

Е. Г. ПЛЫШЕВСКАЯ, Е. Л. РОЗЕНФЕЛЬД и В. Ф. ГАЧКОВСКИЙ
**О ВЗАИМОДЕЙСТВИИ С БЕЛКАМИ β -ДЕКСТРИНОВ
С РАЗЛИЧНОЙ ДЛИНОЙ КОНЦЕВЫХ ВЕТВЕЙ МОЛЕКУЛ**

(Представлено академиком А. И. Опариным 23 VI 1952)

В работе (1) было показано, что β -декстрины, т. е. гиколены, молекулы которых лишены концевых ветвей действием β -амилазы, и Ф-декстрины — гликолены, подвергшиеся действию мышечной фосфооролазы и лишенные концевых ветвей только на 80—85%, не взаимодействуют с белками*.

В связи с этими данными представляло интерес выяснить вопрос о влиянии длины концевых ветвей молекул гликоленов на их способность взаимодействовать с белками.

С этой целью мы инкубировали гликолены с раствором β -амилазы в течение различных сроков и выделили β -декстрины с различной длиной концевых ветвей молекул. Полученные таким образом препараты при последующем действии на них β -амилазы отличались различной расщепляемостью, определение которой проводилось ранее описанным методом (2).

Таблица 1

Расщепляемость β -амилазой β -декстринов с различной длиной концевых ветвей молекул

| №№ препаратов | Гликолены мышц кроликов | β -декстрины, полученные из гликоленов | Время инкубации в час. | Расщепляемость препарата β -амилазой в % | Расщепляемость β -декстринов в % к расщепляем. исходн. препарата гликолена |
|---------------|-------------------------|--|------------------------|--|--|
| 1 | от 16 V 1950 | — | — | 50 | — |
| 2 | — | от 16 V 1950 | 0,5 | 42 | 84 |
| 3 | « 6 VI 1950 | — | — | 51 | — |
| 4 | — | « 6 VI 1950 | 1 | 39 | 76 |
| 5 | « 13 VI 1950 | — | — | 45 | — |
| 6 | — | « 13 VI 1950 | 3 | 28 | 62 |
| 7 | — | « 13 VI 1950 | 5 | 12 | 26 |
| 8 | — | « 13 VI 1950 | 24 | 12 | 26 |
| 9 | — | « 13 VI 1950 | 48 | 0 | 0 |

* Известно, что Ф-декстрины, в отличие от β -декстринов, содержат еще некоторое количество глюкозных остатков в концевых ветвях молекул, так как фосфооролаза мышц отщепляет глюкозные остатки не до мест ветвлений, как β -амилаза, а несколько менее глубоко. Поэтому Ф-декстрины расщепляются еще на 15—20% β -амилазой.

Как видно из табл. 1, полное отщепление концевых ветвей молекул в наших опытах наступало только после 48 час. инкубации препарата с β -амилазой. При меньших сроках инкубации часть глюкозных остатков (различная при различных сроках) оставалась неотщепленной.

Для выяснения вопроса о влиянии длины концевых ветвей молекул декстринов на их способность комплексоваться с белками мы исследовали спектр поглощения миозина в присутствии полученных препаратов. Спектры поглощения фотографировались спектрографом Q-12 и затем микрофотометрировались на микрофотометре Крюсса с механической записью на фотопластинку. Концентрация миозина во всех опытах была такова, что 1 мл конечного раствора содержал 0,5 мг молекулярного азота. Концентрации гликогенов и β -декстринов равнялись 2 мг/мл (1).

На рис. 1 приведены микрофотограммы спектров поглощения миозина и β -декстринов, характеристика которых дана в табл. 1.

