

3. Berger N. A., Petrolid S. J. Johnson E. S. Biochem. Biophys. Acta 478, 44—58, 1977.
4. Bloom R. S., Anderson J. N. Cell, 15, 141—150, 1978.
5. Cepcechi M. R. Cell, 22, 2, 179—188, 1980.
6. Frost E., Williams J. Virology, 91, 39—50, 1978.
7. Gorman C. M., Howard R. H. Nucleic Acids Research, 11, 21, 7631—7648, 1983.
8. Javaherian K., Fasman G. D. J. of Biological Chemistry, 259, 5, 3345—3349, 1984.
9. Kuo M. T., Iyer R., Schwartz R. J. Nucleic Acids Research, 10, 4565—4578, 1982.
10. Lewis W. H., Srinivasan P. R., Stokoe N. Somatocyt. Louis Somatic Cell Genetics, 6, 3, 333—347, 1980.
11. Peilceer A., Wigler M., Axel R. Cell, 14, 1, 133—141, 1978.
12. Stilaty S. N., Apoashian H. V. Science, 220, 4 8, 725—727, 1983.
13. Southern E. M. J. Mol. Biol., 98, 3, 503—517, 1975.

Поступило 2.11.1989 г.

Биолог. ж. Армении, № 6.(42).1989

УДК 577.352.315

ДВУХКООРДИНАТНАЯ СОЛЮБИЛИЗАЦИЯ МЕМБРАННЫХ БЕЛКОВ

Г. А. МНАЦАКЯНИ, А. С. КАЛАЧЯН, К. А. ШАГИНЯН,
Т. Н. АКОЛЯН, А. А. АРУТЮНЯН

Институт экспериментальной биологии АН АрмССР, Ереван

На основании изучения выхода белка из скелета мембраны в раствор при разных комбинациях концентраций компонентов экстракционной смеси составлены особые диаграммы. По форме так называемой линии полувыхода, проведенной на диаграмме по точкам 50%-ной экстракции белка, выявлены характерные группы среди изученных белков. Для первой группы белков характерна рН-независимость выхода. Для белков второй группы переход зависит как от рН, так и от ионной силы раствора. Линия полувыхода имеет характерную ступеньку. Переход белков третьей группы носит сложный характер зависимости как от рН, так и от ионной силы, линия полувыхода имеет множественные ступени.

Ըստ ճանաչող խառնուրդների կոնցենտրացիաների տարբեր օպտակաբյուրների ազդեցության տակ մեմբրանի բազուկաբյուրային բաժանումը անհավասարապես սպիտակուցային խառնուրդի սպիտակուցի նամար կազմում էն աստիճանի դիագրամները Այսպես կոչված կեսաօրի դիր օպտակաբյուր, որը անցկացվում է սպիտակուցի 50% էլըի կետերով, ի նախ ևն ընդհանրապես անհանձնատուկ խմբեր Առաջին խմբի սպիտակուցների նամար ընթաց է լինում անկախ անցումը թայանթի բազուկաբյուրային լուծույթի ն կրող խմբի սպիտակուցները ցուցաբերում էն անցում, որը կախված է ինչպես լինի, այնպես էլ չափաքան խնայելու ուժը: Երրորդ խմբի սպիտակուցները լուծույթի ցուցաբերում է բարդ կախիմանքային լինի ն խնայելու ուժից: Գնահատվել է ինչպես էն բազուկաբյուրի բեկումները:

Special diagrams are constructed on the basis of study of solubilization of proteins from the membrane in case of different combinations of concentrations of the extraction mixture components. According to the form of the so-called half exit line on the diagrams formed by points of 50 per cent extraction of proteins, the characteristic groups are revealed among the tested proteins. A pH-independent passage is determined for

