

М. А. ПРЕСНОВ

ГЛИЦЕРОФОСФАТАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ ЯДЕРНОГО НУКЛЕОПРОТЕИДА

(Представлено академиком А. И. Опариным 3 IX 1953)

Несмотря на большое число работ, посвященных нуклеопротеидам, и на значительное число исследователей, работающих в данной области, никто не смотрел на эти белки как на ферменты. Между тем, для такого взгляда есть основания. Об этом позволяют думать работы В. А. Энгельгардта и его представления о том, что «живой белок плазмы — это прежде всего белок каталитически активный, белок со свойствами фермента» (1). А. И. Опарин также указывает, что «ферменты, повидимому, составляют основную массу протоплазматических белков» и что «ферментативной активностью обладает большинство протеинов и протеидов живого тела» (2). Основываясь на этих положениях отечественной биохимии, можно предположить, что нуклеопротеиды, как дезокси-, так и рибо-, составляющие существенную, если не основную массу клетки, обладают энзиматической активностью. Далее, нуклеопротеиды по своему строению обнаруживают большое сходство с двухкомпонентными ферментами: нуклеиновая кислота, входящая в состав нуклеопротеидов, является как бы простетической группой фермента. Известно, что многие двухкомпонентные ферменты содержат в качестве простетических групп различные нуклеиновые кислоты (нуклеотиды). Такое строение нуклеопротеидов значительно отличает их от простых белков (альбуминов, глобулинов и др.). Наконец, о наличии ферментативной активности у нуклеопротеидов позволяют думать результаты работ Н. В. Ельциной (3) и И. Н. Иванова, Б. С. Касавиной и С. И. Пехтеревой (4), так как структурный белок, с которым они работали, содержит дезокси- и рибонуклеопротеиды (5, 6). Более того, учитывая исключительно важную и многостороннюю роль нуклеопротеидов в разнообразных проявлениях физиологической функции клетки и живого вещества (7), представляется возможным предполагать наличие у них целого ряда активностей, т. е. рассматривать нуклеопротеид, ядерный и цитоплазматический, как «поливалентный в каталитическом отношении белок» (1). Изучая гистохимически фосфатазы животных тканей, мы сделали несколько наблюдений, позволяющих предполагать существование у ядерного нуклеопротеида глицерофосфатазной активности. Данная работа и была предпринята для ее доказательства биохимическим методом.

Методика

Ядерный нуклеопротеид получался в нативном виде из вилочковой железы телят по методу Мирского и Поллистера (8), но промывка тканевой кашицы производилась дважды раствором с цитратом натрия

(0,13 M NaCl и 0,01 M цитрат натрия) для устранения цитоплазматических материалов и деполимеразной активности и затем дважды нейтрализованным физиологическим раствором NaCl. Водный раствор нуклеопротеида получался путем диализа солевого раствора в целлофановом мешочке против нейтрализованной дистиллированной воды при постоянном помешивании ее электромешалкой. Вся препаративная работа велась в холодной комнате при 0°*. Глицерофосфатазная активность нуклеопро-

Таблица 1

Щелочная глицерофосфатазная активность ядерного нуклеопротеида

Нуклеопроteid	К-во освобожденногo неорганич. фосфора пo мг за 1 час инкубации при 37°	
	на 1 мг сухого белка	на 1 мг азота белкa
Без осаждения (маточный экстракт)	10,1	60,0
После 1 осаждения	8,7	52,5
„ 2 осаждений	3,6	23,0
„ 3 „	6,4	38,0
„ 5 „	7,0	41,0
„ 7 „	9,0	56,6
„ 9 „	10,5	65,0
„ 11 „	15,0	90,0
Водный раствор, полученный путем диализа солевого раствора нуклеопротеида, трижды осажденного	5,1	30,0
Осажденный 2 раза, затем диализованный до растворения, высушенный из раствора в виде мелких хлопьев добавлением NaCl до концентрации физиологического раствора, вновь растворенный в 1 M NaCl и снова осажденный в дистиллир. воде	7,0	42,7

теида определялась следующим образом: 3 мл солевого раствора вливалось в 18 мл охлажденной дистиллированной воды; образовавшиеся нити отцентрифугировывались, отстой сливался, а к нитям добавлялось 10 мл щелочной или кислой субстратной среды. В случае водного раствора 10 мл среды добавлялось прямо к 3 мл нуклеопротеида. Состав щелочной среды (рН 9,4): 0,5 г медианала, 0,5 г глицерофосфата натрия, 100,0 мл дистиллированной воды и 2,0 мл 2% раствора кристаллического сернокислого магния. Состав кислой среды: 0,5 г глицерофосфата натрия и 100,0 мл 0,2 M ацетатного буфера (рН 5,0). Инкубация производилась в водяной бане при 37° в течение 1—17 час. Прекращение ферментативной реакции осуществлялось

добавлением 20% CCl_3COOH из расчета, чтобы конечная концентрация ее в растворе была 5%. После фильтрования фосфор определялся по Фиске — Суббароу. Активность рассчитывалась по нарастанию неорганического фосфора и пересчитывалась на 1 мг сухого белка и на 1 мг азота. Для определения веса сухого белка в различных пробах нуклеопротеида последний осаждался 10% CCl_3COOH , промывался 96° спиртом, эфиром и абсолютным эфиром. Азот высушенного нуклеопротеида определялся по методу Кьельдаля.

Результаты

Полученные данные суммированы в табл. 1 и 2. Они свидетельствуют о наличии глицерофосфатазной активности у ядерного нуклеопротеида. Эта активность после 1—2 осаждений падает, а затем по мере очистки препарата активность его неуклонно возрастает. Снижение глицерофосфатазной активности нуклеопротеида после первых осаждений объясняется, вероятно, отмыванием водорастворимого фермента. Несомненно,

* Препаративное получение ядерного нуклеопротеида производилось в отделе биохимии Института экспериментальной медицины АМН СССР.

Считаю приятным долгом выразить глубокую благодарность моему руководителю проф. Л. Ф. Ларионову за ценные указания, которые привели к постановке данной работы.

Поступило
24 VIII 1953

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ В. А. Энгельгардт, Усп. совр. биол., 14, в. 2, 177 (1941). ² А. И. Опарин, Журн. общ. биол., 12, № 6, 369 (1951). ³ Н. В. Ельцина, Биохимия, 13, в. 4, 351, (1948). ⁴ И. Н. Иванов, Б. С. Касавина, С. И. Пехтерева, Биохимия, 13, в. 4, 310 (1948). ⁵ В. С. Шапот, В. Л. Немчинская, ДАН, 70, № 1, 465 (1950). ⁶ Е. Я. Рашба, Ц. М. Штутман, Укр. биохим. журн., № 1, 89 (1951). ⁷ О. Б. Лепешинская, Происхождение клеток из живого вещества и роль живого вещества в организме, 1950. ⁸ E. Mirsky, A. Pollister, J. Gen. Physiol., 30, 117 (1946).