

К. А. КАФИАНИ и член-корреспондент АН СССР В. А. ЭНГЕЛЬГАРТ

### СОКРАТИТЕЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ПЛЕНОЧНЫХ НИТЕЙ ЧИСТОГО МИОЗИНА

В основе мышечного сокращения лежит процесс взаимодействия белкового сократительного вещества мышцы с аденозинтрифосфорной кислотой (АТФ), являющейся непосредственным источником энергии, необходимой для осуществления механической функции мышцы.

В настоящее время считается, что миозин, отделенный от второго компонента сократительного вещества — актина, лишен сократимости. Основанием для этого представления послужило наблюдение (1), что нити, получаемые из чистого миозина методом Вебера (путем выдавливания белкового раствора через капилляр в сильно разбавленный раствор КСl), не сокращаются в присутствии АТФ. Сократимость была найдена только у актомиозиновых нитей. Согласно этим данным, актин необходим для сокращения. Это и другие наблюдения создали почву для мнения, что в цикле сокращения — расслабления решающее значение имеют процессы диссоциации и восстановления комплекса миозина с актином (3), а также процессы деполимеризации и полимеризации актина (3-6). Некоторые авторы (4-6) считают, что связанное с полимеризацией дефосфорилирование функциональной группы актина — АТФ играет существенную роль в энергетике мышечного сокращения.

Однако в последнее время накапливаются веские данные (7-9), не совместимые с этими представлениями. Полученные нами результаты решительно свидетельствуют против указанных представлений, побуждая к их пересмотру. Из излагаемых ниже опытов видно, что нити, особым образом получаемые из чистого миозина, способны сокращаться под влиянием АТФ, так же как и актомиозиновые нити, полученные тем же способом, превращая химическую энергию АТФ в механический эффект укорочения, развития напряжения и работы. Это означает, что актин не необходим для сокращения таких нитей.

Сокращение миозиновых нитей по ряду параметров сходно с мышечным сокращением. Поэтому миозиновая нить данного типа может рассматриваться как модель мышцы, ценная в том отношении, что сокращение здесь можно наблюдать в наиболее упрощенных условиях: все изменения, происходящие в этой модельной системе, должны быть приписаны взаимодействию АТФ, солей и миозина, так как система не содержит никаких других компонентов.

Для приготовления нитей использовался трижды переосажденный миозин скелетных мышц кролика. Отсутствие специфического для актомиозина понижения вязкости при добавлении АТФ показывало, что препараты миозина свободны от примеси актина. Нити получались по методу Хайаши (10). Такие нити представляют собой поверхностную пленку белка, до предела сжатую сильным боковым давлением, и поэтому их можно назвать пленочными. Для облегчения образования поверхностного слоя к раствору миозина, перед его нанесением на поверхность, добавлялся изоамиловый спирт до содержания 1 : 1000. Контрольные опыты показали, что такая обработка не влияет на сократимость получаемых нитей.

Сокращение миозиновых нитей измерялось при помощи тензиметра, применявшегося в работе В. А. Энгельгардта и М. Н. Любимовой (2). Изменения длины нитей регистрировались при помощи катетометра. Средой, в которой проводилось сокращение, служил 0,05 М КСl, содержащий 0,006 М АТФ. Во всех случаях, кроме специально оговоренных, опыты велись при рН 9,0.

На рис. 1 показано влияние АТФ на длину ненагруженных пленочных нитей, приготовленных из изолированных друг от друга компонентов актомиозинового комплекса. Нити, приготовленные из глобулярного

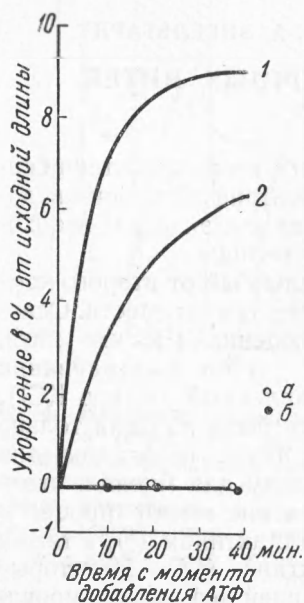


Рис. 1. Поведение ненагруженных нитей миозина и актина в присутствии АТФ. 1 — миозиновая нить при рН 9, 2 — миозиновая нить при рН 7, 3 — актиновые нити при рН 7: а — Г-актин; б — Ф-актин

и фибриллярного актина, не сокращаются при добавлении АТФ. Нити же, состоящие из чистого миозина, показывают значительное укорочение, объем которого приблизительно таков же, как и объем сокращения актомиозиновых пленочных нитей (10, 11).

