

УДК 03.093

Э. М. Багян, С. С. Оганесян, А. А. Чилингарян

Структурная устойчивость миозина скелетных мышц цесарино-куриных гибридов и их родительских видов

(Представлено академиком АН Армянской ССР М. А. Тер-Карапетяном 20/V 1970)

Консервативность структуры индивидуальных белков позволяет предположить существование видовых различий в их устойчивости к денатурирующим воздействиям. На основании исследования тканевых белков выдвинуто представление, что их теплоустойчивость у пойкилотермных животных служит цито-физиологическим критерием вида (1). В частности, показана различная теплоустойчивость сократительных белков у разных видов животных (2-4).

Ранее нами выявлены определенные видовые различия некоторых физико-химических свойств сократительных белков у уток и их гибридов (5). С целью более полного изучения видовых различий в устойчивости белков, а также выявления однозначности наблюдаемых различий предпринято исследование миозина цесарино-куриных гибридов и их родительских видов.

В опытах были использованы 12 голов птиц: цесарок (♀) — 5, кур русской белой породы (♂) — 4 и гибридов — 3. Миозин из бедренных мышц птиц выделяли по Губа-Штрауб. концентрацию белка определяли по Лоури и др. (6). Триптическое переваривание миозина проводили в инкубационной смеси, содержащей: миозина — 25 мг, трипсина («Дифко», Англия) — 1 мг, растворенного в 0,0025 М HCl, pH 6,8. Вязкость белка определяли при 21,5°C в винокзиметре типа Оствальда со временем истечения растворителя равным 80 сек. Предельное число вязкости рассчитывали по формуле

$$[\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \left(\frac{\eta/\eta_0 - 1}{C} \right)$$

где C — концентрация белка в г/мл;

η/η_0 — относительная вязкость растворов белка.

Было установлено, что в величине предельного числа вязкости миозина нет больших видовых различий. Величина $[\eta]$ для миозина кур русской белой породы составляла 90, цесарок — 110 и гибридов — 115.

Однако обнаруживаются некоторые отличия в форме кривых вязкости в зависимости от концентрации белка. Миозин кур русской белой породы характеризуется возрастанием числа вязкости по мере разбавления раствора белка. Это указывает на компактность частицы миозина кур, что также подтверждается незначительными изменениями величины относительной вязкости миозина в присутствии возрастающих концентраций мочевины (рис. 1)

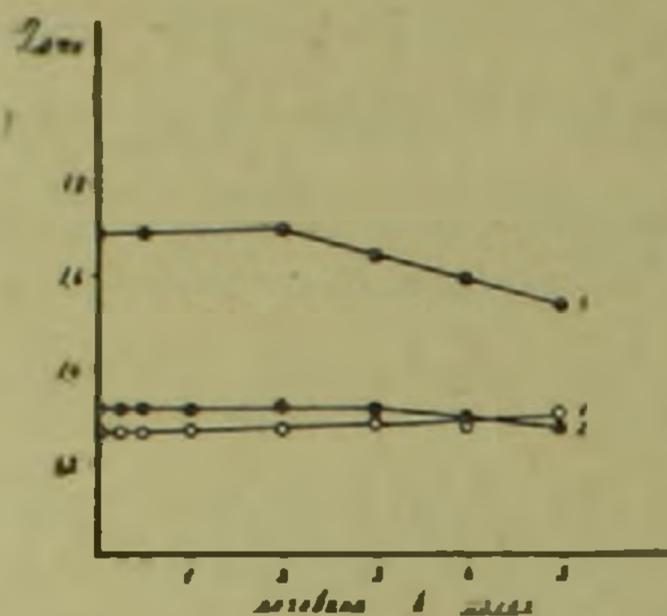


Рис. 1. Действие возрастающих концентраций мочевины на относительную вязкость растворов миозина скелетных мышц: 1—куры, 2—цесарка, 3—гибрид. Концентрация белка 5 мг/мл, рН 6, 8. $t = 21,5^\circ$

Высокая относительная вязкость миозина цесарино-куриных гибридов и одновременно небольшие различия в величине η по сравнению с родительскими видами, по-видимому, указывают на меньшую компактность частицы белка, на выраженную его гидратацию в солевых растворах. Возможно этим объясняется четкое уменьшение относительной вязкости миозина гибридов в присутствии мочевины.

