

тех или иных изоформ белков. Большая степень изменчивости медленносоcontractующихся мышц подтверждается также данными измерения физиологических параметров сокращения глицеринизированных мышечных волокон в эксперименте и работы скелетных мышц человека методом «Миотест» [5, 6]. Таким образом, значение фенотипа скелетных мышц как фактора, лимитирующего адаптивные реакции в экстремальных условиях, должно быть учтено при разработке профилактических и восстановительных тренировочных режимов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Давтян Ж. С. Автореф. дисс. канд., Ереван, 1982.
2. Ильин Е. А., Новинов В. Е. Космич. биол., 14, 3, 79—80, 1980.
3. Кайфаджян М. А. Автореф. канд. дисс., Ереван, 1985.
4. Оганесян С. С. Биолог. ж. Армении, 7, 661—672, 1978.
5. Оганов В. С., Скуратова С. А., Ширванская М. А. 16-е Совещ. соц-стран по космической биологии. Тез. докл., 37—38, Варна, 1982.
6. Оганов В. С. Автореф. докт. дисс., М., 1984.
7. Оганов В. С., Скуратова С. А., Мурашко Л. М. и др. Биофизика, 27, 36—30, 1982.
8. Тикуннов Б. А., Кайфаджян М. А., Оганесян С. С. Космич. биол., 18, 5, 44—48, 1984.
9. Тикуннов Б. А. Автореф. канд. дисс., Ереван, 1985.
10. Тикуннов Б. А., Кайфаджян М. А., Оганесян С. С. Космич. биол., 19, 5, 60—61, 1985.
11. Close R. I. *Physiol. Rev.*, 52, 129—197, 1972.
12. Furukawa T., Peter I. *Exptl. Neurol.*, 36, 35—40, 1972.
13. Gorza L., Mercudter I., Schwartz K. et al. *Circulat. Res.*, 54, 694—702, 1984.
14. Hoh I. F. *FEBS Lett.*, 90, 297—298, 1978.
15. Hoh I. F., Mc Grath P., Halte P. J. *Mol. Cell. Cardiol.*, 11, 1053—1056, 1978.
16. Hoh I. F., Yeon G. P. *Nature*, 280, 5720, 321—323, 1979.
17. Lowey S. In *Plasticity of Muscle* Ed. Heilman P., Berlin—N.—Y., 69—81, 1980.
18. Oganessyan S. S., Zamnian T. S. et al. *J. Molec. Cell. Cardiol.*, 5, 1—24, 1973.
19. Salvati J., Betto R., Betto D. *Biochem. J.*, 207, 261—272, 1982.
20. Schatz F. H., Bronson D. D., Mc Donald D. *FEBS Lett.*, 122, 80—82, 1980.
21. Szylagyl T., Szöör A., Takacs O. et al. *Advances physiol. Sci.* 19, Gravittona *Physiol.* Pergamon Press., 97—103, 1980.

Институт кардиологии МЗ Армянской ССР,  
лаборатория молекулярной кардиологии

Поступило 15.XI 1985 г.

УДК 612.744.14

## ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ АКТОМИОЗИНОВОГО КОМПЛЕКСА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ИОННЫХ СИЛАХ СРЕДЫ

Б. А. ТИКУНОВ

Установлено двухстадийное протекание реакций суперпреинициации и АТФазы нативного актомиозина из скелетных мышц крыс. Показана возможность модулирования кинетики отдельных стадий этих реакций путем варьирования ионной силы раствора. Предполагается, что в основе проявления отдельных стадий лежат различные молекулярные механизмы, и это имеет важное значение для функционирования актомиозинового комплекса.

Ազդեցություն է արեւտեղերի կծախրացիւն միաններէց անջատման նախիջ ակտոմիոզինի աւելարարեցիւթրուացիայի և ԱՏՖ-ագային Լրկաստիճան փոփոխութիւնը: Յայտ է տրման այդ ռեակցիաների տարրեր աստիճանների կիներիկայի հանախականութիւն փոփոխման նախադրութիւնը լուծուցիթ իրանկան ութի փոփոխմամբ: Ընթացիւթում է, որ առանձին աստիճաններթ շիմում նանկն ևն դայիս տարրեր մուրկուցլար միխանիզմներ, որն ունի կարևոր նշանակութիւն ակտոմիոզինային կոմպլեքսի դորմուցութիւն համար:

The two stage proceeding of superprecipitation and ATPase of native actomyosin from rats skeletal muscles has been established. The possibility of these reactions different stages kinetiles modulating by the way of solution ionic strength variation has been shown. It has been supposed that various molecular mechanisms are the foundation of two stages of SPP and it is important for the functioning of actomyosin ATPase reactions.