Заслуживает внимания различие в рН-оптимальности сократимости актомиозиновых и миозиновых нитей. Первые максимально сократимы при рН 7 (10). Миозиновые же нити при рН 7 сокращаются в меньшем объеме и с меньшей скоростью, чем при рН 9 (рис. 1). Повидимому, оптимальными условиями сокращения нитей являются условия, в которых миозин обладает наивысшей аденозинтрифосфатазной активностью; известно, что для АТФ-азного действия миозина оптимальным является рН 9, тогда как присоединение актина сдвигает рН-оптимум этого фермента до рН 7 (13). Таким образом, еще раз подчеркивается связь между механохимическим поведением сократительного белка мышцы и его аденозинтрифосфатазной активностью (2).

Важной чертой сокращения миозиновых нитей является то, что оно, подобно мышечному сокращению, имеет анизодимENSIONАЛЬНЫЙ характер: в наших опытах укорочение нитей на 8—10% сопровождалось увеличением их поперечника на 17—20%. Это показывает, что сокращение миозиновых нитей не связано с синерезисом.

Для удержания несокращенной миозиновой нити в распрямленном состоянии у исходной длины нужна весьма небольшая сила: 1—3 мг. По мере сокращения, после добавления АТФ, для возвращения нити к исходной длине нужно прилагать все большие нагрузки (рис. 2), причем относительное увеличение нагрузки часто значительно превосходит относительное укорочение. Это увеличение сопротивления нити растягиванию означает, что под влиянием АТФ происходит возрастание упругости или жесткости вещества нити. Это явление аналогично общезвестному факту затвердения изометрически сокращающейся мышцы. Увеличение упругого сопротивления сокращающейся нити растягиванию до исходной длины условно обозначается нами как развитие ею напряжения.

На рис. 2 представлены результаты опыта, в котором измерялось напряжение, развиваемое миозиновыми нитями при различных рН. При рН 9 наблюдается наибольшее напряжение, достигающее 10 мг. Заметно меньшее напряжение развивается при рН 7 и рН 10. Таким образом, и здесь максимальный механохимический эффект развивается в условиях, наиболее благоприятствующих проявлению ферментных свойств миозина.

В ряде опытов мы наблюдали напряжения значительно более высокие, чем в опыте, иллюстрированном рис. 2, а именно, до 20 мг и более. Согласно литературным данным (12), пленочные нити актомиозина,

содержащие, как и наши нити, около 0,4 мг белка, развивают приблизительно такое же напряжение: 18—25 мг.

Миозиновые нити способны в определенных условиях сокращаться под нагрузкой, поднимая небольшой груз. Проведенное нами исследование механических свойств миозиновых нитей показало, что способность их сокращаться под нагрузкой лимитируется их механическими свойствами. Мы нашли, что для осуществления сокращения нагруженной нити необходима определенная степень внутренней структурированности нити, под чем мы разумеем образование прочных связей между соседними белковыми цепями, что в данном случае достигается сближением белковых частиц при сильном сжатии поверхностного слоя.

В зависимости от времени выдерживания нитей под давлением их механические свойства оказываются различными, соответственно различной степени внутренней структурированности. Наиболее резкое различие состоит в том, что у менее структурированных нитей упругость заметно понижается в момент добавления АТФ, тогда как у более структурированных нитей то же количество АТФ (0,006 M) не вызывает заметного уменьшения упругости. Эти различия механических свойств ярко проявляются в различном поведении нитей при сокращении.

На рис. 3 показано поведение слабо структурированной нити миозина при минимальной нагрузке, удерживающей нить в распрямленном состоянии (2—3 мг). При добавлении АТФ в этих условиях такие нити всегда

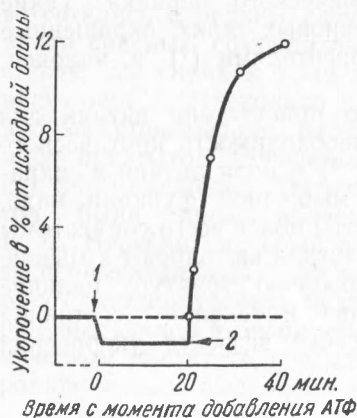


Рис. 3. Поведение миозиновой нити под минимальной нагрузкой (2 мг) и после снятия этой нагрузки. 1 — добавление АТФ, 2 — полное освобождение нити от нагрузки

несколько растягиваются и далее остаются при этой длине, не будучи способными преодолеть растягивающую силу. Но если освободить нить и от этой, минимальной, нагрузки, и далее измерять длину распрямленной нити после повторных полных снятий этой нагрузки, то мы отметим быстрое укорочение (именно так и получены кривые «ненагруженного» сокращения, приведенные на рис. 1). Таким образом, в этом опыте одна и та же нить показывает как эффект растяжения нагруженной нити под влиянием АТФ, открытый В. А. Энгельгардтом, М. Н. Любимовой и Р. А. Мейтеной<sup>(2)</sup>, так и явление укорочения, найденное Сент-Дьердьи для свободно плавающей нити<sup>(3)</sup>. Это служит лишним доказательством того, что различие поведения актомиозиновых нитей в опытах указанных исследователей объяснялось только различной постановкой опытов.

