

50X1-HUM

Page Denied

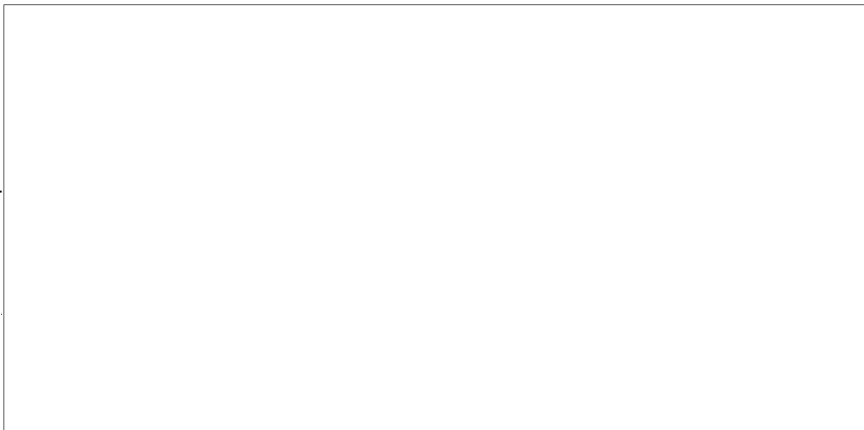
Next 2 Page(s) In Document Denied

Д О К Л А Д Ы

АКАДЕМИИ НАУК СССР

1961

Том 137, № 4



STAT

Таблица 1

Условия	Число про- смотр. рас- тений	Число ана- фаз и телофаз	Число микро- ядер		Число хромосомных перестроек		
			всего	на 1 раст.	всего	процент к числу ана- фаз + телоф.	на 1 растение
Контроль (вода)	14	4268	29	2,1	4	$0,09 \pm 0,04$	$0,3 \pm 0,16$
Экстракт из необ- лученных расте- ний	31	3128	43	1,4	6	$0,19 \pm 0,07$	$0,2 \pm 0,1$
Экстракт из об- лученных расте- ний	39	4455	308	7,8	47	$1,05 \pm 0,15$	$1,3 \pm 0,3$
						$R = 1,1$	$R = 1,0$
						$R = 5,3$	$R = 3,2$

Таким образом, в настоящей работе показано, что в облученных листьях образуются устойчивые вещества, обладающие мутагенным действием, что хромосомные aberrации могут возникать как следствие нарушения процессов обмена под влиянием радиации, без прямого попадания фотона в хромосомы.

Авторы приносят свою искреннюю благодарность В. В. Хвостовой за постоянную консультацию при оценке хромосомных aberrаций.

Институт биологической физики
Академии наук СССР

Поступило
19 XII 1960

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ D. E. Lea, Actions of Radiations on Living Cells, 1946. ² K. Sax, Cold Spring Harbor Sympos. Quant. Biol., 9, 93 (1941). ³ W.S. Stone, O. Wyse, F. Haas, Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 33, 59 (1947). ⁴ F. Haas, E. Dudgeva et al., Genetics, 53 (1964). ⁵ C. J. Wyss, B. Clark et al., J. Bacteriol., 56, 51 (1948). Дубинин, Итоги науки, 1960. ⁶ А. М. Кузин, Л. М. Крюкова и др., Биофизика, 4, в. 3 (1959). ⁷ Л. М. Крюкова, А. М. Кузин, Физiol. раст., 7, в. 2 (1960). ⁸ Л. М. Крюкова, А. М. Кузин, Биофизика, 5, в. 4 (1960). ⁹ А. Кузин, Тезисы конференции по радиобиологии, Киев, Май 1960 г.

