sup> И. Б. Збарский, Доклад на 2-й сессии ОМБН АМН СССР (1949).