

Е. Г. ПЛЫШЕВСКАЯ и Е. Л. РОЗЕНФЕЛЬД

О ВЗАИМОДЕЙСТВИИ РАЗЛИЧНЫХ БЕЛКОВ С ГЛИКОГЕНОМ

(Представлено академиком А. И. Опариним 31 XII 1953)

В опубликованных ранее работах сообщалось, что гликогены мышц образуют комплексы с такими мышечными белками, как миозин и миоген. Это было установлено различными методами, в том числе ферментативным, электрофоретическим и спектральным (1-3).

Представляло интерес выяснить, является ли способность взаимодействовать с гликогеном специфичной только для мышечных белков или свойственной также и белкам другого происхождения.

Для выяснения этого вопроса нами были выбраны следующие белки: яичный альбумин, фибриноген и эдестин (в качестве представителя растительных белков). Эдестин легко получается в кристаллическом виде, в отличие от многих других растительных белков, получение которых в чистом виде связано со значительными затруднениями. Спектр поглощения его типичен для белков с максимумом поглощения у 2800 Å (см. рис. 3 а). Спектры поглощения фибриногена и яичного альбумина представлены на рис. 2 а и 4 а.

Из многочисленных литературных данных известно, что спектры поглощения белков в области выше 2500 Å обусловлены входящими в их состав ароматическими аминокислотами: триптофаном, тирозином и фенилаланином. Тонкая структура спектров ароматических аминокислот исчезает в спектре белкового вещества вследствие наложения полос поглощения отдельных аминокислот.

Обычно максимум поглощения белкового вещества находится у 2800 Å с возможным смещением в ту или другую сторону на 50 Å. Это хорошо подтверждается и приведенными нами микрофотограммами 1 а, 2 а, 3 а, 4 а.

Содержание ароматических аминокислот в исследованных нами белках (4) и максимумы их поглощения (5) приведены в табл. 1.

Таблица 1

	Положение максимума поглощения в Å	Миозин в %	Фибриноген в %	Эдестин в %	Яичный альбумин в %
Триптофан	2800	0,8	3,3	1,6	1,4
Тирозин	2770	3,2	5,8	4,3	4,0
Фенилаланин	2580	4,3	4,2	5,5	7,4

Для выяснения возможности комплексообразования указанных белков с гликогеном мышц нами были исследованы их спектры поглощения в ультрафиолетовой области. Выбор полисахарида объясняется тем, что гликоген мышц обладает большей реакционной способностью, чем все

другие исследованные нами полисахариды, благодаря чему особенности комплексирования выявляются наиболее отчетливо.

Все измерения производились на кварцевом спектрографе Q-12 с последующим микрофотометрированием на микрофотометре Крюсса.

Концентрация белка во всех случаях была 3 мг/мл, гликогена 2, 4 и 8 мг/мл. Растворы готовились на фосфатном буфере при pH 7,0—7,2. Необходимость неизменности pH во всех опытах была обусловлена тем, что спектр поглощения тирозина благодаря фенольной группе сильно зависит от pH, а в данных условиях pH имеет один максимум поглощения у 2770 Å. Спектр поглощения остальных аминокислот, как известно, от pH раствора зависит в значительно меньшей степени (5).

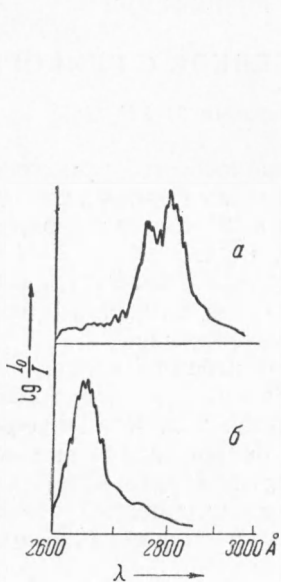


Рис. 1. *a* — миозин; *б* — миозин + гликоген конц. 2,0 мг/мл

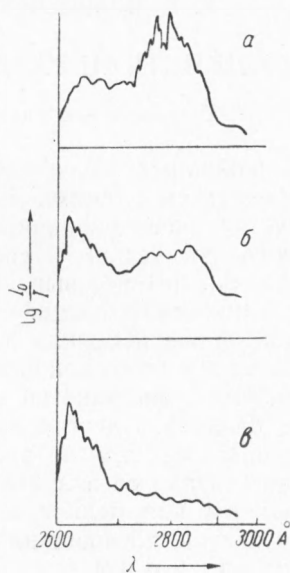


Рис. 2. *a* — фибриноген; *б* — фибриноген + гликоген конц. 2,0 мг/мл; *в* — фибриноген + гликоген конц. 4,0 мг/мл

На рис. 1 *a* и *б* для сравнения приведены спектры поглощения миозина с максимумом у 2800 Å и миозино-гликогенового комплекса с максимумом поглощения у 2650 Å. Как видно из рисунка, при концентрации гликогена 2 мг/мл все группы белка, ответственные за поглощение в области 2800 Å, оказываются связанными, что приводит к отсутствию поглощения в этой области спектра.

На рис. 2 приведены спектры поглощения фибриногена плазмы кошки и фибриногено-гликогеновых комплексов при концентрации гликогена в 2 и 4 мг/мл. Из рис. 2 *б* видно, что концентрация гликогена равная 2 мг/мл, еще не достаточна для полного исчезновения поглощения самого фибриногена в области 2800 Å, хотя уже отчетливо выступает максимум поглощения комплекса в области 2600—2650 Å. На рис. 2 *в* видно, что при концентрации гликогена 4 мг/мл фибриноген полностью связывается в комплекс.