Доклады Академии наук СССР
1961, Том 137, № 4

БИОХИМИЯ

В. И. ВОРОБЬЕВ

**О НЕКОТОРЫХ НОВЫХ АСПЕКТАХ МЕХАНОХИМИЧЕСКИХ
ЯВЛЕНИЙ**

(Представлено академиком В. А. Энгельгардтом 26 XII 1960)

Механохимия начала свое развитие как новая область исследования по существу с опубликованных около 20 лет назад работ Энгельгардта и Любимовой (¹) с миозиновыми нитями. Уже позже в принципе описанное Энгельгардтом явление было тщательно исследовано на более простых системах — гелях синтетических полимеров — полиэлектролитов. Такие системы, способные к превращению химической энергии непосредственно в механическую работу, получили название механохимических систем. Всестороннее экспериментальное изучение механохимических явлений на синтетических полиэлектролитах было проведено школами Куна и Качальского (²⁻⁵). Им принадлежит также заслуга создания теории этих явлений. Черты сходства в поведении синтетических полиэлектролитов и мышц привлекли всеобщее внимание и, таким образом, идеи механохимии вновь вернулись в биологию на основе представлений современной физической химии.

Механохимические системы должны удовлетворять по крайней мере двум условиям. Во-первых, они должны быть способны осуществлять обратимые деформации. Во-вторых, та или иная химическая реакция, происходящая на поверхности составляющих систему макромолекул, должна изменять форму этих макромолекул или способность всей системы в целом к набуханию.

Практически любая протяженная сеть, состоящая из длинных гибких макромолекул проявляет способность к большим обратимым деформациям. Это относится также и к белковым системам. Та или иная степень эластичности присуща фибриллярным белкам — как коллагену, так и белкам кератино-миозиновой группы. Однако большинство белков и наиболее интересные для нас белки протоплазмы относятся к глобулярным белкам. Их макромолекула более или менее симметрична и не обладает достаточной гибкостью. Поэтому сами по себе нативные глобулярные белки не могут образовать протяженную сеть, способную к обратимым деформациям.

Ранее нами было показано, что глобулярные белки, вступая во взаимодействие с линейными биополимерами типа ДНК и РНК, образуют комплексы, которые обладают всеми свойствами длинных гибких макромолекул. Нити, полученные из этих комплексов, способны к значительным обратимым деформациям (⁶⁻⁷). Оказалось, что этим нитям присуща также механохимическая реактивность.

Действительно, изменение ионной силы среды, в которую помещали нити, вызывало их обратимую деформацию. Наиболее эффектно механохимическая реактивность нитей проявляется при изменении pH среды. Как видно из рис. 1, уменьшение pH ведет к укорочению нити нуклеопротеида, увеличение pH, наоборот, — к ее удлинению. Подобно гелям синтетических полиэлектролитов (⁴) нить под нагрузкой может осуществлять циклический

процесс сокращение — удлинение при периодическом изменении pH, совершая при этом работу (рис. 2).

Возможно также осуществить механохимический цикл другого типа. Добавляя в среду ионы Ca^{2+} или Mg^{2+} , удается вызвать сокращение нитей, сменяющееся удлинением вслед за добавлением этилендиаминотетрацетата (ЭДТА), связывающего двухвалентные ионы. Процесс повторяется многократно с совершением работы. «Рабочим веществом» в этом цикле являются не ионы водорода, а ионы Ca^{2+} или Mg^{2+} , что особенно интересно в связи с той огромной, пока еще в значительной степени неясной ролью, которую играют эти ионы в цикле мышечного сокращения, а также в механическом цикле, осуществляющемся в процессе деления клетки (⁹). Нити нуклеопротендов, возможно, могли бы служить моделью для изучения именно последнего процесса.

Таким образом, нити нуклеопротендов являются типичными механохимическими системами, осуществляющими прямой переход химической энергии в механическую работу в изотермическом цикле.

Как известно, механохимические системы, в отличие от теплового двигателя, совершают цикл не за счет переноса тепла, а за счет переноса вещества между различными химическими потенциалами. В цикле происходит обмен веществом между системой и средой.