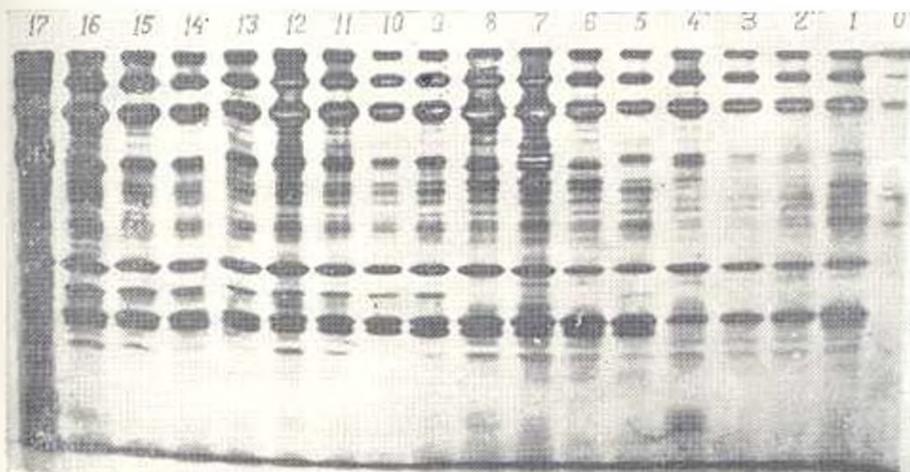


Рис. 1. ДДС электрофорез белков мембран куриных эритроцитов. Селективности мембран куриных эритроцитов проведена буферными растворами с различными значениями pH (6, 7, 8, 9) и возрастающими концентрациями NaCl (0,14 М, 0,35 М, 0,7 М, 1,1 М). Каждая точка электрофореграммы соответствует одной из 16 точек экстракции: треки 1—4 — супернатанты после экстракции 0,14 М NaCl и интервале значений pH 6—9; треки 5—8 — супернатанты после экстракции 0,35 М NaCl, pH 6—9; треки 9—12 — супернатанты после экстракции 0,7 М NaCl, pH 6—9; треки 13—16 — супернатанты после экстракции 1,1 М NaCl, pH 6—9; трек 0 — супернатант после экстракции в 10 мМ фос-НС₂ буфере pH 7,4; трек 17 — целая эритроцитарная мембрана.

the first group of proteins. The passage for the second group depends on *pH*, as well as on ionic strength of the solution. The nature of the third proteins' passage is of complex dependence on *pH* and ionic strength, as the line of half exit possesses multiple bends.

Эритроциты кур—белки мембран—линия полувыхода—двухкоординатная солибилизация.

Благодаря структурно-функциональным исследованиям молекулярных составляющих мембран в настоящее время выработаны достаточно аргументированные представления о существовании целой гаммы белок-липидных и белок-белковых взаимоотношений в структуре мембран [1]. На основании физико-химических особенностей упорядоченной структуры и аминокислотной последовательности белка возможно теоретически предсказать, насколько белок прочно связан с мембраной, является ли он интегральным, трансмембранным или же ассоциирован с мембраной периферически [5, 9]. Однако для исследования характера и динамики взаимодействия белков с ближайшим молекулярным окружением при энзиматических взаимодействиях, а также при лиганд-рецепторных взаимодействиях для оценки степени интегрированности белка в бислой в настоящее время не выработано адекватных методических подходов.

В настоящей работе описывается метод оценки сродства мембранных белков к соответствующей структуре на примере белков плазматических мембран куряных эритроцитов. Суть метода заключается в том, что проводится экстракция белков из мембраны при комбинированном воздействии двух различных солибилизирующих агентов, влияние которых на нативную структуру белка или мембраны неоднотипно. При этом следует ожидать, что изменение параметров среды приведет как к постепенному разворачиванию структур белка высшего порядка, так и к разрушению упорядоченных структур в мембране в ближайшем соседстве с молекулой белка, в результате чего ослабнут связи, стабилизирующие белок в целостной структуре, и на определенной стадии структурных переходов белок перейдет в раствор. Скорее всего такой переход обнаружится при нескольких комбинациях параметров среды, а детальное изучение особенностей перехода, на наш взгляд, позволит выявить новые структурно-функциональные закономерности комплекса белок—мембрана. Так, например, можно ожидать, что комбинирование различных концентраций солей и детергентов может быть удобной двухкомпонентной экстрагирующей средой для оценки соотношения вкладов ионных и гидрофобных взаимодействий в стабилизацию структуры мембраны, а комбинирование условий, обеспечивающих изменение ионной силы и *pH* среды, может выявить вклад в этот процесс ионных взаимодействий типа белок—окружающий раствор и структурных переходов вблизи изоэлектрической точки белка.

