

Л. М. АМИРХАНОВА

ЭЛЕКТРОННОМИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕПЛОВОЙ ДЕНАТУРАЦИИ ПРОКОЛЛАГЕНА. I*

Известно, что макромолекула проколлагена представляет собой палочкообразную тройную спираль длиной 3000 Å и диаметром 15 Å, которая распадается на хаотические клубки при нагреве растворов до 40°C [1].

Из работ по тепловой денатурации проколлагена особое внимание привлекла работа Энгела, где было показано, что нагрев растворов проколлагена до 35°C снижает асимметрию макромолекулы без изменения молекулярного веса; резкое падение вязкости, оптической активности и молекулярного веса происходит лишь при нагреве до 40°C [2].

Цель настоящей работы—при помощи электронной микроскопии проследить за теми изменениями, которые сопутствуют макромолекулам в процессе тепловой денатурации.

Материал и методика. В работе использовался кислотнорастворимый проколлаген из кожи белых крыс. Препарат белка был любезно предоставлен Чанчалашвили Э. И. Белок экстрагировали по методу Франконса и Глимчера [3]. Раствор белка двукратно переосаждали и фракционировали хлороформом. Окончательную очистку от нерастворимых частиц и агрегатов проводили в препаративной ультрацентрифуге при 100000 g.

Для электронной микроскопии использовались растворы с концентрацией белка, равной 0,005%: растворитель—0,05%, уксусная кислота, pH 4,0, температура растворов—20°C, 35°C, 38°C, 40°C. В трех последних случаях растворы проколлагена выдерживались в термостате в течение 10 мин.

Препарирование объектов для электронной микроскопии проводили с использованием метода реплик с предварительным оттенением платиной. Измерения проводились на микроскопе JEM—7 при 80 кв.

Результаты и обсуждение. На рис. 1 представлена картина, характеризующая растворы проколлагена при 20°C. Заметно упорядоченное распределение макромолекул с межмолекулярным расстоянием порядка длины макромолекулы. Рис. 2 характеризует растворы проколлагена, нагретые до 35°C. Здесь видно нарушение порядка в распределении макромолекул, заметны значительные пустоты в пространстве между макромолекулами, а также изменение присущей мак-

* Экспериментальная часть работы была проведена в Институте физики АН Груз. ССР.