Проведенный Качальским в его статье, посвященной теории полиэлектролитов (⁹), термодинамический анализ механохимического цикла, осуществляемого некоторым идеализированным гелем полиэлектролита, состоящего из лежащих строго параллельно полностью ориентированных макромолекул, приводит к выводу, что механохимические системы способны не только деформироваться за счет химических изменений, но и должны совершать обратный процесс превращения механической энергии в химическую.

В самом деле, пусть мы имеем отрезок системы, состоящей из гибких цепных макромолекул с фиксированными на них анионными группами А (рис. 3). При добавлении кислоты, вследствие уменьшения степени диссоциации групп А, будет происходить сокращение, система перейдет из состояния I в состояние II и длина рассматриваемого отрезка изменится от l_1 до l_2 . Если мы теперь растянем систему до первоначальной длины l_1 , затратив на это работу, то она перейдет в некоторое состояние III, аналогичное I. Вследствие уменьшения плотности молекулярного поля отрицательных зарядов степень ионизации анионных групп при этом увеличится и ионы водорода выйдут в среду.

Таким образом, мы имеем здесь процесс, обратный тому, который рассматривался в первой части работы: механическая работа превращается в химическую энергию.

Экспериментальное исследование, проведенное на нитях нуклеопротен-

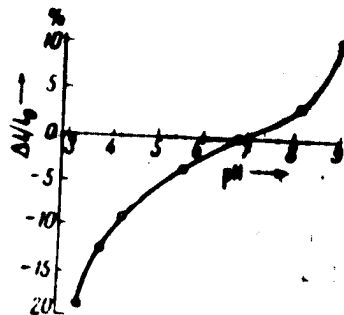
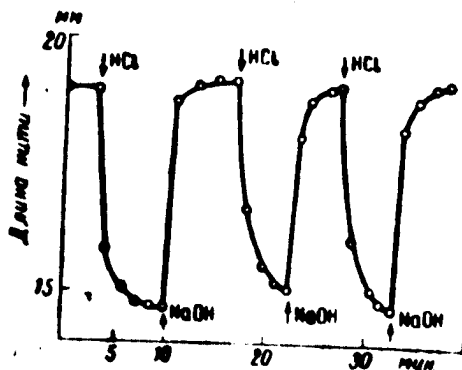


Рис. 1. Зависимость деформации нити нуклеотистона от pH среды



2 Циклическая деформация нити нуклеотистона при периодическом изменении pH среды

дов, обнаружило, что деформация нитей сопровождается определенными химическими сдвигами в среде, которые достаточно заметны и могут быть зарегистрированы.

Если к приготовленным специальным образом достаточно прочным нитям нуклеопротенда, сперва несколько сокращенным добавлением кис-

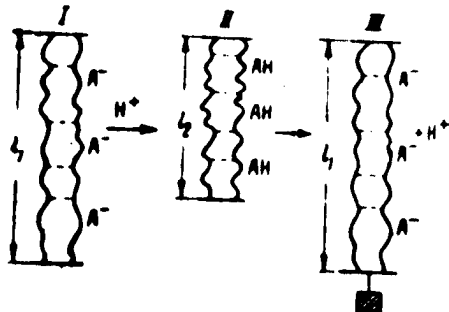


Рис. 3. Схема превращений в механохимическом цикле для системы, состоящей из полианионов

лоты, а затем сильно растянутым механически, добавлять щелочь, с тем чтобы вернуться к исходному рН, то обнаруживается, что для нейтрализации добавленной кислоты систематически требуется большее количество щелочи, чем то, которое ожидалось, исходя из количества ранее добавляемой кислоты. Эти опыты могли служить определенным указанием, что в среде создается некоторый избыток ионов водорода, являющийся следствием растяжения нити. Однако без специального анализа трудно было бы отвергнуть возраже-

ние, что наблюдаемые изменения активности ионов водорода возникают в результате увеличения ионной силы сред при реакции нейтрализации. Поэтому нами были специально поставлены опыты по прямому определению рН в среде при деформации нитей. Деформация нитей производилась в сосуде, содержащем очень малое количество жидкости, соизмеримое с объемом, занимаемым самой нитью. Оказалось, что при растяжении нитей можно зарегистрировать закономерное уменьшение значения рН на 0,06—0,1. При этом наблюдаемый сдвиг рН зависел от степени деформации (рис. 4). Но наиболее примечательным является тот факт, что процесс оказывается обратимым: снятие напряжения приводит по мере релаксации к восстановлению исходной величины рН.

