

Б. А. ТАЛМУД

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ГЛОБУЛЯРНЫХ БЕЛКОВ С ЭФИРАМИ ФЕНИЛАЛАНИНА И ТИРОЗИНА

(Представлено академиком А. И. Опариным 8 VI 1954)

В одной из предыдущих работ ⁽¹⁾ нами было показано, что при взаимодействии яичного альбумина с этиловым эфиром гликокола происходит перенос гликокола на белок и вытеснение из белка аспарагиновой кислоты. Этот факт нами трактовался как возможное доказательство динамического поведения глобулярных белков в растворе.

В настоящей работе продолжено аналогичное исследование взаимодействия между глобулярными белками — яичным и сывороточным альбуминами — и другими эфирами аминокислот, а именно эфирами фенилаланина и тирозина. В результате этих исследований было показано, что эфир фенилаланина вытесняет из белков тирозин. Эфир тирозина, повидому, не вытесняет фенилаланина.

Опыты проводились следующим образом. К водному раствору кристаллического белка (концентрация от 1 до 2,5%) прибавлялся водный раствор солянокислого этилового эфира аминокислоты, предварительно нейтрализованный NaOH (до pH 8). Весовые количества белка и эфира аминокислоты относились как 1 : 1; 1 : 1,5; 1 : 2. К полученной смеси в качестве антисептика прибавлялся толуол или NaF (0,3%). Смесь помещалась в термостат при 37° на 2—4 суток. После этого часть реакционной смеси испытывалась методом хроматографии на бумаге ⁽²⁾ на появление вытесненных из белка аминокислот. Одномерная восходящая хроматограмма проявлялась смесью *n*-бутанола, метилэтилкетона, воды и диэттиламина (20 : 20 : 10 : 2). В этих условиях фенилаланин и тирозин хорошо разделяются: фенилаланин имеет R_f 0,65, а тирозин 0,40. Основная масса реакционной смеси диализовалась против воды, а затем подвергалась кислотному гидролизу (24 часа в кипящей 6*N* HCl). В гидролизате определялся тирозин фотоколориметрически при помощи α -нитрозо- β -нафтола ⁽³⁾.

Прежде чем перейти к обсуждению полученных результатов, следует остановиться на вопросе защиты реакционной смеси от микробиальных влияний и загрязнений. В одном из опытов реакционная смесь была приготовлена без антисептика. В качестве контроля брался раствор сывороточного альбумина той же концентрации и при том же pH, что и в реакционной смеси. Оба раствора помещались в термостат. Через 44 часа из обоих растворов был произведен посев на мясо-пептонный агар *. При этом в 1 мл контрольного раствора выросли десятки миллионов сапрофитных бактерий, а в 1 мл реакционной смеси выросли единичные клетки — около 40, т. е. в количестве, при котором микробиальные загрязнения не могут оказывать заметного действия. Повидому, эфир фенилаланина препятствует развитию бактерий в растворе. Тем не менее, мы все же при-

* Определения были проведены Т. С. Ремезовой, за что мы приносим ей благодарность.

бавляли к реакционной смеси толуол или NaF, так как часть опытов проводилась в течение более длительных сроков.

Во всех случаях, когда к белку прибавлялся эфир фенилаланина, на хроматограммах появлялось пятно тирозина. При взаимодействии белков с эфиром тирозина на хроматограммах не появлялось пятно фенилаланина.

В гидролизате проводилось прямое определение тирозина фотоколориметрически. Точность определения $\pm 3\%$. Содержание тирозина в гидролизате белка после взаимодействия с эфиром фенилаланина всегда было ниже, чем в гидролизате исходного сывороточного альбумина (человека). В исходном белке было найдено 5% тирозина, в белке после взаимодействия с эфиром фенилаланина — от 4,1 до 4,3%, т. е. содержание тирозина уменьшалось на 14—18%. В том опыте, который был проверен на микробильные загрязнения, тирозина было найдено 3,6% — на 28% меньше, чем в исходном альбумине. К сожалению, не удалось установить связь между количеством вытесненного из белка тирозина и концентрацией белка в реакционной смеси, весовыми отношениями белка и эфира аминокислоты и длительностью нахождения смеси в термостате.

В опытах с яичным альбумином уменьшение содержания тирозина в гидролизате белка после опыта составляло 11—16%. В одном опыте, в котором была резко повышена концентрация белка в реакционной смеси (6%), содержание тирозина в гидролизате уменьшилось на 25%.

В работе А. Г. Пасынского и Д. Л. Талмуда (⁴) показано, что в присутствии трипсина под высоким давлением (5400 атм.) происходит внедрение фенилаланина в молекулу сывороточного альбумина с вытеснением из белка тирозина. Наши опыты показывают, что вытеснение тирозина может иметь место при действии на белок эфира фенилаланина, т. е. происходит под действием богатых энергией производных аминокислот без участия фермента.

Накопление данных о взаимодействии большого числа разнообразных энергетически богатых производных аминокислот с разными белками поможет ближе подойти к пониманию этого своеобразного взаимодействия. Для познания механизма этого процесса необходимо прежде всего установить, происходит ли внедрение и вытеснение аминокислоты внутри молекулы глобулярного белка или по концам образующих ее цепей.

Институт биохимии им. А. Н. Баха
Академии наук СССР

Поступило
4 VI 1954

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ П. В. Афанасьев, Б. А. Талмуд, Д. Л. Талмуд, ДАН, **90**, 619 (1953).
² Н. Н. Сисакян, Э. Н. Безингер, П. Г. Гаркави, Г. Я. Кивман, ДАН, **96**, № 2 (1954). ³ L. E. Thomas, Arch. Biochem., **5**, 175 (1945). ⁴ А. Г. Пасынский, Д. Л. Талмуд, ДАН, **85**, 1361 (1952).