Ключевые слова: скелетные мышцы, актомиозин, суперпреципитация, АТФазная сила.

Известно, что в актомиозиновой суспензии при низких ионных силах в процессе гидролиза АТФ может протекать реакция суперпреципитации (СПП). Несмотря на многочисленные исследования, молекулярные механизмы СПП до конца не выяснены, а предлагаемые схемы носят больше гипотетический характер [1, 3, 5]. Предполагается, что в ходе СПП образуется комплекс актина с миозином и нейтрализуется поверхностный заряд комплекса, и это приводит к выпадению белковых хлопьев [1, 4]. В последние годы была показана возможность протекания СПП в две и более стадий и выдвинуто предположение о том, что каждая стадия отражает определенное состояние актомиозинового комплекса [8].

Нами было зарегистрировано двухстадийное протекание не только СПП, но и АТФазной реакции актомиозина и изучено влияние ионной силы на кинетику отдельных стадий.

**Материал и методика.** Нативный актомиозин (НАМ) получали согласно описанному методу [6] из бедренных мышц белых крыс линии Вистар. Чистоту белковых препаратов проверяли электрофоретическим путем [9], а концентрацию актомиозина определяли спектрофотометрически. Кинетические кривые СПП и АТФазной реакции НАМ регистрировали синхронно на установке, собранной по схеме, предложенной Заинишвили [2].

Поскольку даже при обычном одностадийном протекании СПП (часть кривой в интервале  $t_0$ ,  $t_2$ , рис. 1а) последовательно наступают две фазы—фаза просветления

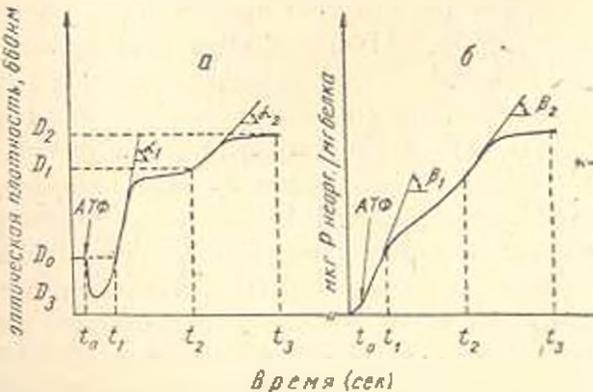


Рис. 1. Графический расчет характеристических параметров СПП (а) и АТФазы (б) по кинетическим кривым, регистрируемым при стадийном протекании реакций. Значения  $t_0$ ,  $t_1$  и  $t_2$  равны на рис. (а) и (б).

актомиозиновой суспензии (интервал  $t_0-t_1$ ) и собственно СПП (интервал  $t_1-t_2$ ), мы рассчитывали следующие параметры первой стадии реакции: глубина ( $D_n = D_0 - D_2$ ) и длительность ( $t_0 = t_1 - t_0$ ) фазы просветления, степень ( $D_1 = D_1 - D_2$ ) и скорость ( $1/g_1$ ). Во второй стадии (интервал  $t_2-t_3$ ) рассчитывали время ее наступления ( $t_{11} = t_2 - t_0$ ), степень ( $D_{11} = D_2 - D_1$ ) и скорость ( $1/g_2$ ). Скорость гидролиза АТФ на первой и второй стадиях изменяли по тангенсам углов  $\beta_1$  и  $\beta_2$  соответственно (рис. 1б).

Реакции СПП и АТФазы актомиозина изучали при 25° в сантиметровых стеклянных кюветках. Суммарный объем пробы составлял 7 мл. Инкубационная среда содержала: 20 мМ Трис-НСl (рН 7,35), 4 мМ  $\beta$ -меркаптоэтанол, 7 мг белка. Конечная концентрация вводимого в пробу АТФ составляла 0,5 мМ.

**Результаты и обсуждение.** Как следует из рис. 2, оптимальные значения ионной силы для СПП и АТФазы НАМ в первой и во второй стадиях реакций различаются примерно на 0,1 единицы.

По мере увеличения ионной силы вплоть до значения 0,125 повышающиеся степени СПП и АТФазной активности НАМ в первой стадии не сопровождается заметными изменениями этих параметров во второй.