Материал и методика. Выделение плазматических мембран. Объектом исследования служили мембраны куряных эритроцитов. После декантации 4-месячных кур породы «белый леггорн» свежую кровь собирали в сосуд с антикоагулянтом (100 мМ 1,5-лимоннокислый, 2% D-глюкоза) из расчета 5—10 мл крови / мл антикоагулянта.

Эритроциты получали методом, предложенным Саллес и др. [13]. Плазматические мембраны из эритроцитов выделяли согласно методу Сузуки и др. [14]. Конечный осадок суспензировали в 10 мМ трис HCl буфере (pH 7.4) до концентрации 1 мг/мл по белку. Мембраны замораживали при температуре -20° и использовали на второй день.

Солюбилизация мембранных белков в двухкомпонентной среде NaCl-pH Исследование характера экстрагируемости белков из мембранного матрикса проводили в 16 отдельных пробах. В каждую пробу разливали по 100 мкл суспензии мембран (соответственно 400 мкг мембранного белка) и добавляли по 400 мкл соответствующих буферов для получения 16 типов экстрагирующих сред, в которых обеспечивается ступенчатое возрастание концентраций NaCl (0,14, 0,35, 0,7, 1,4 М) и изменение pH (6, 7, 8, 9). Экстракцию белков из мембраны проводили при температуре 0° в течение 1 часа при непрерывном перемешивании. Солюбилизированные белки отделяли от мембраны центрифугированием при 30 000Хg в течение 1 часа. Далее белки осаждали добавлением к супернатантам HClO_4 до конечной концентрации 3%. Осадки отделяли центрифугированием при 10 000Хg в течение 10 мин и промывали дважды холодным ацетоном. Каждый осадок растворяли в 75 мкл 1%-ного ДДС-№ и добавляли 25 мкл буфера для электрофореза (500 мМ трис HCl буфер, pH 6,8, 10% β -меркаптоэтанол, 4% ДДС-Na, 20% глицерин). Пробы кипятили в течение 5 мин и наносили на ПААГ.

ПААГ-электрофорез с ДДС. Гель-электрофорез проводили методом Лаэмман [10], используя 10%-ный гель, размером 13Х18 см, толщиной 1,3 мм, который с помощью связывающего агента Silan A-174 прикрепляли к стеклянной пластинке. В аликвотах солюбилизированного материала белок определяли методом Брэдфорда [2], используя в качестве стандарта бычий сывороточный глобин. Нагрузка на один трек при электрофорезе не превышала 100 мкг белка. После окончания электрофореза гель окрашивали 0,25%-ным раствором Кумасси R-250 в 40%-ном изопропанол и 10%-ной уксусной кислоте. Обесвеченный гель на 5 минут погружали в фиксирующий раствор, содержащий 3%-ный глицерин и 70%-ный изопропанол, и сушили на воздухе.

Денситометрирование белковых полос проводили на Ultrascan XI (4 KB).

Результаты и обсуждение. В настоящее время сравнительно детально изучен белковый состав мембран эритроцитов. Данные были получены в основном в изучении солюбилизации мембранных белков разрушающими мембрану агентами и их идентификацией методом ДДС-электрофореза [11, 12, 15, 17]. Классической работой по электрофоретическому разделению белков мембраны эритроцитов человека является работа Фейрбанкса [6], в которой он предложил номенклатуру полипептидных полос, высвобождающихся в солюбилизированном ДДС материале. Из 20 полос он выделил и назвал 7 основных.

В ряде работ [3, 8, 16] описаны условия, при которых можно солюбилизировать те или иные ферменты, белки или сложные белковые комплексы.

