

В. И. ВОРОБЬЕВ и В. С. ШАПОВ

## О БИОХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРАХ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИХ МЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ И ТКАНЕВЫХ СТРУКТУР

(Представлено академиком А. И. Опариным 8 I 1951)

Давно известны факты, указывающие на эластические свойства протоплазмы и, в частности, клеточного ядра. Однако до сих пор неясно, за счет каких химических соединений эти свойства возникают. Поэтому представляло интерес исследование физико-механических свойств биологических полимеров — дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) и ее нуклеопротеидов, являющихся основой ядерной структуры, а также гиалуроновой кислоты и ее белковых производных — компонентов основного межклеточного вещества соединительной ткани. Именно в этих высокомолекулярных соединениях линейного типа следовало ожидать наличия эластических свойств.

Мы изучали механические свойства: 1) свободной высокополимерной ДНК, полученной из зубной железы телят по методу Гуланда с модификациями (1); 2) тимо-нуклеогистона (ТНГ); 3) «синтетических» нуклеопротеидов, приготовленных: а) из ДНК и гистона и б) из ДНК и ее специфической деполимеразы (2); 4) высокополимерной гиалуроновой кислоты (ГУК), полученной по (3).

Гистон выделяли из изолированных ядер зубной железы телят при рН 6,0—6,2, причем препарат содержал не более 0,01—0,02% фосфора. Он не обнаруживал фибриллярных свойств, его раствор не обладал вязкостью и, в противоположность данным И. Б. Збарского и К. А. Перевощиковой (4), нитей из него получить не удавалось. Результаты этих авторов могут объясняться относительно высоким содержанием в их препарате гистона фосфора (0,2%), который может происходить только за счет примеси ДНК (до 2%). В самом деле, при искусственном повышении содержания фосфора в нашем препарате гистона до 0,2% путем добавления полимерной ДНК можно, действительно, из такого продукта получить нити. Деполимераза ДНК добывалась из поджелудочной железы (5).

Механические свойства всех высокомолекулярных веществ при данной температуре обуславливаются соотношением между гибкостью цепных молекул полимера и интенсивностью межмолекулярных сил. Взаимодействующие полярные группы, регулярно расположенные вдоль оси полимера, уменьшают гибкость его цепей. Это характерно для волокнистых веществ, каковыми являются ДНК, дезоксирибонуклеопротеиды и ГУК в сухом состоянии. Большая гибкость цепных молекул и ослабление межмолекулярных сил определяют возникновение новых эластических свойств у тех же веществ в случае приготовления из них нитей путем выдавливания их растворов через шприц в среду, в которой они (вещества) нерастворимы. Нити представляют собою совокупность цепных мо-

лекул полимеров, имеющих преимущественную ориентацию вдоль оси нити и окруженных низкомолекулярными веществами среды. Такие нити проявляют эластические и пластические свойства благодаря проникновению низкомолекулярных веществ (вода, спирт) из среды между цепями полимера, что приводит к значительному ослаблению межмолекулярного взаимодействия.

Простым опытом можно продемонстрировать, какое существенное влияние оказывает ориентация цепей линейного полимера на сам процесс формирования нити, поскольку ориентация способствует резкому понижению растворимости этого полимера. В нашей лаборатории было ранее обнаружено (<sup>1</sup>), что полимерная ДНК, переосажденная несколько раз этиловым спиртом, приобретает неожиданные свойства — растворимость в этиловом спирте с образованием вязкого спиртового раствора. Если же быстро выдуть через тонкий капилляр водный раствор такой ДНК (0,2%) в 85% спирт, то ДНК выпадает в осадок в виде нитей, не растворяющихся при перемешивании.

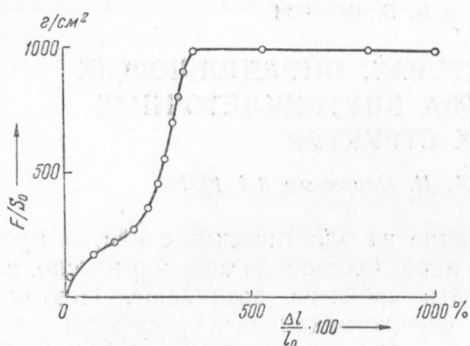


Рис. 1. Деформация нити дезоксирибонуклеиновой кислоты.  $F$  — нагрузка;  $S_0$  — площадь поперечного сечения в начальный момент;  $\Delta l/l_0 \cdot 100$  — относительная деформация в %.

