

БИОХИМИЯ

З. Ю. НЕЧИПОРЕНКО и член-корреспондент АН СССР Д. Л. ФЕРДМАН

**О КОМПЛЕКСЕ ДЕЗАМИНАЗЫ АДЕНИЛОВОЙ КИСЛОТЫ  
С МИОЗИНОМ**

После обнаружения нами дезаминирующей активности миозина скелетных мышц<sup>(1)</sup> существовало мнение, что дезаминирующая активность, подобно аденозинтрифосфатазной активности, является свойством, присущим самому миозину<sup>(2)</sup>. Миозин рассматривали как однородный белок, несущий две ферментативные активности. В дальнейшем, однако, было обнаружено, что миозин сердечной мышцы<sup>(3)</sup>, а также миозин речных раков лишен дезаминирующих свойств. Трудно было допустить существование различных миозинов. Скорее напрашивалась мысль о неоднородности миозина, о существовании соединения между миозином и дезаминазой адениловой кислоты, которая содержится в достаточном количестве во фракции воднорастворимых белков скелетных мышц. Это казалось тем более вероятным, что в сердечной мышце животных, миозин которых не обладает дезаминирующей активностью, содержится мало воднорастворимой дезаминазы.

Предположение о возможности соединения между миозином и дезаминазой было впоследствии нами подтверждено. Пользуясь простыми приемами, нам удалось получить соединение сердечного миозина и дезаминазы адениловой кислоты скелетных мышц. Одним из условий получения такого соединения являлась достаточная концентрация препарата дезаминазы, которым обрабатывали миозин.

В табл. 1 приводятся данные двух опытов, в которых переосажденный миозин сердца собаки инкубировался с адениловой кислотой при рН 6,0 до и после обработки препаратом дезаминазы, полученным из водного экстракта скелетных мышц кролика по методу Калькара<sup>(4)</sup>.

Таблица 1  
Влияние переосаждения на дезаминирующую активность сердечного миозина собаки, обработанного дезаминазой

Дата опыта	Ферментный препарат	Количество N белка, мг	Отщиплось от адениловой кислоты, мг
18 XI 1948 г.	Миозин 1-го осаждения (M <sub>1</sub> ) . . . . .	0,58	0
	M <sub>1</sub> , обработан дезаминазой и затем дважды переосажденный . . . . .	0,58	71
23 XI 1948 г.	Миозин 1-го осажд. (M <sub>1</sub> )	0,50	0
	M <sub>1</sub> , обработан дезаминазой и затем один раз переосажденный . . . . .	0,51	75
	M <sub>1</sub> , обработан дезаминазой и дважды переосажденный . . . . .	0,51	66

Как видно из таблицы, сердечный миозин не дезаминирует адениловой кислоты, но тот же миозин, обработанный дезаминазой и переосажденный один или два раза, проявляет дезаминирующую активность.

Факт существования в естественных условиях миозина, лишённого дезаминирующих свойств, и способность такого миозина прочно связывать дезаминазу при определенной ее концентрации позволили нам высказать

предположение, что миозин скелетных мышц, обладающий хорошо выраженной дезаминирующей активностью, является комплексом, в состав которого входит дезаминаза. Это предположение позже нашло свое подтверждение в результатах исследований В. А. Энгельгардта и М. Н. Любимовой<sup>(5)</sup>, которым удалось отделить от миозина дезаминазу адениловой кислоты.

Воспользовавшись соединением сердечного миозина и дезаминазы адениловой кислоты как моделью комплекса миозина и дезаминазы, содержащегося в скелетных мышцах, мы попытались выяснить, оказывает ли миозин влияние на проявление

Таблица 2  
Влияние миозина сердечной мышцы (M<sub>2</sub>) на устойчивость дезаминазы адениловой кислоты при повышении температуры

Ферментный препарат	Отщепилось от адениловой кислоты N-NH <sub>2</sub> , $\mu$ г	Снижение активности в %
Дезаминаза 6 $\mu$ г . . . . .	26	—
Дезаминаза 6 $\mu$ г после нагрев.	4	84
Дезаминаза 6 $\mu$ г + M <sub>2</sub> 178 $\mu$ г	35	—
Дезаминаза 6 $\mu$ г + M <sub>2</sub> 178 $\mu$ г после нагрев. . . . .	27	23
Дезаминаза 6 $\mu$ г + M <sub>2</sub> 356 $\mu$ г	35	—
Дезаминаза 6 $\mu$ г + M <sub>2</sub> 356 $\mu$ г после нагрев. . . . .	33	6
Дезаминаза 6 $\mu$ г + M <sub>2</sub> 532 $\mu$ г	37	—
Дезаминаза 6 $\mu$ г + M <sub>2</sub> 532 $\mu$ г после нагрев. . . . .	37	0