На рис. 3 приведены спектры поглощения эдестина и эдестино-гликогеновых комплексов. На рис. 3 *б* имеется два максимума поглощения: у 2650 Å максимум поглощения комплекса и более коротковолновая часть поглощения самого белка — эдестина. На рис. 3 *в* концентрация гликогена равна 4 мг/мл, но, как мы видим, это не приводит к дальнейшему связыванию белка и, наряду с максимумом поглощения комплекса, всегда существует значительное поглощение эдестина.

На рис. 4 приведены спектры поглощения кристалликов альбумина и яичного альбумина с гликогеном в концентрации 2, 4 и 8 мг/мл. Из рис. 4 б, в и г видно, что для полного связывания яичного альбумина требуется 8 мг/мл гликогена.

Из приведенных выше микрофотограмм следует, что исследованные нами белки, так же как и миозин, способны образовывать комплексы с гликогеном и максимум поглощения образующихся комплексов лежит в области 2600—2650 Å, как и в случае гликогено-миозинового комплекса.

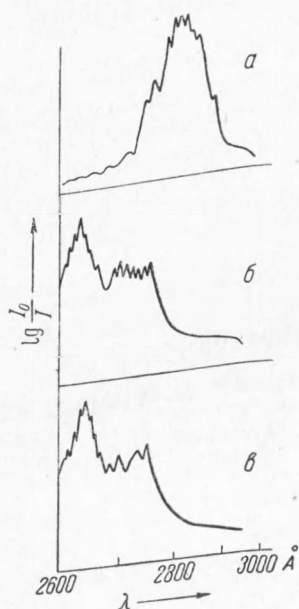


Рис. 3. а — эдестин; б — эдестин + гликоген конц. 2,0 мг/мл; в — эдестин + гликоген конц. 4,0 мг/мл

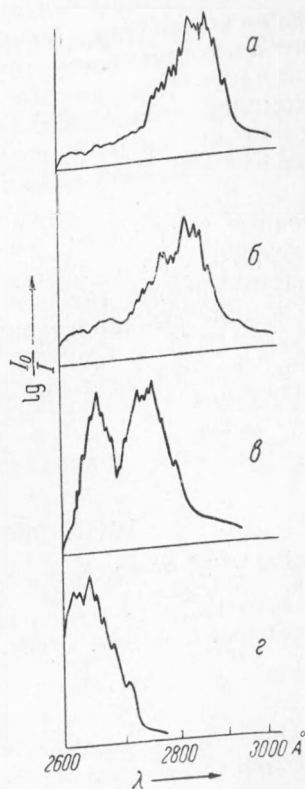


Рис. 4. а — яичный альбумин; б — яичный альбумин + гликоген конц. 2,0 мг/мл; в — яичный альбумин + гликоген конц. 4,0 мг/мл; г — яичный альбумин + гликоген конц. 8,0 мг/мл

Но вместе с тем нельзя не отметить тот факт, что наибольшую активность в процессе комплексообразования из всех исследованных нами белков проявляет миозин.

По степени способности к комплексообразованию исследованные белки можно расположить в следующий ряд: миозин, фибриноген, эдестин, яичный альбумин.

Сопоставление аминокислотного состава исследованных белков с полученными нами данными не дает возможности объяснить особенности их комплексообразования с гликогеном, так как процент ароматических аминокислот у всех белков приблизительно одинаков. Повидимому, причина этих различий значительно сложнее и обусловливается особенностью структуры всей молекулы в целом, в частности, расположением и взаимосвязью этих аминокислот в самой молекуле белка.

Говоря о значении структуры белковых молекул в процессе комплексообразования, следует отметить, что наибольшей способностью к ком-

плексированию отличаются фибриллярные белки (миозин и фибриноген) в отличие от глобулярных белков. Предварительная денатурация глобулярных белков значительно усиливает их способность к комплексообразованию.

Вопросу о значении денатурации белков в процессе их комплексообразования с полисахаридами будет посвящено отдельное сообщение.

Из многочисленных наблюдений, имеющихсся в нашем распоряжении, мы можем заключить, что в процессе комплексообразования прежде всего связываются группы белка, ответственные за более длинноволновую часть спектра поглощения (повидимому, триптофановые группы), и уже после этого идет связывание групп белка, поглощающих в более коротковолновой части (тирозиновые группы).

При комплексовании с теми же белками других полисахаридов выявляется та же закономерность, т. е. наибольшей способностью к комплексованию обладает миозин, затем фибриноген, эдестин и яичный альбумин.

Полученные результаты приводят нас к заключению о крайне широкой способности к комплексованию с полисахаридами различных белков как растительного, так и животного происхождения. Образующиеся при этом комплексы характеризуются одним и тем же поглощением в области 2600—2650 Å. Степень же связываемости белка полисахаридом различна и зависит, повидимому, от особенностей структуры молекул различных белков.

Поступило
4 VIII 1953

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Е. Л. Розенфельд, Х. М. Равикович, ДАН, 59, 45 (1948). ² Е. Л. Розенфельд, ДАН, 62, 77³ (1948). ³ Т. Т. Болотина, Е. Л. Розенфельд, ДАН, 87, 643 (1952). ⁴ D. Greenberg, Aminoacids and Proteins, 1951. ⁵ H. Dannenberg, Angew. Chem., 63, No. 9, 208 (1951).