внутриклеточной среде. Примером подобного явления можно было бы считать существование ядерной оболочки, где силами поверхностного натяжения происходит ориентация цепных молекул нуклеопротейда.

Для работы нами были выбраны наиболее удобный стандартный режим приготовления нитей (скорость выдавливания растворов 1 мл за 15 сек.) и определенное время выдерживания нити в среде перед испытанием (40 мин.). Использовались нити 0,9—1,2 мм длины и 0,1 мм толщины.

Механические свойства нитей ДНК и гиалуроновой кислоты изучались в водно-спиртовой смеси (3:7), а механические свойства ТНГ, «синтетического» нуклеогистона и нуклеопротейда из ДНК и ее специфической деполимеразы — как в водно-спиртовой смеси (3:7), так и в воде и в физиологическом растворе (0,14 М NaCl). Нити «деполимеразного» нуклеопротейда готовились выдавливанием ДНК в водный раствор ее специфической деполимеразы, не содержащий активатора ферментативной реакции — ионов  $Mg^{++}$ . Приготовленные нити переносились в воду, водно-спиртовую смесь или физиологический раствор. Принципиальных различий в механических свойствах нуклеопротейдов при параллельном испытании их в этих жидкостях не обнаруживается.

Деформация полученных нитей производилась с помощью простого приспособления. Один конец нити прикреплялся к торсионным весам, а другой — к пластине, которая передвигалась с помощью кремальеры. Нить помещалась в стеклянную кювету со средой. За деформацией нити следили через бинокулярную лупу с окулярным микрометром. Температура опытов 16—17°.

В изучаемых полимерах следовало предполагать наличие двух типов деформаций, которые могли бы развиваться одновременно: 1) высокоэластической, связанной с изменением формы цепной молекулы, и 2) де-

формации вязкого течения, связанной с взаимным перемещением цепных молекул в целом и являющейся необратимой. Эти деформации изучались нами в широком интервале напряжений от очень малых напряжений до таких, которые приводят к разрыву нити.

Рассматривая полученные данные, мы видим отчетливую разницу в механических свойствах свободной ДНК и нуклеопротенидов. В то время как для ДНК в особенности характерно увеличение деформации во времени под действием постоянной нагрузки за 60—90 сек. до 1000%, т. е. явление течения (см. рис. 1), у всех исследованных нуклеопротенидов такой деформации не наблюдалось.

Следует добавить, что прочность на разрыв нитей нуклеогистона в 2—2,5 раза выше таковой свободной ДНК (например, соответственно, 8 кг/см<sup>2</sup> против 3 кг/см<sup>2</sup>).

Различие в механических свойствах свободной ДНК и нуклеопротенидов объясняется, видимо, тем, что нити, полученные из последних, состоят из двух различных типов макромолекул, причем белок «сшивает» отдельные цепи ДНК с помощью своих боковых цепей, препятствуя взаимному перемещению макромолекул вдоль оси нити, т. е. деформации вязкого течения. Получается трехмерная структура из двух полимеров различного типа, причем поперечные связи между цепями, в отличие от хорошо известных трехмерных полимеров типа вулканизированного каучука, не имеют ковалентного характера.

Но различие в механических свойствах простирается и дальше: ДНК в условиях наших опытов почти не обладает эластичностью, в то время как ядерный нуклеопротенид и «синтетический» нуклеогистон обладают отчетливой эластичностью (см. рис. 2). Возникновение нового свойства — эластичности при соединении линейного полимера с белком — явление большого биологического значения. Оно, повидимому, обусловлено тем, что возникающие между отдельными цепными молекулами поперечные связи фиксируют цепи не на всем их протяжении, а в отдельных периодически повторяющихся пунктах, тем самым затрудняя передвижение отдельных цепей относительно друг друга (т. е. вязкое течение), но не препятствуя подвижности звеньев между отдельными поперечными связями.

Если бы поперечные связи были жестче или их приходилось на единицу длины цепи больше, чем в случае рассмотренных нуклеопротенидов, то можно было бы ожидать, что такой полимер должен утрачивать, наряду со способностью к вязкому течению, и эластичность, как ее теряет сильно вулканизированный каучук. Деформация такого полимера объяснялась бы постепенным разрывом поперечных связей. Действительно, такую картину (см. рис. 3) мы наблюдаем в случае фермент-субстратного соединения ДНК с ее деполимеразой.