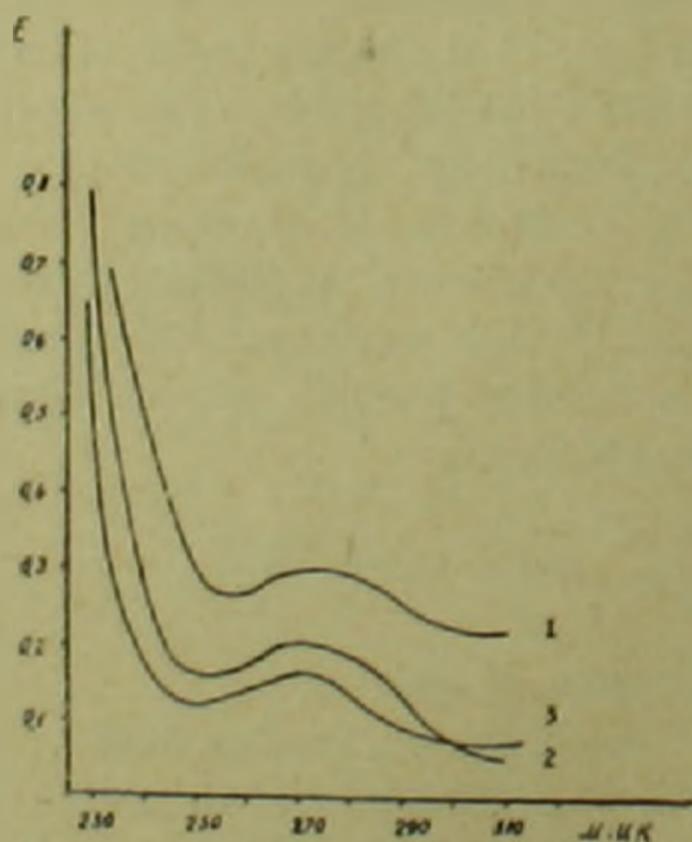


Рис. 2. Светопоглощение растворов миозина в УФ-области спектра: 1—гибрид, 2—цесарка; 3—куры. Концентрация белка 0,4 мг/мл, рН 7,2

Измерение светопоглощения миозина в УФ-области выявило также различия в степени упорядоченности белка у отдельных видов птиц и их гибридов. Обнаружено, что максимум светопоглощения миозина гибридов и исходных видов лежит в области 273—278 мк. Однако он отличается по величине светопоглощения в следующем порядке: гибрид > цесарка > куры русской белой породы (рис. 2). Высокая величина светопоглощения миозина цесарино-куриных гибридов по сравнению с родительскими видами указывает на низкую степень упорядоченности структуры белка.

Низкая структурная устойчивость миозина гибридов особенно четко обнаруживается при исследовании действия мочевины на его триптический распад. Если в интенсивности триптического распада миозина кур и цесарок больших различий не было обнаружено, то распад миозина гибридов на лепкий и тяжелый меромиозины оказывается значительно интенсивным, особенно в первые три минуты инкубирования с трипсином.