Кривая *a* — микрофотограмма спектра поглощения миозина + исходный препарат гликогена. Мы видим, что в этом случае максимум поглощения миозина ($\lambda = 2800 \text{ \AA}$) отсутствует вовсе и кривая поглощения имеет только максимум комплекса гликоген + миозин ($\lambda = 2650 \text{ \AA}$). То же наблюдается и в случае миозин + β -декстрин, расщепляемость которого всего лишь на 16% ниже расщепляемости исходного препарата гликогена (кривая *b*, препарат декстрина № 2). Кривые *v* и *z* имеют по два максимума поглощения: один $\lambda = 2650 \text{ \AA}$ — комплекса гликоген + миозин и второй явно выраженный с максимумом миозина $\lambda = 2800 \text{ \AA}$. В этих двух случаях исследовался раствор миозина в присутствии β -декстринов, расщепляемость которых была, соответственно, на 24 и 38% ниже расщепляемости исходного препарата гликогена (препараты декстринов №№ 4 и 6). Наконец, на кривых *d* и *e* отсутствуют максимумы поглощения комплекса; здесь мы имеем β -декстрины, у которых концевые ветви молекул либо значительно укорочены, либо полностью отсутствуют (препараты №№ 7 и 9. Для сравнения на рисунке приведена микрофотограмма спектра поглощения чистого миозина — кривая *ж*).

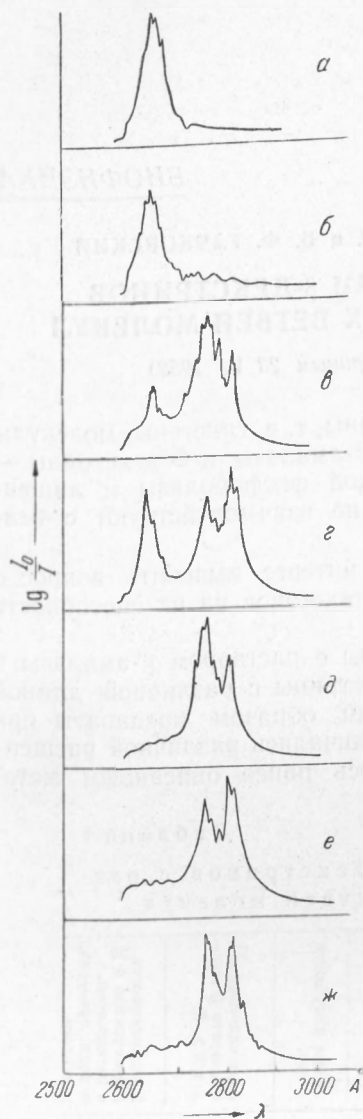


Рис. 1. Спектр поглощения миозина в присутствии β -декстринов с различной длиной концевых ветвей молекул. *a* — миозин + гликоген; *b* — миозин + β -декстрин № 2 из табл. 1; *v* — миозин + β -декстрин № 4 из табл. 1; *z* — миозин + β -декстрин № 6 из табл. 1; *d* — миозин + β -декстрин № 7 из табл. 1; *e* — миозин + β -декстрин № 9 из табл. 1; *ж* — миозин

Полученные данные дают основание считать, что в образовании комплексов гликогена с белками играет роль не только наличие глюкозных остатков в концевых ветвях молекул гликогенов, но и их длина. Укорочение концевых ветвей на 70—75% полностью лишает гликоген способности взаимодействовать с белками. От-

щепление 25—40% глюкозных остатков концевых цепей молекул понижает, но не лишает полностью гликогены способности комплексованию с белками.

Принимая во внимание, что интенсивность поглощения комплекса обычно выше интенсивности поглощения миозина в той же концентрации и что число молекул декстрина больше, чем число молекул гликогена в том же весовом количестве, естественно предположить, что способность декстринов к комплексообразованию с миозином в действительности еще ниже, чем это можно заключить на основании микрофотограмм.

В предыдущей работе (3) было показано, что гликоген в различных концентрациях, смешанный с миозином, вызывает различные сдвиги максимума поглощения белка. На этом основании было сделано предположение о том, что гликоген в различных концентрациях образует различные соединения с белком.

Ввиду того что в указанной работе применялся недостаточно чувствительный метод визуального определения мест заметного поглощения одинаковой оптической плотности, представляло интерес исследовать вопрос о влиянии концентрации гликогена на процесс комплексообразования, пользуясь более чувствительным методом. Поэтому мы исследовали спектры поглощения миозина в присутствии одного и того же препарата гликогена, но в различной концентрации; 0,25; 0,5 и 2 мг/мл.