Белки, которые вымываются из мембран при достаточно мягкой обработке, согласно литературным данным [7], составляют примерно 40% массы эритроцитарной мембраны. Они локализованы на внутренней стороне мембраны, тесно взаимодействуют друг с другом и стабилизируются преимущественно электростатическими взаимодействиями. Внутренние белки мембраны не солюбилизируются нарушением лишь ионных связей и для их дезагрегации необходимо использование неполярных детергентов [14]. Нами для солюбилизации мембранных белков использовались буфера с различными значениями pH и концентрацией

соли. После экстракции белков, их электрофореза в ПААГ и сканирования электрофореграмм для каждого белка составлялась особая таблица, составленная в виде двухкоординатной диаграммы, на осях которой отложены градиенты двухкомпонентной экстрагирующей смеси. На таблице по точкам, соответствующим 50%-ному выходу белка из мембранного матрикса, строится кривая, которая отражает граничные условия устойчивости белка в составе мембраны. В принципе по таблице и форме кривой можно описать особенности процесса диссоциации белка с мембраны и оценить вклад тех или иных взаимодействий, осуществляющих комплексобразование белок—мембрана.

На рис. 1 (рис. 1, см. вкл. II) представлена электрофореграмма мембранных белков, солюбилизованных растворами с различными значениями pH (6, 7, 8, 9) и возрастающими концентрациями NaCl (0,14, 0,35, 0,7, 1,4 М). Из рисунка видно, что при высокой концентрации NaCl эффективно высвобождает ряд белков, что свидетельствует о преимущественно электростатическом взаимодействии данных белков с мембранным матриксом. Заметны также изменения выхода в раствор в пределах одного значения концентрации NaCl в средах с различными значениями pH. Для интерпретации полученных результатов и анализа

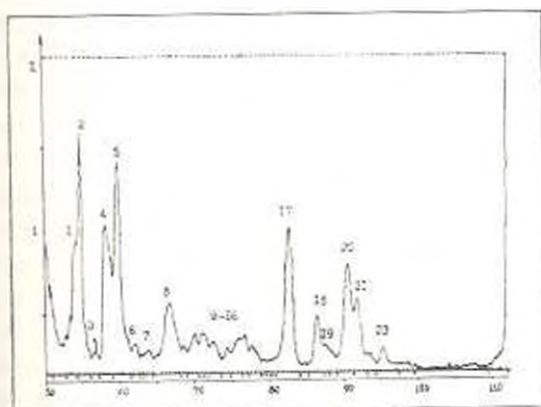


Рис. 2. Профиль трека № 15, измеренный на *Ultascan XI* (ЛКВ). Прономерованные пики белковых полос идентифицированы на остальных треках.

степени сродства каждого белка со структурой мембраны при экстракции в системе NaCl—pH результаты обрабатывали следующим образом. На треке № 15 (рис. 2) наиболее значительные пики были пронумерованы от 1 до 23, далее были идентифицированы их аналоги на остальных 15 денситограммах и определены числовые величины, характеризующие содержание данного белка во всех треках. Для каждой белковой полосы, согласно рисунку рис. 3а, была составлена особая таблица (рис. 3б). На этом рисунке в качестве примера представлены абсолютные значения высот пиков белка полосы 8 на всех 16 электрофореграммах согласно нумерации на рис. 3а. Из рисунка видно, что таблица одновременно является двухкоординатной диаграммой, поскольку

на осях диаграммы, отложены градиенты обоих солюбилизирующих агентов—как концентрации NaCl, так и значения pH. Из диаграммы 3б видно, что имеет место резкий выход белка полосы 8 в раствор

