

И. И. ИВАНОВ и Т. И. ИВАНОВА

О ДЕЙСТВИИ ВЫСОКОГО ДАВЛЕНИЯ НА МИОЗИН И ВОДОРАСТВОРИМУЮ АДЕНОЗИНТРИФОСФАТАЗУ

(Представлено академиком А. В. Палладиным 25 I 1951)

В последнее время значительное внимание уделяется вопросу о характере связи между «структурными» белками и их ферментативной, в частности, аденозинтрифосфатазной активностью. Неоднократно предпринимались попытки доказать, что АТФ-азная активность сократительного белка мышц — миозина, вопреки данным В. А. Энгельгардта и М. Н. Любимовой⁽¹⁾, является следствием адсорбции на энзиматически неактивном белке водорастворимой АТФ-азы^(2, 3).

Однако монодисперсность кристаллического миозина (L-миозина Вебера) при ультрацентрифугировании и электрофорезе плохо согласуется с этим утверждением^(4, 5). Если и можно говорить о миозине как о комплексе, состоящем из неактивного белка, с особым ферментом — аденозинтрифосфатазой, то лишь с той оговоркой, что этот комплекс представляет собой не обычный адсорбционный, но стехиометрический комплекс (подробнее см. ^(6, 7)).

Что касается АТФ-азной активности так называемых «структурных» белков других тканей, в частности, структурных белков злокачественных опухолей, то в настоящее время можно считать, что эта активность действительно обусловлена связыванием с энзиматически неактивными нуклеогистонами водорастворимой АТФ-азы.

Напомним здесь, что, согласно наблюдениям, сделанным И. И. Ивановым, Б. С. Касавиной и С. И. Пехтеревой⁽⁸⁾ и независимо Н. В. Ельциной⁽⁹⁾, неотделимость АТФ-азной активности от белков, извлекаемых из тканей раствором Вебера, при переосаждении их в диализаторе является характерным свойством не только миозина, но также и других структурных протеинов.

На этом основании авторы⁽⁸⁾ высказали предположение, что АТФ-азная активность структурных белков некоторых тканей и, в частности, белков злокачественных новообразований может быть «скорее объяснена наличием в молекуле этих белков активных группировок, придающих белку характер энзима, расщепляющего АТФ, чем примесью особой фосфатазы».

В дальнейшем, однако, В. С. Шапот⁽¹⁰⁾ установил, что сохранение ферментативной (АТФ-азной) активности при переосаждении так называемых структурных белков Сент-Дьердьи, т. е. белков, извлекаемых из тканей крепкими солевыми растворами, не может служить критерием их однородности. По данным В. С. Шапот, эти белки представляют собой лишь артефакт — комплекс нуклеогистонов с цитоплазматическими

белками и, в частности, цитоплазматической АТФ-азой, образующийся в процессе извлечения белка из тканей.

Эти данные В. С. Шапога о способности нуклеогистонов образовывать прочные комплексы с цитоплазматической АТФ-азой или картофельной апиразой заставили нас вернуться к вопросу о природе АТФ-азной активности миозина.

Ниже приводятся экспериментальные данные о действии высокого давления на миозин и водорастворимую АТФ-азу. Эти данные хотя, вероятно, и не решают окончательно вопроса о наличии у миозина собственной АТФ-азной активности, однако все же, несомненно, говорят в пользу представления об идентичности миозина АТФ-азе (или, во всяком случае, об очень тесной их связи друг с другом).

Как нам удалось показать, миозин и водорастворимая фосфатаза, отщепляющая от АТФ 2 фосфатных группы, обладают совершенно различной устойчивостью по отношению к высоким давлениям. Так, миозин при 4000 атм. полностью денатурируется в течение 10 мин. (или даже более короткого промежутка времени) и совершенно утрачивает свои энзиматические свойства, тогда как водорастворимая мышечная АТФ-аза и картофельная апираза полностью сохраняют при этом свою АТФ-азную активность (см. табл. 1 и 2).

Таблица 1

Влияние высокого давления (4000 атм. в течение 10 мин.) на АТФ-азную активность миозина (инкубация 30 мин. при 37°, рН 8,6)

Фракция миозина и число переосаждений	Содержание N в мг на 1 мл раствора миозина	Отщепление фосфора от АТФ в мг на 1 мл раствора		АТФ-азная активность в мг на 1 мг N	
		до давления	после давления	до давления	после давления
M ₃	0,56	720	0	1290	0
	0,56	810	0	1450	0
	0,56	850	160	1520	290
M ₁	0,94	1350	0	1430	0
	0,94	1380	0	1470	0
M ₁	0,83	1030	0	1250	0
	0,83	1120	0	1350	0

Этот метод может быть применен даже для отделения, по крайней мере частичного, водорастворимой АТФ-азы от неочищенного миозина.

Таким образом, несомненно, что водорастворимая АТФ-аза и миозин по своей устойчивости к высоким давлениям резко отличаются друг от друга.