свойств связанной с ним дезаминазы. Из свойств дезаминазы мы избрали для исследования ферментативную активность и устойчивость при воздействии денатурирующими агентами — свойств, которые в значительной степени определяют участие фермента в обменных процессах.

В табл. 2 представлены данные опыта, в котором исследовалось влияние миозина на устойчивость дезаминазы при повышении температуры. В опыте определялась дезаминирующая активность препарата дезаминазы и смесей этого же препарата с возрастающими количествами миозина до и после нагревания при 45° в течение 5 мин.

Данные опыта показывают, что нагревание приводит к значительной потере активности дезаминазы. В присутствии же миозина эта потеря меньше, причем чем больше было добавлено миозина, тем меньше снижалась активность дезаминазы при нагревании.

В табл. 3 приводятся данные опытов, в которых препараты дезаминазы адениловой кислоты и препараты комплекса этой же дезаминазы и сердечного миозина (МД) подвергались нагреванию или облучению в ультрафиолете. Нагревание производилось при 45° в течение 5 мин., облучение — ртутно-кварцевой горелкой типа ПГК-4 на расстоянии 35 см в течение 5 мин.

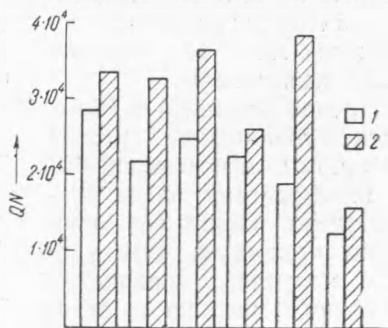


Рис. 1. Влияние миозина сердечной мышцы на ферментативную активность дезаминазы адениловой кислоты. 1 — дезаминаза, 2 — смесь миозина и дезаминазы

Данные показывают, что при нагревании и при ультрафиолетовом облучении дезаминирующая активность препаратов МД снижалась в меньшей степени, чем активность препаратов дезаминазы.

Обнаруженное действие миозина на дезаминазу интересно было сравнить с действием какого-нибудь другого белка. В табл. 4 представлены результаты опыта, в котором нагреванию подвергались препарат дезаминазы, препарат МД и смесь дезаминазы и яичного альбумина.

Приведенные данные показывают, что альбумин, взятый примерно в таком же количестве, как и МД, не предохраняет дезаминазу от инактивирования при нагревании. Таким образом, присоединение дезаминазы к миозину сопровождается некоторой стабилизацией ее молекулы, если за критерий стабилизации брать ферментативную активность.

Влияние миозина на проявление ферментативной активности связанной с ним дезаминазы мы исследовали путем сравнения активности препаратов дезаминазы с активностью смесей этих же препаратов с миозином. На рис. 1 представлены данные таких опытов.

Как видно из приведенных данных, ферментативная активность смесей дезаминазы и миозина во всех опытах превышала активность препаратов дезаминазы.

Обнаруженное влияние миозина на ферментативную

активность дезаминазы не носит строго специфического характера. Как видно из рис. 2, некоторое увеличение ее ферментативной активности наблюдается и в присутствии яичного альбумина. Имеются указания и на активирующее действие сывороточного альбумина на дезаминазу адениловой кислоты (6).

Отсутствие специфичности действия миозина на ферментативную активность дезаминазы, однако, не снижает значения этого факта. В скелетных мышцах часть дезаминазы адениловой кислоты связана именно с миозином, и влияние миозина на ее свойства должно иметь физиологическое значение. Комплекс миозина и дезаминазы адениловой кислоты в скелетных мышцах входит в состав сократительного вещества мышечной фибриллы. В связи с этим полученные нами данные, касающиеся изменения свойств дезаминазы при соединении с миозином, — повышение стабильности при воздействии денатурирующими агентами и повышение ферментативной активности, должны учитываться в характеристике сократительного вещества в целом.

