

С. Е. МАНОЙЛОВ и Л. Ф. СЕМЕНОВ

ИНАКТИВАЦИЯ РЕНТГЕНОВЫМИ ЛУЧАМИ ДЕПОЛИМЕРАЗЫ ДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ

(Представлено академиком А. И. Опариным 10 I 1950)

В процессе ведущегося в нашей лаборатории систематического изучения нуклеопротейдов нормальных и злокачественных тканей (¹, ²) и действия на них терапевтических агентов, в первую очередь рентгеновых лучей, возник вопрос о влиянии лучистой энергии на ферменты, участвующие в нуклеопротейдном обмене. В более старых работах исследователи считали, что даже большие дозы рентгеновых лучей не оказывают никакого действия на ферменты. В то же время имеется ряд исследований (⁴, ⁵), в которых обнаружено инактивирующее действие лучистой энергии на протеолитические ферменты (трипсин, пепсин, карбоксипептидаза). Оказалось, что сравнительно небольшие дозы рентгеновых лучей снижают ферментативную активность этих энзимов. Отрицательные результаты первых работ, повидимому, объясняются тем, что авторы, исследовавшие этот вопрос, работали не с чистыми препаратами ферментов.

Когда уже была закончена экспериментальная часть нашей работы, в печати появилось сообщение (⁵), в котором приводится список ферментов, инактивирующихся под действием различных (не превышающих 5000 г) доз рентгеновых лучей. Интересно отметить тот факт, что ферменты, содержащие сульфгидрильную группу, по данным Баррон и соавторов, более чувствительны к рентгеновым лучам, чем ферменты, не содержащие этой группы.

Задачей настоящей работы было изучить действие рентгеновых лучей на фермент деполимеразу дезоксирибонуклеиновой кислоты (тимодеполимеразу), играющий большую роль в нуклеопротейдном обмене.

Опыты ставились следующим образом: фермент в разведении 1 мг на 200 мл дистиллированной воды разливался в чашки Петри высотой 20 мм, которые помещались в кристаллизатор, наполненный крошеным льдом. Раствор освещался на расстоянии 23—50 см от антикатаода. Экспозиция варьировала от 20 мин. до 2 час. Освещение производилось аппаратом стабиливольт. Напряжение 155 кв, 4 ма. Фильтры 0,5 мм меди + 3 мм алюминия, либо без фильтров (при больших дозах). Облучение производилось дозами: 250, 750, 1000, 3000, 6500, 10000 и 11400 г. Активность фермента определялась по изменению вязкости полимерной тимонуклеиновой кислоты. Деполимераза дезоксирибонуклеиновой кислоты получена по способу Мак-Карти и любезно предоставлена нам В. С. Шапот и В. Л. Немчинской*.

* Пользуемся случаем принести В. С. Шапот и В. Л. Немчинской нашу искреннюю благодарность.

Полимерная нуклеиновая кислота была получена различными способами (Гаммерстон, Халланд, в модификации Шапот и Немчинской). Относительная вязкость определялась в вискозиметре Оствальда. Полимерная нуклеиновая кислота бралась в концентрациях от 0,05 до 0,5%. Фермент добавлялся к субстрату в количестве 0,66 $\mu\text{г}$, а в некоторых случаях 1,32 $\mu\text{г}$. Ферментативная реакция протекала в боратном буфере рН 7,4 при 30°. В качестве активатора фермента употреблялся 0,15 М MgCl_2 . Определение относительной вязкости производилось через каждые 5 мин. В контрольных опытах брались:

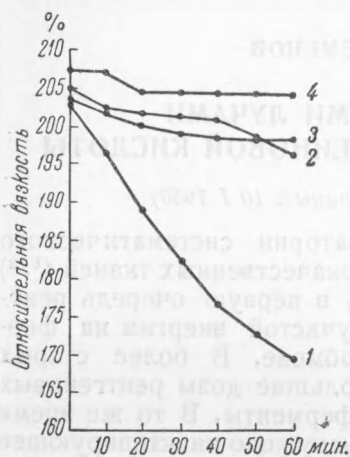


Рис. 1. Изменение относительной вязкости полимерной дезоксирибонуклеиновой кислоты под действием неосвещенного и освещенного различными дозами фермента: 1—неосвещенный фермент; 2—фермент, освещенный 1000 г; 3—3000 г; 4—11400 г

одна нуклеиновая кислота, нуклеиновая кислота с 0,15 М MgCl_2 , нуклеиновая кислота с добавлением облученной воды. Во всех этих контрольных опытах в течение 1 часа вязкость нуклеиновой кислоты не снижалась, за исключением опыта с 0,15 М MgCl_2 , в котором вязкость нуклеиновой кислоты сразу же после добавления MgCl_2 падала на определенный процент и в дальнейшем уже не изменялась. Это нами учитывалось при расчете относительной вязкости в опытных пробах.

На рис. 1 приведены кривые изменения относительной вязкости нуклеиновой кислоты под действием необлученного и облученного различными дозами фермента. Как видно из рис. 1, уже доза в 1000 г значительно снижает активность фермента, а доза в 11400 г почти полностью инактивирует его.

В опыте, где к нуклеиновой кислоте с добавленным освещенным ферментом прибавлялся неосвещенный фермент, изменение относительной вязкости нуклеиновой кислоты соответствовало контрольному опыту.

Результаты опытов показали следующее снижение относительной вязкости полимерной нуклеиновой кислоты за 60 мин. по отношению к неосвещенному ферменту. Фермент, освещенный 11 400 г, оказался практически полностью инактивирован (снижение активности на 93,6%); доза в 3000 г снизила активность на 80%; доза в 1000 г—на 66%, доза в 750 г—на 15%, а доза в 250 г не оказала никакого действия.

Исходя из выводов Баррон и соавторов о большей чувствительности к рентгеновым лучам ферментов, содержащих сульфгидрильную группу, нами было сделано предположение о возможности задержания этой группы в ферменте деполимеразе дезоксирибонуклеиновой кислоты. Действительно, это предположение подтвердилось: качественная проба Фоля на сульфгидрильную группу дала положительную реакцию.

Приведенный материал свидетельствует об инактивирующем действии рентгеновых лучей на фермент деполимеразу дезоксирибонуклеиновой кислоты. Критическая доза лежит в пределах от 750 до 1000 г.

Центральный рентгенологический,
радиологический и раковый институт
Ленинград

Поступило
15 VIII 1949

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Л. Ф. Ларионов, Тр. 4-й сессии АМН, Л., 1948, стр. 143. ² С. Е. Манойлов, Б. А. Орлов и О. Н. Сеткина, Биохимия, 13, 337 (1948). ³ J. Northrop, Journ. Gen. Physiol., 17, 359 (1934). ⁴ W. Dale, Brit. Journ. Radiology, 16, 186 (1943). ⁵ G. Barron, S. Dickman, J. Muntz and T. Singer, Journ. Gen. Physiol., 33, 537 (1949).