Таким образом, сравнение механических свойств двух типов нуклеопротенидов приводит к заключению о различиях в характере связи белка

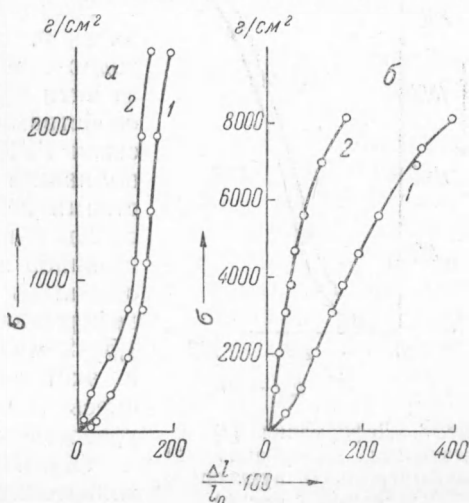


Рис. 2. Кривые 1 изображают деформацию свободной ДНК (а) и нуклеогистона (б), кривые 2 — остаточную деформацию через 30 сек. после снятия нагрузок. Расхождение кривых на рис. б указывает на наличие эластичности в нуклеогистоне.  $\sigma$  — напряжение, т. е. отношение нагрузки к площади поперечного сечения в данный момент

с ДНК в этих нуклеопротеидах. Для фермент-субстратного нуклеопротеида, как это видно из наших данных, характерна большая жесткость связи белка с ДНК, чем для ТНГ и «синтетического» нуклеогистона. Это наблюдение согласуется с известным фактом существования двух различных типов дезоксирибонуклеопротеидов (Белозерский).

Изучение механических свойств нуклеопротеидов, в особенности «синтетических» нуклеопротеидов из ДНК и гистона, из ДНК и ее деполимеразы, наряду с самим фактом образования нитей из этих веществ, подкрепляет представление о превращении глобулярных белков в фибриллярные после их соединения с ДНК (<sup>6, 7</sup>).

Описанный метод исследования механических свойств нитей был применен далее для выяснения спорного вопроса о том, связана ли гиалуроновая кислота (ГУК) с белками в межклеточном веществе или она находится там в свободном состоянии.

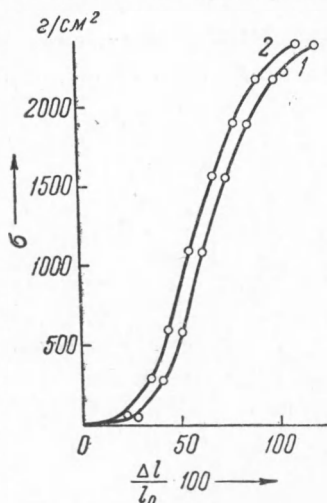


Рис. 3. Деформация (1) и остаточная деформация (2) деполимеразного нуклеопротеида (ср. с рис. 2)

Экстракт (0,14 М NaCl) из пупочных канатиков, содержащий ГУК, выдавливался в водно-спиртовую смесь (3:7). Образовавшиеся нити обладали выраженными эластическими свойствами. Это указывает на наличие в нитях связи ГУК с белком, так как свободная ГУК, по нашим наблюдениям, эластическими свойствами не обладает и, аналогично ДНК, способна к вязкому течению под действием постоянной нагрузки. Но в то же время эти нити оказались способными подвергаться и сильной деформации вязкого течения до 600—800% за 1,5—2 мин., что заставляет предположить, что в экстракте пупочного канатика находится смесь гиалуронпротеида со свободной гиалуроновой кислотой.

Таким образом, в результате изучения механических свойств рассмотренных биологических высокомолекулярных веществ мы вправе заключить, что эластические свойства ядерных структур и межклеточного вещества могут обуславливаться, соответственно, дезоксирибонуклеопротеидами и белковыми соединениями гиалуроновой кислоты.

Институт экспериментальной медицины  
Академии медицинских наук СССР

Поступило  
19 XII 1950

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> В. Немчинская, Биохимия, 15, № 6 (1950). <sup>2</sup> В. Шапот, Сборн. Усп. биол. хим., 1, 1950. <sup>3</sup> В. Шапот и Л. Коган, ДАН, 70, 1041 (1950). <sup>4</sup> И. Эбарский и К. Перевощикова, ДАН, 60, 77 (1948). <sup>5</sup> M. Carty, Journ. Gen. Physiol., 29, 123 (1946). <sup>6</sup> W. Astbury, Symp. Soc. Quant. Biol., No. 1, 66 (1947). <sup>7</sup> В. Крюков, Изв. АН СССР, сер. биол., № 5, 110 (1950).