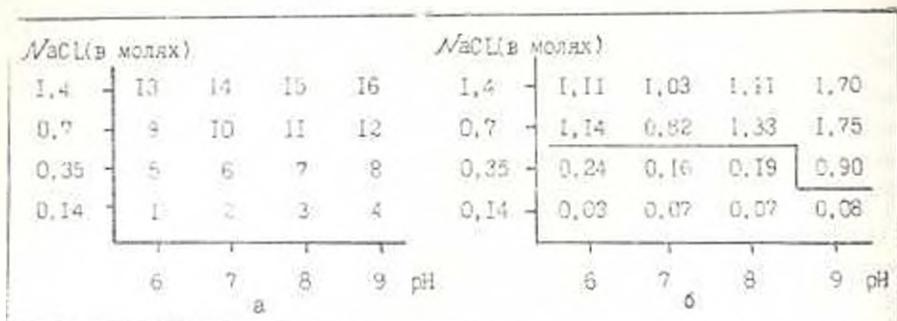


Рис. 3. а) Способ составления двухкоординатной таблицы: цифры от 1 до 16 обозначают номер трека. При построении диаграммы вместо номера трека вписывается значение концентрации белка в данном треке. б). Двухкоординатная таблица-диаграмма белка полосы 8. Числовые значения высот пиков белка полосы 8 на разных треках представлены в соответствии с нумерацией треков на рис. 3а

при переходе точек 5—9, 6—10, 7—11, 7—8. Если представить полученные результаты в виде однокоординатных кривых, характеризующих изменение выхода белка в раствор по одному параметру при неизменном другом, то получим кривые, представленные на рис. 4. Из рис.

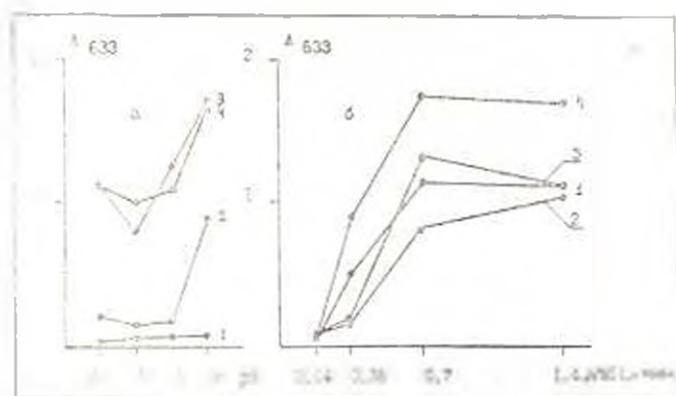


Рис. 4 а) Кривые, изображающие выход белка полосы 8 в раствор в зависимости от изменения pH при постоянном значении концентрации NaCl в среде: кр. 1—0,14 М NaCl, кр. 2—0,35 М NaCl, кр. 3—0,7 М NaCl, кр. 4—1,4 М NaCl. б) Кривые, изображающие выход белка полосы 8 в раствор в зависимости от концентрации NaCl при постоянном значении pH среды: кр. 1—pH 5, кр. 2—pH 7, кр. 3—pH 8, кр. 4—pH 9.

4а видно (кр. 1), что при 0,14 М NaCl практически весь белок находится в связанном с мембраной состоянии, изменение pH в диапазоне 6—9 не вызывает высвобождения белка. При переходе от 0,14 М к

0,35 М NaCl в среде (кр. 2) обнаруживается зависимость выхода белка в раствор от pH. Если в диапазоне 6—8 белок находится преимущественно в связанном состоянии, то при переходе от pH 8 к pH 9 наблюдается резкое увеличение его выхода в раствор. При более высоких значениях NaCl (0,7 М, 1,4 М) наблюдается некоторое уменьшение выхода белка при значениях pH 7 и 8 (кр. 3, 4). Судя по влиянию pH на характер выхода белка из структуры, либо рI белка находится в области значений pH 7—8, либо при переходе этих значений pH происходят какие-то конформационные изменения в ближайшем окружении белка.

Кривые 1, 2, 3, 4 (рис. 4, б), отражающие зависимость выхода белка в раствор от изменения концентрации NaCl в среде, напоминают кривые титрования. На кривых 1, 2, 3 точки титрования, которые соответствуют 50%-ному выходу белка из структуры, сгруппированы между 0,35 и 0,7 М NaCl, однако на кривой 4 точка титрования сильно смещена влево, т. е. при pH 9 происходит резкое изменение выхода белка в экстрагирующий раствор.