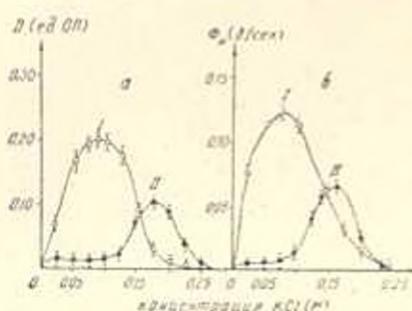


Рис. 2.

Рис. 2 Зависимость степени СПП (а) и АТФазной активности (б) НАМ бедренных мышц крыс от концентрации КСl. I и II—первая и вторая стадии реакции.

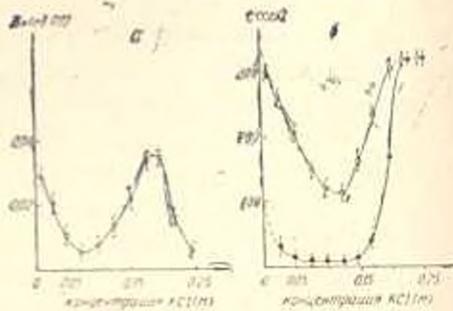


Рис. 3.

Рис. 3 Зависимость глубины (а), длительности (б, кривая 1) фазы просветления и времени наступления второй стадии (б, кривая 2) СПП НАМ бедренных мышц крыс от концентрации КСl.

При ионных силах 0,125—0,175 указанные параметры изменяются в противоположных направлениях в первой и во второй фазах соответственно. Тот факт, что точки пересечения кривых, т. е. равные значения степени СПП и активности АТФазы НАМ первой и второй фаз, наблюдаются в области физиологических значений ионной силы (порядка 0,15), наводит на мысль о том, что стадийность протекания этих реакций может играть важную роль в функционировании актомиозинового комплекса *in vivo*. Аналогичным образом при варьировании ионной силы изменялась также скорость СПП НАМ на обеих стадиях реакции.

Как видно из рис. 2, вторая стадия СПП и АТФазы НАМ значительно медленнее первой. Так, степень СПП и АТФазная активность НАМ во второй стадии почти вдвое ниже величин соответствующих параметров в первой стадии. Скорость СПП НАМ во второй стадии оказалась в 8 раз ниже, чем в первой ( $0,003 \pm 0,0001$  против  $0,024 \pm 0,001$ ).

Согласно современным представлениям, в ходе фазы просветления, предшествующей собственно СПП, происходят некоторые структурные перестройки и частичная диссоциация актомиозинового комплекса, что способствует быстрой реассоциации последнего [4]. Поэтому считается, что чем глубже фаза просветления, тем функционально выше должна быть СПП актомиозиновой суспензии.

Как показали наши исследования, такое предположение справедливо только в отношении второй стадии СПП, на которой глубина фазы просветления изменяется так же, как и степень СПП, в частности, при карьеровании ионной силой раствора (рис. 3а). В противоположность этому в первой стадии реакции степень СПП НАМ изменялась обратно пропорционально глубине фазы просветления. Эти данные указывают на значительные различия в молекулярных механизмах, ответственных за протекание первой и второй стадий реакции СПП.

На принципиальные различия в молекулярной природе первой и второй стадий СПП указывает также неоднозначность зависимости степени СПП этих стадий от длительности фазы просветления суспензии НАМ при различных ионных силах среды (рис. 3б). Если степень СПП, как было показано на рис. 2а, на первой стадии реакции тем выше, чем меньше длительность фазы просветления, то рост степени СПП во второй стадии характеризуется удлинением фазы просветления.

Следует обратить внимание на то, что время наступления второй стадии СПП определяется скоростью протекания первой (рис. 3б). При этом длительность фазы просветления, резко возрастая, достигает длительности наступления второй фазы при высоких ионных силах среды. Поскольку в этих условиях степень СПП первой стадии реакции снижается до нуля (рис. 2а), фаза просветления предшествует уже не первой, а второй стадии СПП НАМ. Происходит как бы «обобществление» фазы просветления, хотя, в отличие от первой стадии реакции, на которой длительность этой фазы и степень СПП изменялись противоположным образом, во второй стадии изменения этих параметров были однозначными.