Все же следует отметить, что при смешивании растворов миозина и картофельной апиразы АТФ-азная активность смеси, подвергнутой действию высокого давления, обычно оказывается несколько ниже АТФ-азной активности взятой в опыт апиразы (см. табл. 3). Таким образом, создается впечатление, что во время денатурации миозина частично теряется активность и прибавленной извне к миозину апиразы.

Интересно, что, по данным одного из нас (11), так называемые структурные белки других тканей, в частности, злокачественных опухолей, полученные экстрагированием тканей концентрированными солевыми растворами, также резко отличаются от миозина по своему отношению к высоким давлениям. Так, «структурные» белки злокачественных новообразований, в отличие от миозина, легко выдерживают воздействие

давления до 4000 атм., сохраняя при этом практически полностью свою АТФ-азную активность, которая, очевидно, действительно обусловлена наличием в этих белковых комплексах адсорбированной цитоплазматической АТФ-азы.

Все вышеизложенное, по нашему мнению, не дает, однако, еще права считать, что комплексы нуклеогистонов с цитоплазматической АТФ-азой являются лишь артефактами. Напротив, не исключается, что способность нуклеогистонов к образованию трудно растворимых комплексов с водорастворимыми цитоплазматическими протеинами вовсе не случайна. Едва ли можно заранее утверждать, что, например, при митозах не возникает условий для взаимодействия ядерных белков с цитоплазматическими протеинами, наделенными ферментативными свойствами.

Таблица 2

Влияние высокого давления (4000 атм. в течение 10 мин.) на водорастворимую АТФ-азу и на картофельную апиразу (инкубация 30 мин. при 37°, рН 7,0)

Испытуемый материал	Отщепление фосфора от АТФ в $\mu\text{г}$ на 1 мл раствора	
	до давления	после давления
Картофельная апираза	3600	3060
	7500	7350
	5100	5100
	4800	4740
Водный экстракт из печени крысы	510	515
	470	460
Водный экстракт из мышц крысы	1170	850*
	1040	790*

* После воздействия давлением образовались хлопья, которые были отделены от жидкой фазы.

Таблица 3

Выводы

Влияние высокого давления (4000 атм.) на АТФ-азную активность смеси миозина и апиразы (инкубация 30 мин. при 37°, рН 8,6)

Отщепление Р от АТФ в $\mu\text{г}$ на 1 мл раствора		
1 мл апиразы + 2,4 мл жидкости Вебера	1 мл апиразы + 2,4 мл раствора миозина	1 мл апиразы + 2,4 мл раствора миозина после воздействия давлением
1820	2040	1320
2360	2700	1400
2300	2760	1400

1. По своему отношению к высоким давлениям белки могут быть разделены на две группы: 1) белки устойчивые к высокому давлению и 2) белки неустойчивые.

Картофельная апираза и водорастворимая АТФ-аза принадлежат к белкам первой группы. Представителем второй группы белков, которые в силу

своей неустойчивости к воздействию высокого давления не могут быть синтезированы по методу С. Е. Бреслера (12), являются миозин и актомиозин.

2. В отличие от мышечной водорастворимой АТФ-азы и картофельной апиразы, миозин при воздействии высокого давления (до 4000 атм.) денатурируется и утрачивает свои ферментативные (АТФ-азные) свойства. Это делает мало обоснованным представление, развиваемое некоторыми зарубежными авторами, о миозине как о комплексе, состоящем из собственно «миозина» и адсорбированной на нем водорастворимой мышечной АТФ-азы. Вполне определенный вывод, однако, не может быть

сделан, поскольку было установлено, что при денатурации миозина под давлением может снижаться и ферментативная активность добавленной извне к миозину апиразы.

Первый московский медицинский институт и
Лаборатория по биохимии рака
Академии медицинских наук СССР

Поступило
9 XII 1950

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ М. Н. Любимова и В. А. Энгельгардт, Биохимия, 4, 716 (1939).
² H. Kalkar, Journ. biol. Chem., 153, 355 (1944). ³ D. Polis and O. Meyerhof, *ibid.*, 163, 339 (1946). ⁴ O. Spillman and T. Erdős, Bioch. et Biophys. Acta, 2, 660 (1948). ⁵ H. Weber, *ibid.*, 4, 12 (1950). ⁶ И. И. Иванов, Химическая динамика мышц и подвижных клеток, 1950. ⁷ И. И. Иванов, Усп. биохим., 1, 179 (1950). ⁸ И. И. Иванов, Б. С. Касавина и С. И. Пехтерева, Биохимия, 13, 310 (1948). ⁹ Н. В. Ельцина, Биохимия, 13, 351 (1948). ¹⁰ В. С. Шапот и В. Л. Немчинская, Тезисы докладов 2-й сессии отд. медико-биол. наук АМН СССР, 1949, стр. 29. ¹¹ Т. И. Иванова, Вопросы медицинской химии, 5 (1951). ¹² С. Е. Бреслер, Совещ. по белку, 5-я конфер. по высокомолекулярным соединениям, 1948, стр. 40.