

БИОХИМИЯ

Е. Л. РОЗЕНФЕЛЬД и А. Н. ПЕТРОВА

**О ПРЕВРАЩЕНИИ МЫШЕЧНОЙ ФОСФОРОЛАЗЫ ФОРМЫ Б
В ФОСФОРОЛАЗУ ФОРМЫ А**

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

В настоящее время известно, что многие ферменты обладают обратимым действием. Изучая особенности тех или иных ферментативных систем, чрезвычайно важно знать условия, определяющие течение ферментативных реакций в том или ином направлении.

В 1943 г. Кори и его сотрудники ⁽¹⁾ показали, что фосфоролаза в мышцах бывает в двух формах: в форме А и в форме Б. Последняя, в отличие от формы А, требует в качестве активатора адениловую кислоту. Фосфоролаза А активируется рядом восстановителей, как цистеин, глютатион, KCN, H₂S. Теми же исследователями было показано, что переход фосфоролазы формы А в форму Б происходит с помощью особого фермента — PR-энзима. Указаний относительно возможности обратимого действия PR-энзима и перехода фосфоролазы формы Б в фосфоролазу формы А в доступной нам литературе не имеется.

В настоящем сообщении излагаются данные о превращении фосфоролазы формы Б в фосфоролазу формы А.

Разрабатывая метод получения высокоочищенной фосфоролазы мышц ^(2, 3), мы наблюдали, что при разных условиях опыта получаемые нами препараты фосфоролазы содержали только фосфоролазу формы А. Так, например, проводя весь опыт не на холода, как это обычно принято, а при комнатной температуре, мы всегда получали препараты фосфоролазы формы А.

Между тем Кори указывает, что при этой температуре имеет место переход фосфоролазы формы А в форму Б.

Наши исследования показали, что наблюдаемый нами переход фосфоролазы формы Б в форму А происходит в условиях щелочной среды. Так, недиализированные, автолизированные экстракты мышц, содержащие фосфоролазу формы Б, активируемую адениловой кислотой, после подщелачивания до рН 8,5—8,7 обнаруживают свойства фосфоролазы формы А, которая активируется цистеином.

Опыты проводились нами следующим образом. Мышечные экстракты, полученные после двухкратного экстрагирования мышц водой, оставлялись при комнатной температуре на 1—2 суток. Затем часть экстрактов подщелачивалась аммиачной водой до рН 8,3—8,6 и подвергалась исследованию наряду с исходным экстрактом. Часть опытов проводилась с экстрактами сразу же после их приготовления, другая часть — с экстрактами, стоявшими длительное время (3—4 недели) в рефрижераторе.

Данные исследования приводятся в табл. 1.

Таблица 1

Фосфоролитическое действие мышечных экстрактов до и после подщелачивания (убыль фосфора в γ на 1 мг) (К — исходный экстракт, автолизированный при pH 6,0—6,3; Щ — тот же экстракт, подщелоченный за 1 час до опыта до pH 8,3—8,6. Инкубационные смеси: Щ и К — 2 мл экстракта + 10 мг гликогена + 0,3 мл фосfatного буфера M/3 + 0,7 мл воды; ЩЦ и КЦ — то же + 10 мг цистеина; Ща и Ка — то же, что и Щ и К + 2 мг адениловой кислоты. Инкубация в течение 30 мин. при 37°, pH 6,8—7,0)

Исследование сразу после приготовления экстракта				Исследование после 3 недель стояния на холоду			
Опыт 1		Опыт 2					
Ка 350	КЦ 343	К 125	КЦ 125	К 25	Ка 300	КЦ 50	
Ща 250	ЩЦ 412	Щ 88	ЩЦ 375	Щ 0	Ща 0	ЩЦ 263	

Из данных табл. 1 следует, что автолизированные мышечные экстракты, обладающие способностью активироваться адениловой кислотой, после подщелачивания приобретают свойство активироваться цистеином.

Так, в опыте 1 прибавление цистеина к кислому экстракту не изменяет его фосфоролитической активности. Убыль фосфора при прибавлении адениловой кислоты и цистеина одна и та же (343—350 γ). После подщелачивания фосфоролитическая активность того же экстракта в присутствии цистеина стала значительно выше, чем при прибавлении адениловой кислоты (412 и 250 γ).

В опыте 2 исследовалось лишь действие цистеина. В исходном экстракте фосфоролитическое действие в присутствии и отсутствие цистеина было одно и то же (125 и 125 γ). Это указывало на то, что в свежеприготовленных экстрактах сохранилась, повидимому, адениловая кислота, которая активировала фосфоролазу. Отсутствие эффекта от прибавления цистеина указывало на то, что в этом экстракте содержалась фосфоролаза формы Б.

Другая картина наблюдалась после подщелачивания этого экстракта. Прибавление цистеина сильно активировало фосфоролитическую активность экстракта (88 и 375 γ), что указывало на то, что подщелоченный экстракт содержит фосфоролазу формы А.

Еще ярче эффект от подщелачивания проявлялся в экстракте, длительно (22 дня) сохранявшемся в рефрижераторе. Так, исходный экстракт обладал большой фосфоролитической активностью в присутствии адениловой кислоты (300 γ) и почти не оказывал фосфоролитического действия в присутствии цистеина ($\sim 0 \gamma$). После подщелачивания характер фосфоролитической активности экстракта резко изменился: в присутствии адениловой кислоты активность его равнялась нулю, в то время как при прибавлении цистеина наблюдался значительный фосфоролиз (263 γ).

Наиболее яркий эффект от подщелачивания, наблюдаемый при исследовании длительно стоявшего экстракта (по сравнению со свежим экстрактом), мы объясняем следующим обстоятельством: повидимому, в экстракте, содержащем лишь форму Б, была разрушена при стоянии адениловая кислота, вследствие чего экстракт без добавления активаторов не обладал фосфоролитическим действием, в отличие от опыта 2 (К и Щ). Прибавление активаторов — адениловой кислоты к кислому экстракту и цистеина к щелочному — вызывало значительный и примерно одинаковый фосфоролитический эффект.

Последний опыт, как и предыдущие, свидетельствует о содержании в кислом экстракте фосфоролазы формы Б, а в подщелоченном — фосфоролазы формы А.

Повидимому, при подщелачивании кислых автолизированных экстрактов имеет место переход фосфоролазы формы Б в фосфоролазу формы А. Таким образом, возможен, повидимому, переход не только фосфоролазы формы А в форму Б, но и обратно — формы Б в форму А.

Вопрос о том, является ли этот процесс энзиматическим, вызванным, быть может, обратимым действием PR-энзима, или же характер процесса перехода фосфоролазы формы Б в форму А совершенно иной, явится предметом наших дальнейших исследований.

Лаборатория физиологической химии
Академии наук СССР

Поступило
7 VII 1950

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ G. Cogⁱ and C. Cogⁱ, Journ. Biol. Chem., 151, 39 (1943). ² А. Н. Петрова, Е. Л. Розенфельд, Л. Б. Лебедева и Л. Н. Спицина, ДАН, 66, № 6 (1949).

³ А. Н. Петрова и Е. Л. Розенфельд, Биохимия, № 4 (1950).

Л€