Полученные результаты приведены на рис. 2. Из микрофотограмм этого рисунка мы видим, что в действительности поглощение комплекса миозин + гликоген при различных концентрациях гликогена отличается лишь интенсивностью и имеет всегда одно и то же положение в спектре, а именно у $\lambda = 2650 \text{ \AA}$. В случае малых концентраций гликогена (0,25 мг/мл) максимум поглощения комплекса отличается малой интенсивностью (кривая б). При увеличении концентрации гликогена интенсивность максимума поглощения комплекса возрастает (кривая в), а миозина, соответственно, падает. В случае избытка гликогена (2 мг/мл) весь миозин оказывается связанным, и максимум поглощения его отсутствует (кривая г).

Таким образом, предположение о том, что гликоген в различной концентрации образует различные соединения с белком, не соответствует действительности. За максимум поглощения комплекса в работе (3) принимался суммарный максимум наложенных друг на друга двух различных, постоянных по положению в спектре, максимумов поглощения. Положение этого суммарного максимума в спектре менялось в зависимости от относительной интенсивности его компонент (рис. 2, пунктирные кривые).

Изложенные экспериментальные результаты показывают, что при комплексовании миозина с гликогеном, а также с различными полученными из гликогена β -декстринами и Ф-декстринами (с различной длиной концевых ветвей молекул) всегда образуется один и тот же, не зависящий

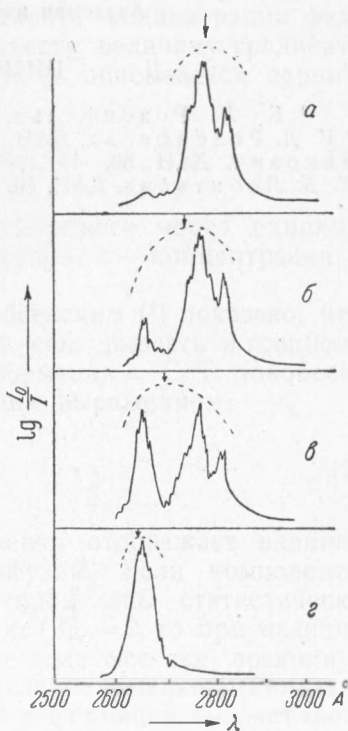


Рис. 2. Спектр поглощения миозина в присутствии одного и того же препарата гликогена в различной концентрации. а — миозин; б — миозин + гликоген в концентрации 0,25 мг/мл; в — миозин + гликоген 0,5 мг/мл; г — миозин + гликоген 2 мг/мл; концентрация миозина во всех случаях 0,5 мг/мл

от концентрации этих веществ, постоянный максимум поглощения у 2650 Å, характерный для образующегося при этом соединения.

К такому же выводу приводят и наши дальнейшие исследования, в которых гликогены различного происхождения, взятые в одной и той же концентрации, при комплексовании с белками образуют соединения, спектры которых отличаются между собой тоже только по интенсивности максимума поглощения, а не по его положению в спектре (подобно тому, как это имеет место для β-декстринов с различной длиной концевых ветвей молекул).

Это позволяет думать, что природа образования комплексов различных гликогенов с белками одинакова.

В заключение выражаем благодарность проф. Б. Н. Степаненко за интерес и внимание к работе.

Лаборатория физиологической химии
Академии наук СССР
Лаборатория биофизики, изотопов и излучений
при Отделении биологических наук
Академии наук СССР и
Институт биохимии им. А. Н. Баха
Академии наук СССР

Поступило
5 VI 1952

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Е. Л. Розенфельд, Е. Г. Плышевская, ДАН, 85, № 3 (1952).
² Е. Д. Розенфельд, ДАН, 62, 373 (1948). ³ Е. Л. Розенфельд, Х. М. Равикович, ДАН, 59, 45 (1948). ⁴ Х. М. Равикович, О. Н. Сеткина, К. Д. Леонтьева, ДАН, 60, 938 (1948).