Поведение более структурированной миозиновой нити иллюстрируется рис. 4. Такая нить, находящаяся под грузом в 5 мг, вызывающим небольшое удлинение, при добавлении АТФ не показывает добавочного удлинения, а, напротив, сразу начинает сокращаться, производя работу.

Сокращение миозиновых нитей обратимо: такие нити способны к повторным циклам сокращения — расслабления. Это было показано следую-

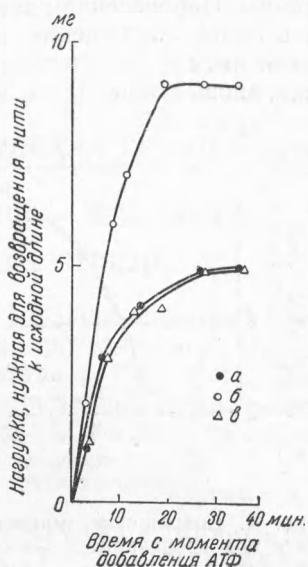


Рис. 2. Развитие напряжения миозиновыми нитями. а — pH 7,0; б — pH 9,0; в — pH 10,0

щим путем. Нить сокращалась без нагрузки в присутствии 0,05 М КСl и 0,006 М АТФ. После достижения постоянной наименьшей длины нить переводилась в расслабленное состояние. Для этого нить переносилась в 0,25 М КСl и растягивалась при помощи наложения нагрузки до исходной длины. Перенесенная затем в 0,006 М АТФ и 0,05 М КСl нить показывала повторное сокращение, которое могло быть вновь обращено растягиванием нити в присутствии 0,25 М КСl. При каждом последующем сокращении вновь развивалось и напряжение. Такие же повторные циклы наблюдались Хайаши (11) на актомиозиновых пленочных нитях, сокращавшихся с поднятием груза. Расслабление этих нитей, так же как и миозиновых, требует высокой концентрации соли и не требует присутствия АТФ.



Рис. 4. Сокращение миозиновой нити под нагрузкой. 1 — наложение нагрузки (5 мг), 2 — добавление АТФ

Далеко идущее сходство сокращения пленочных нитей чистого миозина с сокращением пленочных нитей актомиозина ясно показывает, что в случае данных моделей присутствие актина не только не определяет сократимости, но даже не влияет на нее существенным образом. Влияние актина в данном случае ограничивается, повидимому, сдвигом рН-оптимума сократимости.

Полученные данные позволяют сделать вывод, что сократимость не является исключительным свойством актомиозина, возникающим как новое качество лишь в результате взаимодействия миозина с актином. Миозиновые частицы сами по себе способны сокращаться под влиянием АТФ. Однако для выявления этой способности в виде механического эффекта необходимы определенные предпосылки, повидимому, скорее структурного, чем специфического химического порядка. Такие предпосылки имеются в актомиозине, в миозиновых гелях, окрашенные красным конго или другими родственными красителями (7), и, наконец, в пленочных миозиновых нитях.

Установленный нами факт необязательного присутствия актина для сокращения пленочных нитей указывает на необходимость критического пересмотра указанных выше представлений (3-6) о роли актина в сокращении. Значение актина для осуществления мышечной функции надо, очевидно, искать на иных путях. Наши результаты более всего совместимы с предположением, что нитевидные частицы Ф-актина выполняют в мышце опорную роль, образуя пространственно непрерывную структуру, наличие которой обеспечивает возможность выявления изменений состояния частиц миозина в виде внешнего механического эффекта укорочения мышцы или развития ею напряжения.

Полученные данные позволяют сделать вывод, что сократимость не является исключительным свойством актомиозина,

Поступило  
7 VII 1953

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- 1 E. Erdős, *Studies Szeged*, 3, 57 (1943). 2 В. А. Энгельгардт, М. Н. Любимова, Р. А. Мейтина, *ДАН*, 30, 639 (1941); В. А. Энгельгардт, М. Н. Любимова, *Биохимия*, 7, 206 (1952). 3 A. Szent-Györgyi, *Chemistry of Muscular Contraction*, N. Y., 1947. 4 F. B. Straub, G. Feuer, *Biachim. Biophys. Acta*, 6, 426 (1951). 5 W. F. H. M. Mommaerts, *ibid.*, 7, 477 (1951). 6 A. Szent-Györgyi, *Science*, 110, 411 (1949). 7 И. П. Ашмарин, *Биохимия*, 18, 71 (1953). 8 G. Rozsa, S. S. Spicer, *Biachim. Biophys. Acta*, 9, 584 (1952). 9 J. J. Blum, M. F. Morales, *Arch. Biochem. and Biophys.*, 3, 208 (1953). 10 T. Hayashi, *J. Gen. Physiol.*, 36, 139 (1952). 11 T. Hayashi, R. Rosenbluth, *J. Cell. and Comp. Physiol.*, 40, 495 (1952). 12 R. Joseph, *Federat. Proc.*, 12, 74 (1953). 13 N. K. Sarkar, A. G. Szent-Györgyi, L. Varga, *Enzymologia*, 14, 267 (1950).