В присутствии низких концентраций мочевины (0,1—0,5 М) обычно наблюдалось замедление триптического распада миозина всех исследованных форм птиц. В концентрациях 0,5—3,0 М мочевина почти не оказывала влияние на интенсивность триптического распада миозина родительских видов, а более высокие концентрации (3,0—5,0 М) вызывали торможение триптического переваривания миозина, по-видимому, вследствие инактивации трипсина (?). Весьма характерно, что мочевина в концентрациях, не имеющих особого влияния на триптический распад миозина родительских видов, четко усиливала переваривание миозина гибридов (рис. 3). Следовательно, под влиянием мочевин

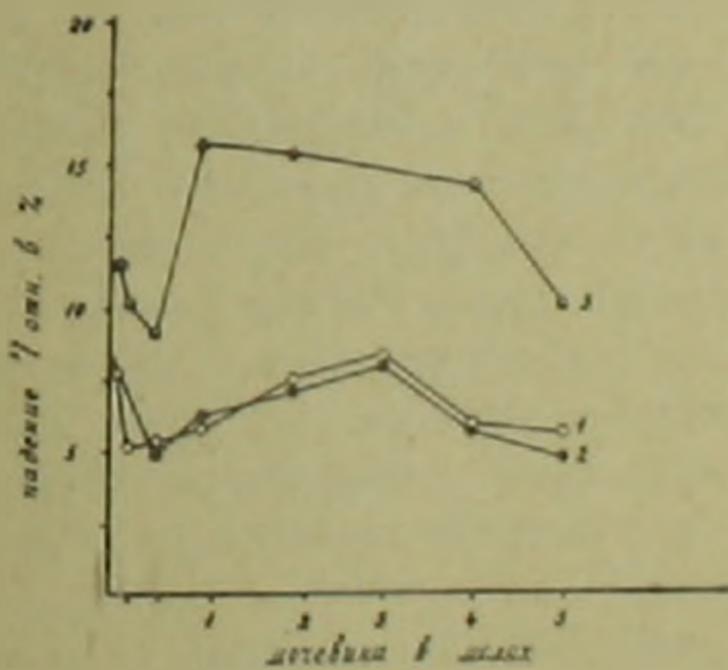


Рис. 3 Триптический распад миозина на субъединицы, выраженный в % падении относительной вязкости раствора белка, в присутствии мочевины: 1—куры, 2—цесарка, 3—гибрид. Данные взяты на третьей минуте инкубации белка с трипсином

мочевины имело место довольно значительное нарушение нативной структуры частицы миозина гибридов, иначе говоря, устойчивость его структуры оказалась сильно сниженной.

Триптический распад миозина, как известно, обусловлен разруше-

нием пептидных связей в аргинин-лизином богатом участке, расположенного между легким и тяжелым меромиозинами. Следовательно, различная скорость триптического переваривания может определяться степенью атакуемости пептидных связей в этом опирализованном участке молекулы. Увеличение атакуемости миозина трипсином, а также действие мочевины в данном случае может объясниться сдвигами в третичной и четвертичной структуре белка.

Скорость триптического переваривания миозина зависит в значительной степени и от температуры инкубации. Повышение температуры от 21,5° до 40°С приводит к примерно одинаковому заметному ускорению триптического распада миозина родительских видов, однако скорость распада миозина гибридов повышается в два раза (рис. 4). Так как

