

А. ПАСЫНСКИЙ и В. БЛОХИНА

ДЕФОРМАЦИЯ БЕЛКОВ КЕРАТИНОВО-МИОЗИНОВОЙ ГРУППЫ В РАСТВОРАХ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

(Представлено академиком А. И. Опариным 13 V 1950)

К белкам кератиново-миозиновой группы принадлежат такие важные белки, как фиброин шелка, кератин волоса, шерсти и сухожилий, фибриноген и фибрин крови, миозин мышц и др. Все эти белки, несмотря на различия их аминокислотного состава, характеризуются общим типом молекулярного строения, образуя плотную пространственную сетку нитевидных молекул с разнообразными поперечными связями различной прочности (например, ковалентные дисульфидные связи, водородные, солеобразные связи и др.). В результате система в целом представляет собою высококонцентрированный белковый студень с ясно выраженным застеклованием структуры, деформация которой определяется, главным образом, преодолением сил межмолекулярного сцепления и сопровождается появлением температурной и механической релаксации. Отношение площади петли гистерезиса к работе растяжения при определении кривых деформации может служить мерой релаксационных свойств системы.

Изменяя состав внешней среды, можно двояким образом уменьшить число узлов сетки в белковом студне: 1) ослабить взаимодействие участков цепей между собою при сохранении фиксированного положения молекулярных цепей — в этом случае произойдет ослабление релаксационных свойств системы и, в соответствующей мере, появление высокоэластических свойств; 2) разорвать ковалентные связи между молекулами и предоставить им возможность взаимного перемещения — в этом случае произойдет усиление релаксационных свойств системы. Действительно, изучая деформацию кератина волоса и шерсти в воде, в буферном растворе, в растворе мочевины, детергентов или гидросульфита натрия, можно соответственно изменять участие в процессах деформации различных типов связей: солеобразных, водородных, неполярных или ковалентных дисульфидных связей. Благодаря изменению подвижности и гибкости участков цепей молекул одновременно должно произойти изменение относительной роли энергетического и энтропийного членов в деформации. В настоящей работе мы провели исследование указанных вопросов на примере кератина шерсти, кератина волоса и белков мышц.

Растяжение изучаемых волокон производилось на приборе, представляющем видоизмененные аналитические весы, одна чашка которых была заменена компенсирующим грузом, с приспособлением для растяжения волокон в различных растворах в термостатных условиях. Напряжение нити или мышцы при данном растяжении измерялось наполовину части релаксационной кривой по уравнивающей нагрузке на

второй чашке весов. Площадь кривых растяжения (до относительного удлинения 30%) и разгрузки волокон определялась при помощи планметра после пересчета на постоянное сечение волокна; затем вычислялась относительная доля площади петли гистерезиса в работе растяжения (подробности нашей методики измерений и расчетов будут опубликованы в другом месте). Результаты, полученные для кератина шерсти и волоса при 22°, приведены в табл. 1, где работа растяжения волокна в воде принята за единицу.

Таблица 1

Площади деформации кератина шерсти и волоса в различных растворах при 22° (в относит. единицах)

№ пп.	Р а с т в о р	Кератин шерсти		Кератин волоса	
		работа растяжения	петля гистерезиса (в % от площади растяж.)	работа растяжения	петля гистерезиса (в % от площади растяж.)
1	Вода	1,0	45,0	1,0	39,0
2	Ацетатный буфер 0,15 М (рН = 4,1)	0,85	36,0	0,95	31,0
3	Мочевина 5 М	0,83	43,6	0,80	34,5
4	Гуанидин-нитрат 14 % . .	0,78	26,5	0,82	32,5
5	Уретан 1 М	0,93	40,5	0,91	38,2
6	Сульфано 1%	0,93	43,1	0,92	34,0
7	Игепон 1 %	0,89	41,5	0,91	34,2
8	Гидросульфит натрия 3% (рН = 4,1)	0,53	67,9	0,50	44,7

Аналогичные данные были получены при 40°. Из табл. 1 видно, что все испытанные вещества вызывают понижение работы растяжения волокон и что одновременно все они, за исключением гидросульфита натрия, уменьшают площадь петли гистерезиса. Действие этих веществ (пп. 2—7 табл. 1) соответствует первому указанному выше типу изменения кривых деформации, когда ослабляются различные связи между отдельными участками полипептидных цепей (солевые связи — п. 2; водородные связи — пп. 3—7; неполярные связи — пп. 6—7) при сохранении сетки ковалентных связей между этими цепями. Наоборот, в растворах гидросульфита натрия (п. 8), где происходит разрыв дисульфидных связей и освобождение цепей, работа растяжения волокна падает особенно сильно, но одновременно значительно возрастает доля площади петли гистерезиса (соответственно второму типу изменения кривых деформации).