На основании полученных данных можно предположить, что за двухстадийное протекание СПП и АТФазы НАМ ответственны системы, разделенные по крайней мере двумя общими свойствами: способностью гидролизовать АТФ и изменять при этом комплексообразовательную активность. Несмотря на это, молекулярные механизмы функционирования этих систем, по-видимому, глубоко различны. Наличие же обеих стадий СПП и АТФазы НАМ при физиологических ионных силах среды указывает на важное значение их в функционировании актомиозиновой системы.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Гогоришвили Д. А., Сургуладзе Г. Т., Шрайбман Ф. О., Нацирашвили Н. Ш. В сб.: Вопросы биохимии нервной и мышечной системы, II, 146—157, Тбилиси, 1972.
2. Золишвили М. М. Физико-химические основы мышечной деятельности, 123—125, Тбилиси, 1971.

3. Соколов В. Ю., Богач П. Г., Зимма В. Л., Чан Минь Дон. В кн: Биофизика и биохимия мышечного сокращения. 77—81. М., 1976.
4. Hotta K., Terai F. Arch. Biochem. and Biophys., 114, 288—298, 1966.
5. Levy H. M., May Wai Won. Biochim. et Biophys. Acta, 658, 318—326, 1981.
6. Shaub M. C., Perry S. V. Biochem. J., 107, 263—269, 1967.
7. Strzeleska—Colaszewska H., Piwowar U., Pilszka B. Europ. J. Cell. Biol., 24, 116—123, 1981.
8. Szódr A., Katapos J., Csabina S., Konya L. Kiserleter Orvostudomány, 34, 303—307, 1982.
9. Weber K., Osborn M. Ibid., 244, 4106—4412.

Институт кардиологии МЗ Армянской ССР,  
лаборатория молекулярной кардиологии

Поступило 15.XI 1985 г.

УДК 577 391:576.8.

## КОМБИНИРОВАННОЕ ДЕЙСТВИЕ ЛАЗЕРНОГО И ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ НА ВЫЖИВЛЯЕМОСТЬ КЛЕТОК РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОГО $pol A1^{-}$ МУТАНТА БАКТЕРИЙ *ESCHERICHIA COLI* K-12

К. Ш. ВОСКАНЯН, Н. В. СИМОНЯН, Ц. М. АВАКЯН

Изучено комбинированное действие лазерного и рентгеновского, а также лазерного и  $\alpha$ -излучений на клетки радиочувствительного  $pol A1^{-}$ -мутанта бактерий *E. coli* K-12. Показано, что лазерное воздействие до и после рентгеновского, а также  $\alpha$ -облучения приводит к повышению репродуктивной способности клеток. Последующее лазерное облучение вызывает большую модификацию выживаемости клеток, чем предварительное.

Ճնտազտված է լազերային ճառագայթման և րենտգենյան ճառագայթների, ինչպես նաև լազերային ճառագայթման և  $\alpha$ -մասնիկների հոմոլոգիզացիայի ազդեցությունը *Escherichia coli* K-12 բակտերիաների  $pol A1^{-}$ -ուղիորդայուն մուտանտի վրա: Ցույց է տրված, որ լազերային ճառագայթումը անողնային, ինչպես և  $\alpha$ -ճառագայթումից առաջ և հետո բերում է բջիջների կենսունակության զգալի աճի, իսկիզացետղ ճառագայթմանը հետոզ լազերային ճառագայթումը հանդիսանում է բջիջների կենսունակության ավելի մեծ մոդիֆիկացիայի: Ժան նախնական ճառագայթումը:

The combined effect of laser radiation and X-rays, as well as of that of laser radiation and  $\alpha$ -particles on *Escherichia coli* K-12 cells of radiosensitive  $pol A1^{-}$ -mutant has been studied. The cells survival is shown to increase under the action of laser radiation applied before and after both X-rays and  $\alpha$ -irradiation. Post-irradiation with laser results in a larger modification of the cells survival than pre-irradiation.

*Ключевые слова:* бактерии *E. coli*, лазерное и ионизирующие излучения.

Показано, что лазерное воздействие на клетки бактерий *Escherichia coli* K-12 снижает повреждающее действие ионизирующих излучений [2, 3]. Как известно, закономерности структурно-функциональной организации генетического аппарата в наибольшей степени изучены у прокариот, и прежде всего у бактерий *E. coli*. Получены суперрезистентные мутанты этих бактерий, характеризующиеся лучшей координацией работы деструктивных и ресинтезирующих ферментов [1], а