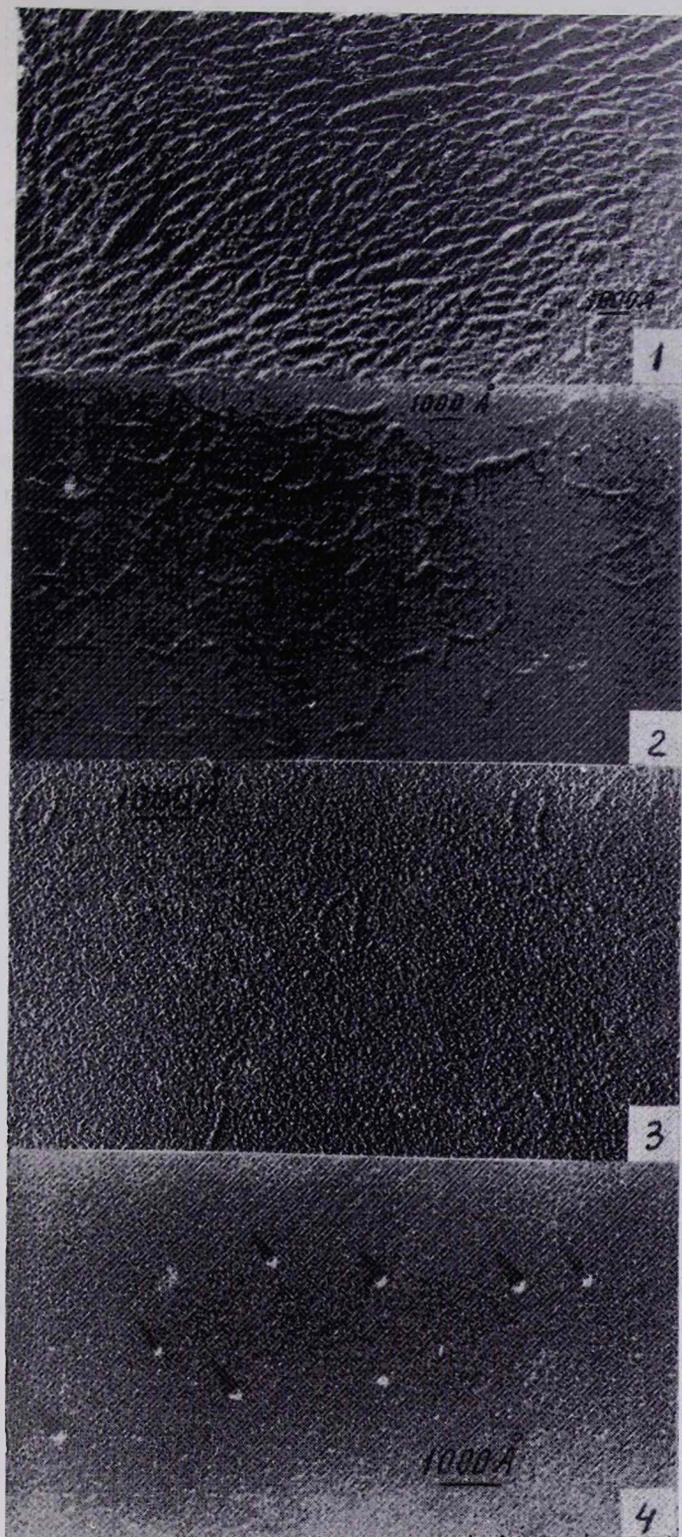


Рис. 1. Проколлаген при 20°C (×50000).

Рис. 2. Проколлаген, нагретый до 35°C (×100000).

Рис. 3. Проколлаген, нагретый до 38°C (×100000).

Рис. 4. Проколлаген, нагретый до 40°C (×100000).

ромолекуле жесткости. Рис. 3 характеризует растворы, нагретые до 38°C. Отмечаются подковообразные частицы. Это соответствует значительному уменьшению радиуса инерции макромолекулы, потере присущей ей асимметрии. На рис. 4 видны клубкообразные частицы. Нагрев растворов проколлагена до 40°C, действительно, приводит к распаду макромолекулы на полипептидные нити, которые сворачиваются в клубки [1].

Таким образом, приведенные в статье рисунки показывают, что в растворе проколлагена при 20°C существует порядок относительно макромолекул, который нарушается при нагреве растворов до 35°C; переход палочкообразной макромолекулы проколлагена в клубкообразные частицы совершается через промежуточное состояние, когда макромолекула складывается.

Институт экспериментальной биологии
АН АрмССР

Поступило 20.XII 1976 г.

Լ. Մ. ԱՄԻՐԽԱՆՈՎԱ

ԿՈՆԱԳԵՆՆԻ ԶԵՐՄԱՅԻՆ ԴԵՆԱՏՈՒՐԱՑԻԱՅԻ ԷԼԵԿՏՐՈՆԱՄԻԿՐՈՍԿՈՊԻԿ ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅՈՒՆԸ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Ուսումնասիրվել է կոլագենի մակրոմոլեկուլի վիճակը 20° և մինչև 35°, 38°, 40°C տաքացված լուծույթներում:

Սենյակային ջերմաստիճանում (20°C) կոլագենը լուծույթում ունի վերմոլեկուլյար կառուցվածք, որը խախտվում է լուծույթը մինչև 35°C տաքացնելու գնացում: Զերմաստիճանը լուծույթում մինչև 40°C բարձրացնելիս ցուպիկանման մակրոմոլեկուլները վերածվում են գառույան գծիկների: Այդ անցման ժամանակ նկատվում է միջանկյալ վիճակ, որի ընթացքում մակրոմոլեկուլը վերածեալորվում է:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Boedtker H., Doty P. J. Amer. Chem. Soc., 78, 4267, 1956.
2. Engel I. Arch. Biochem. and Biophys., 97, 150, 1962.
3. Francois C. J. Glimcher, BBA, 97, 366, 1965.