Сократительное вещество мышечной ткани объединяет в себе ряд белков с различными свойствами. Установленные нами данные, наряду с из-

Таблица 3

Влияние температуры и ультрафиолетового облучения на ферментативную активность дезаминазы адениловой кислоты и МД

Дата опыта	Ферментный препарат	Оттепилось от аденил. кислоты, мг-NH <sub>2</sub> / мг	Снижение активности в %
4 III 1952 г.	Дезаминаза 18 мкг . . . . .	28	—
	Дезаминаза 18 мкг после нагрев. . . . .	8	72
	МД 14 мкг . . . . .	14	—
	МД 14 мкг после нагрев. . . . .	9	35
21 III 1952 г.	Дезаминаза 18 мкг . . . . .	32	—
	Дезаминаза 18 мкг после нагрев. . . . .	1	97
	МД 16 мкг . . . . .	16	—
	МД 16 мкг после нагрев. . . . .	10	37
20 III 1952 г.	Дезаминаза 18 мкг . . . . .	28	—
	Дезаминаза 18 мкг после * облучения . . . . .	14	50
	МД 16 мкг . . . . .	22	—
	МД 16 мкг после облучения . . . . .	15	32
27 IV 1952 г.	Дезаминаза 6 мкг . . . . .	15	—
	Дезаминаза 6 мкг после облучения . . . . .	4	73
	МД 6 мкг . . . . .	11	—
	МД 6 мкг после облучения . . . . .	5	54

Влияние миозина сердечной мышцы и яичного альбумина на устойчивость дезаминазы адениловой кислоты при повышении температуры

Ферментный препарат	Отщепилось от адениловой кислоты N-NH <sub>2</sub> , $\mu$ г	Снижение активности в %
Дезаминаза 10 $\mu$ г . . . . .	27	—
Дезаминаза 10 $\mu$ г после нагрев. . .	7	74
МД 440 $\mu$ г . . . . .	15	—
МД 440 $\mu$ г после нагрев. . . . .	13	13
Дезаминаза 10 $\mu$ г + яичный альбумин 500 $\mu$ г . . . . .	27	—
Дезаминаза 10 $\mu$ г + яичный альбумин 500 $\mu$ г после нагрев. . . . .	8	70

вестным фактом изменений свойств миозина при его соединении с активом, выражающимся, в частности, в повышении вязкости его растворов, указывают на существование взаимного влияния белков внутри самой системы сократительного вещества. Вследствие этого изменение свойств или состояния одного из них может привести к изменению свойств самого сократительного вещества.

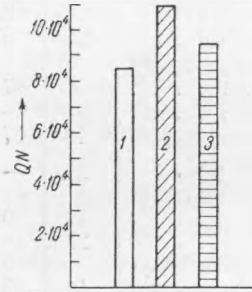


Рис. 2. Влияние миозина сердечной мышцы и яичного альбумина на ферментативную активность дезаминазы адениловой кислоты. 1 — дезаминаза, 2 — дезаминаза + миозин, 3 — дезаминаза + альбумин

Эта особенность сократительного вещества мышцы придает ему своеобразную пластичность, выражающуюся в способности изменять свои свойства под влиянием изменений внутренней среды, а через нее и различных внешних факторов.

Полученные данные по изучению комплексообразования дезаминазы адениловой кислоты и миозина представляют физиологический интерес. Имеющимися у нас экспериментальными данными показано, что при нарушении функции скелетных мышц — при атрофии, возникающей при их бездеятельности, изменяется в мышцах соотношение между воднорастворимой дезаминазой, находящейся в комплексе с миозином. Количество последней уменьшается, а первой — увеличивается.

Поступило  
22 VII 1953

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> Д. Л. Фердман, З. Ю. Нечипоренко, Укр. биохим. журн., 18, 105 (1946). <sup>2</sup> V. Sz. Hermann, G. Josephovits, Nature, 164, 845 (1949). <sup>3</sup> З. Ю. Нечипоренко, Е. Н. Погребинская, Укр. биохим. журн., 21, 150 (1949). <sup>4</sup> H. Kalkar, J. Biol. Chem., 167, 466 (1947). <sup>5</sup> В. А. Энгельгардт, М. Н. Любимова, ДАН, 85, 397 (1952). <sup>6</sup> J. Gergely, Federation Proc., 10, 188 (1951).