Исходя из вышесказанного можно заключить, что высвобождение из мембраны белка полосы 8 в целом зависит как от концентрации NaCl, так и от pH. Изложенный выше способ анализа и представления данных малоинформативен, поэтому нам представляется целесообразным обобщить данные с помощью так называемой линии полувыхода. Эта линия проводится по точкам 50%-ной экстракции белка в раствор (рис. 3б). Она разделяет все поле на две области. Нижняя область охватывает условия, при которых белок находится в преимущественно связанном с мембранным матриксом состоянии, а верхняя—условия, при которых белок преимущественно дезагрегирован, т. е. линия обозначает граничные условия устойчивости комплекса мембрана—данный белок в двух координатах. Если несколько разных белков имеют однотипные линии полувыходов, то правомерно утверждать о схожем характере взаимодействия этих белков с мембраной.

При подобном анализе белки, представленные на электрофореграмме, можно классифицировать по их экстрагируемости в среде NaCl-pH. Эта классификация отражает факт существования общих закономерностей ассоциации белка с исходной мембранной структурой. Классификация следующая:

1. Белки, высвобождение которых практически не зависит от изменения pH в диапазоне 6—9 (полосы 4, 5, 9, 12—16, 18, 19). Дезагрегация этих белков наблюдается только при повышении концентрации NaCl между 0,35 и 0,7 М.

2. Белки, высвобождение которых зависит от изменения как pH среды, так и концентрации NaCl (полосы 8, 10, 11, 17, 20—22). Среди белков, обнаруживающих такой тип связывания, можно выделить белок полосы 8, который рассматривался выше. Линии полувыходов для этих белков имеют две ветви. Одна из них проходит через границу 0,35 М—0,7 М NaCl, а другая—через какие-то два значения pH при 0,35 М NaCl.

3. Белки, выход которых в раствор обнаруживает сложную зависи-

№ 3(x10)				№ 4				№ 5				№ 6(x10)				№ 7(x10)			
4,0	2,1	3,4	4,3	2,9	2,4	2,4	2,2	3,3	2,9	3,3	3,4	4,0	3,2	4,5	7,4	5,1	2,1	4,2	5,3
3,5	3,0	5,0	6,4	2,6	2,5	2,6	2,1	3,0	3,1	3,2	3,3	5,2	4,0	6,4	9,6	5,1	2,7	7,4	8,0
0,8	2,0	3,2	3,4	1,3	1,2	1,0	1,0	1,3	1,5	1,5	1,5	1,1	2,7	3,4	4,1	1,5	1,6	4,2	4,4
0,5	0,7	0,8	1,1	0,7	0,6	0,8	0,9	0,9	0,9	1,0	1,2	0,5	0,4	0,4	1,0	0,5	0,6	0,6	0,7
№ 9(x10)				№ 10(x10)				№ 11(x10)				№ 12(x10)				№ 13(x10)			
4,3	5,1	4,3	5,9	4,5	5,6	6,4	6,7	5,9	5,9	5,9	7,2	3,7	4,2	4,8	5,6	3,0	3,0	4,3	4,3
5,1	3,5	5,6	6,8	8,0	6,1	7,7	6,8	8,2	6,1	8,0	8,2	5,6	5,1	6,1	6,4	5,3	4,0	5,3	5,3
1,1	1,5	2,0	2,5	1,9	4,5	5,5	5,8	2,7	4,2	4,2	4,4	1,9	2,1	2,5	2,9	1,9	1,9	2,1	2,2
1,0	0,6	0,7	0,7	1,0	0,7	0,6	1,2	1,2	0,9	0,6	0,8	1,4	0,7	0,7	1,0	1,0	0,8	0,8	0,6
№ 14(x10)				№ 15(x10)				№ 16(x10)				№ 17				№ 18(x10)			
4,5	5,3	5,6	5,9	5,1	7,7	6,9	7,8	3,2	3,5	4,0	3,7	2,8	2,6	3,0	3,2	6,1	7,7	8,8	9,6
6,7	5,1	6,4	5,9	6,4	5,6	7,7	7,7	4,0	4,0	3,7	5,1	2,1	1,8	2,5	2,9	7,3	6,7	8,2	9,8
2,0	2,0	2,2	2,4	1,6	2,1	2,8	2,3	1,1	1,5	1,3	1,3	0,5	0,5	1,1	1,2	1,2	0,4	1,6	1,2
1,0	0,8	0,8	0,6	1,3	0,1	0,7	0,7	0,5	0,5	0,4	0,4	0,3	0,3	0,3	0,5	0,3	0,3	0,3	0,3
№ 19(x10)				№ 20				№ 21				№ 22(x10)				№ 23(x10)			
2,4	3,4	4,3	4,8	1,3	1,5	1,7	1,9	1,1	1,1	1,2	1,1	1,9	2,6	2,6	2,6	2,9	2,4	3,7	4,8
3,5	2,6	4,3	5,6	1,7	1,6	1,8	1,9	1,9	1,3	1,4	1,4	2,0	2,4	3,2	3,2	2,9	2,4	3,7	5,3
0,9	1,1	1,5	1,7	0,7	1,0	1,0	1,1	0,5	0,5	0,6	0,8	1,5	1,5	1,1	2,0	1,0	1,3	2,5	2,9
0,5	0,5	0,7	0,7	0,5	0,4	0,4	0,3	0,1	0,1	0,1	0,1	0,7	0,7	0,6	0,8	0,7	0,7	0,8	0,8