Дальнейшие опыты были нами проведены на белках мышцы (sartorius задней ноги крысы) с целью сопоставления явлений, наблюдаемых при деформации обеих групп объектов. Ввиду разнообразия белков, образующих мышцу, и сложности ее структуры, имеющей несомненное значение для процессов деформации, мы считали более целесообразным проведение опытов на целой мышце, а не на выделенных из нее изолированных белках. Работа проводилась со свежепрепарированными мышцами в течение первых нескольких часов после препарирования мышцы, когда заметных посмертных аномалий в поведении

мышцы не наблюдалось. В физиологическом растворе (0,9% NaCl) после растяжения на 30% и снятия нагрузки длина образцов в течение 3—4 часов возвращалась практически к исходной величине (в пределах 2—3%). В растворах мочевины (5 М) и аденозинтрифосфорной кислоты — АТФ (0,25%) работа растяжения составляла лишь 0,75—0,80 от той же величины для физиологического раствора, а после снятия нагрузки даже через 3—4 часа оставалось значительное остаточное удлинение (16—17%); таким образом, при данном соотношении концентраций между обоими препаратами не наблюдалось существенных различий. Однако, когда в момент снятия нагрузки испытуемый раствор был заменен физиологическим раствором, то после 0,25% АТФ мышца сократилась в физиологическом растворе почти до исходной величины, а после замены 5 М мочевины физиологическим раствором остаточное удлинение осталось значительным. Повидимому, оба вещества оказывают сильное расслабляющее действие на мышцу, но после замены внешнего раствора физиологическим в случае АТФ происходит ферментативное расщепление оставшегося в мышце количества АТФ, вследствие чего мышца получает возможность сокращения, а после мочевины количество последней в мышце остается постоянным и мышца остается расслабленной.

Доля кажущейся петли гистерезиса в работе растяжения составляет в физиологическом растворе 52%, а в растворах мочевины и АТФ 67—74%. В соответствии с результатами, полученными для кератина волоса или шерсти, сочетание уменьшения величины работы растяжения и относительного увеличения петли гистерезиса указывает, что в растворах мочевины и АТФ происходит не просто ослабление межмолекулярных связей, но и прямой распад сетки связей, при котором либо в известной мере происходит освобождение молекулярных цепей, либо, быть может, даже их дезагрегация, в смысле теории Сент-Джорджи.

Изменение числа и прочности межмолекулярных связей существенным образом изменяет внутренний механизм явлений деформации. При нормальной структуре кератина волоса и шерсти в виде плотной сетки межмолекулярных связей, гибкость отдельных участков цепей сильно ограничена и эластичность волокон обусловлена, главным образом, внутренней энергией, тогда как энтропийные изменения определяют не более 10—15% работы деформации. Однако, известно, что при разрыве дисульфидных связей в кератине действием горячей воды или особенно пара (что приводит к сверхсокращению волокна) энтропийный эффект приобретает большее значение. При значительном освобождении цепей, например при сверхсокращении волокна шерсти на 20—40%, деформация уже, главным образом, имеет, энтропийный характер, т. е. почти целиком обусловлена возросшей гибкостью полипептидных цепей ⁽¹⁾..

Представляло интерес изучить изменение механизма деформации волокон в наших опытах, в которых ослабление межмолекулярного взаимодействия достигалось действием различных органических веществ. Изучение температурной зависимости напряжения волокон $(\partial F / \partial T)_L$ в интервале 15—60° позволило нам рассчитать по уравнению Виганда — Снидера ⁽²⁾ (подробнее см. ⁽¹⁾) долю энтропийного члена F_s в работе деформации. Оказалось, что для кератина волоса доля F_s составляет: в воде 11,90%, в 5 М мочеvine 14,00%, в 3% растворе гидросульфита натрия 21,20%, а для кератина шерсти в последнем растворе доля F_s составляет 34,0%. Таким образом, по мере освобождения отдельных участков цепей (в 5 М мочеvine) и молекул в целом (в 3% $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$) роль энтропийного фактора в деформации значительно возрастает. На мышце эти измерения были проведены нами в более узком температурном интервале 15—40°, в 5 М мочеvine и в 0,25% АТФ, причем было показано, что в этих растворах доля энтропийного члена в деформации

мышцы довольно значительна (не ниже 30—40%). Повидимому, представления Астбюри ⁽³⁾ о чисто энергетическом механизме мышечной деформации являются неправильными, что подтверждается и последними рентгенографическими данными ⁽⁴⁾.

Авторы приносят глубокую благодарность М. Н. Любимовой за предоставление препарата АТФ и совместное обсуждение вопросов мышечной деформации.

Институт биохимии им. А. Н. Баха
Академии наук СССР

Поступило
6 V 1950

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ H. Woods, Nature, **157**, 229 (1946). ² W. Wiegand and J. Snyder, Rubber Chem. Technol., **8**, 154 (1935). ³ W. Astbury, Proc. Roy. Soc., B, **134**, 303 (1947). ⁴ Г. Франк, Б. Лемажихин и В. Касаточкин, ДАН, **70**, 613 (1950).