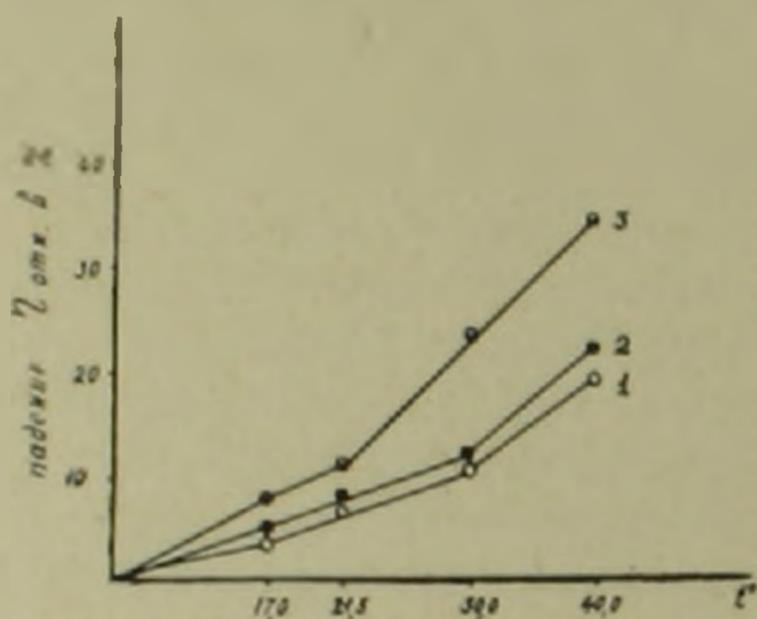


Рис. 4. Триптический распад миозина в зависимости от температуры инкубации. 1—куры; 2—цесарка; 3—гибрид. Данные взяты на третьей минуте инкубации

точка «плавления» миозина, определенная нами по квазифазному переходу величины в области максимума светопоглощения (278 мкм), находится в пределах 56°—63°С, наблюдаемое усиление триптического переваривания целиком нужно отнести за счет тепловых флюктуаций в третичной и четвертичной структуре белка. Значительное увеличение скорости переваривания миозина у гибридов вслед за повышением температуры указывает на облегчение тепловых флюктуаций в его структуре вследствие ослабления внутримолекулярных сил стабилизации. В частности, внутримолекулярных гидрофобных взаимодействий, которые считаются основными в обеспечении стабильности макромолекулы миозина (8).

Данные, приведенные в настоящей работе, а также полученные нами ранее (5), позволяют заключить, что сократительные белки разных видов птиц и их гибридов, в основном, отличаются по устойчивости структуры, что указывает на возможность применения этого показателя в качестве видового признака у теплокровных.

Институт зоологии
Академии наук Армянской ССР

Միոզինի կառուցվածքային կայունությունը հավերի, խայտահավերի
և նրանց հիրբիլների մոտ

Նախորդ հետազոտությունները թույլ են տվել հզրակացնելու, որ բազերի մկանային սպիտակուցների կառուցվածքի կայունությունը տարբերվում է առանձին տեսակների մոտ: Այն զգալիորեն փոփոխվում է միջտեսակային տրամախաչման ազդեցության տակ: Այս երևույթի ավելի լայն ուսումնասիրման նպատակով հետազոտել ենք տարբեր միջավայրերի ազդեցությունը հավազգիների կմախքային մկանների միոզինի կայունության վրա:

Օպտիկական և հիդրոդինամիկական մեթոդների օգնությամբ ստացված արդյունքները հաստատել են, որ հավազգիների միջտեսակային տրամախաչման հետևանքով նույնպես (որպես կանոն) փոփոխվում է միոզինի մոլեկուլի կայունությունը: Հիրբիլների միոզինը մի շարք հատկություններով նմանվում է մայրական ձևի միոզինին բայց նրանք արտահայտված են ավելի ակնառու, որով և պայմանավորված է հիրբիլի միոզինի յուրօրինակությունը:

Այսպիսով կարելի է ենթադրել, որ տարարյուն կենդանիների հյուսվածքային սպիտակուցների կայունության աստիճանը կախված է նրանց տեսակային պատկանելիությունից:

ЛИТЕРАТУРА — ԿՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

- 1 Б. П. Ушаков, Цитология, т. 1, № 5 (1959). 2 А. Н. Виноградова, Пробл. цитологии и животн., М.—Л., 189, 1963. 3 А. Н. Виноградова, Пробл. цитологии и животн., М.—Л., 195, 1963. 4 С. С. Оганесян, Е. П. Петросян, С.Б. Клетка и температура среды, М.—Л., 233, 1964. 5 А. А. Чилингарян, С. С. Оганесян, Ж. Г. Саруханян, В. А. Тимошенко, ДАН Арм. ССР, т. 43, 96 (1966). 6 O. Loury et al. J. Biol. Chem. 193, 265 (1951). 7 J. J. Hargis, Nature, 177, 471 (1956). 8 C. M. Kay, J. Brahm, J. Biol. Chem. 238, 2945 (1963).