Рис. 5. Двухкоординатные таблицы-диаграммы и линии полувыходов белков, согласно нумерации на трассе № 15. Для таблиц со знаком (x10) числовые значения умножены на 10 для удобства представления данных. Для белков 1 и 2 диаграммы не составлены из-за перекрывания их полос

мость как от рН, так и от концентрации NaCl в среде (полосы 3, 6, 7, 23). При рассмотрении линии полуперехода белка полосы 23 в раствор (рис. 5) видно, что этот белок связан со структурой при всех значениях NaCl при рН 7, однако легко диссоциирует из структуры при значениях рН 8 и 9 уже при концентрации NaCl в среде 0,35 М. Вероятно, это свидетельствует о том, что при значении рН 7 большинство заряженных групп белка нейтрализуются противоионами либид собственного белка, либо ближайшего окружения.

К общим тенденциям при сольubilизации мембранных белков в системе NaCl-рН можно отнести следующие факты:

1. Уменьшение выхода многих белков в раствор при переходе от 0,7 М NaCl к 1,4 М в среде, по-видимому, связанное с конформационным изменением мембранной структуры в целом, в результате чего в среде с высокой концентрацией соли несколько снижается выход.

2. Наблюдаемое практически для всех белков, обнаруживающих рН-зависимый выход, увеличение выхода из структуры в областях с высоким значением рН, что, по-видимому, объясняется большей растворимостью белка при значениях рН, далеких от его изоэлектрической точки.

3. Ионная сила раствора является более существенным фактором для дезагрегации белка с мембраны, чем изменение рН в диапазоне 6—9.

4. Выход белков из состава мембраны носит кооперативный характер, о чем свидетельствуют кривые на рис. 4Б (1—4).

По соотношению областей 1 и 2 на диаграммах среди изученных белков можно провести сравнительную оценку их сродства к мембране. Такой анализ будет более достоверен при обобщении результатов изучения растворимости белков в других системах растворителей, в частности, в системах NaCl-тритон, NaCl-мочевина, тритон-мочевина, что позволит учесть также вклад гидрофобных взаимодействий в поддержание белка в мембране и выработать общие критерии оценки сродства белков в мембранах. В дальнейшем после подбора наиболее информативной экстрагирующей пары сред можно будет изучить влияние различных энзиматических модификаций и гормональных воздействий на статус конкретного белка в составе мембраны.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bennet V. *Ann. Rev. Biochem.*, **54**, 373—374, 1985.
2. Bradford M. E. *Anal. Biochem.*, **72**, 248—254, 1976.
3. Clarke M. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **47**, 4, 1963—1971, 1971.
4. Cuatrecasas P. *J. Biol. Chem.*, **247**, 1980—1991, 1972.
5. Eisenberg D. *Ann. Rev. Biochem.*, **51**, 595—623, 1981.
6. Falrbanks G., Steck T. L., Wallach D. F. H. *Biochemistry*, **10**, 13, 2606—2617, 1971.
7. Hamaguchi H., Clave H. *Biochim. Biophys. Acta*, **233**, 320—333, 1971.
8. Kant J. A., Steck T. L. *J. Biol. Chem.*, **248**, 8457—8460, 1973.
9. Kuhn L. A., Leigh J. S. *Biochim. Biophys. Acta*, **828**, 351—361, 1985.
10. Loemmli U. K. *Nature*, **227**, 680—685, 1970.
11. Liljas L., Lundahl P., Hjerten S. *Biochim. Biophys. Acta*, **372**, 327—337, 1974.

12. Miller D. M. Biochem. Biophys. Res. Commun., 40, 3, 716—722, 1970.
13. Solless R., Garnier J. Biochim. Biophys. Acta, 554, 102—113, 1979.
14. Suzuki S., Suzuki K., Nakajima M., Terao T., Osawa T. Biochim. Biophys. Acta, 692, 263—270, 1982.
15. Tanner M. J. A., Boxer G. H. Biochem. J., 129, 333—347, 1972.
16. Tanner M. J. A., Gray W. R. Biochem. J., 125, 1109—1117, 1971.
17. Yu J., Fischman D. A., Stick T. L. J. Supramol. Struct., 1, 2, 233—248, 1973.

Поступило 5.11.1989 г.

ДВА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СОСТОЯНИЯ АКТОМИОЗИНА. УСТОЙЧИВОСТЬ К ДЕНАТУРИРУЮЩИМ ВОЗДЕЙСТВИЯМ

Б. А. ТИКМЯНОВ, А. Э. МАЛОЯН, М. А. КАПФАДЖИАН, А. Т. ОГАНЕСЯН

Институт кардиологии им. Л. А. Оганяна МЗ АрмССР, Ереван

Установлено, что в двух различных состояниях актомиозина из скелетных мышц крысы обладает неодинаковой устойчивостью к денатурирующим действию мочевины и температуры. В I состоянии химическая деградация белка идет с большей степенью кооперативности, а термоденатурация наблюдается при больших температурах, чем во II состоянии. Предполагается, что в двух состояниях между актином и миозином устанавливается разное число контактов, что главным образом связано со структурными перестройками в миозине.

Հաստատված է, որ երկու տարբեր վիճակներում ախտահարված սկզբնական կառուցվածքային միասնության և զերմաստիճանի ապահայտեցնող ազդեցությունն և կատարվում է I վիճակում ավելի բարձր յուրաքանչյուր կոոպերատիվության ավելի բարձր ջերմաստիճանում, քան II վիճակում նկատվում է, որ ախտահարված վիճակներում ակտինի և միոզինի միջև հաստատվում են տարբեր քանակի կոնտակտներ, ինչը գլխավորապես որոշվում է միոզինի վերակառուցմանը:

The differences in stability of the two various states of actomyosin from the rats skeleton muscles to urea and temperature denaturing action are discovered. Higher cooperativity of protein chemical destruction and higher denaturation temperature describe the I state of actomyosin complex, compared with the II state. It is proposed that in states of protein different number of contacts between actin and myosin may be formed, what mainly depends on the structural reconstructions in myosin.

Скелетные мышцы—актомиозин—денатурация.

Ранее нами было показано, что двухстадийная кинетика комплексообразования миозина с актином (СПП) и АТФазы натурального актомиозина связана с участием в этих реакциях двух типов функционально [2, 5] и структурно [3, 4] неэквивалентных белковых комплексов.

Сокращения: СПП—сулерпреепитация, АТФаза—аденозинтрифосфатаза