В предварительных опытах было обнаружено, что в тех случаях, когда сокращение нитей вызывается добавлением в среду ионов Ca^{2+} или Mg^{2+} , растяжение нитей сопровождается увеличением концентрации этих ионов в среде.

Таким образом, опыты на нитях нуклеопротенов показали, что деформация механохимической системы сопровождается определенным закономерным сдвигом концентрации ионов, которые служили рабочим веществом в механическом цикле. Очевидно, эта сторона механохимических явлений может иметь глубокий биологический смысл. В самом деле, если индуцированная тем или иным путем деформация системы (например, мышцы) уже сама по себе сопровождается изменениями химического состава среды, то эти изменения, достигнув определенного уровня, могут в свою очередь оказывать влияние на состояние самой деформирующейся системы или механизма, вызывающего деформацию. Следовательно, механохимические системы по своей природе могут обеспечить возможность ауторегуляции сопряженных с деформацией процессов по принципу обратной связи.

Не исключена возможность, что исследования в этом направлении как на моделях, так и на биологических системах могут открыть новые пути

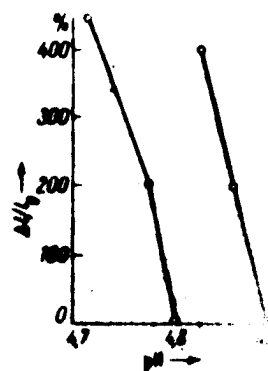


Рис. 4. Изменение рН среды при механическом растяжении нити искусственного нуклеогистона

к пониманию ауторегуляции некоторых физиологических процессов на молекулярном уровне.

Институт цитологии
Академии наук СССР

Поступило
22 XII 1960

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ В. А. Энгельгардт, М. Н. Любимова, Биохимия, 7, 205 (1942).
² W. Kuhn, A. Katchalsky, H. Eisenberg, Nature, 165, 514 (1950).
³ A. Katchalsky, J. Polym. Sci., 7, 393 (1954). ⁴ W. Kuhn, B. Hargitay, Experientia, 7, 1 (1951). ⁵ A. Katchalsky, Progr. Biophys. and Biophys. Chem., 4, 1 (1954). ⁶ В. И. Воробьев, В. С. Шапот, Докл. АН, 22, 200 (1951).
⁷ В. И. Воробьев, В. С. Шапот, Биохимия, 18, 803 (1953). ⁸ В. И. Воробьев, Биохимия, 22, 597 (1957). ⁹ C. Darlington, Nature, 178, 4684 (1955).

Доклады Академии наук СССР
1961, Том 137, № 4

БИОХИМИЯ

Е. Н. МУХИН и Е. Г. САЛЬКОВА

**О БИОСИНТЕЗЕ ХЛОРОФИЛЛА В ЗАПАСАЮЩИХ ОРГАНАХ
РАСТЕНИЙ В СВЯЗИ С ДЕЙСТВИЕМ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ**

(Представлено академиком А. И. Опариным 22 XI 1960)

В литературе накапливается все больше данных о связи окислительных процессов с биосинтезом хлорофилла (¹⁻⁵). Однако характер отысканной зависимости выяснен недостаточно.

Мы изучали накопление хлорофилла в клубнях картофеля в связи с действием проникающего излучения. Клубни картофеля в качестве объекта исследования представляют интерес в связи с их способностью зеленеть при освещении, а также развиваемыми представлениями (^{2, 6}) о роли подземных органов растений в биосинтезе зеленых пигментов. В результате воздействия ионизирующей радиации процесс образования хлорофилла у картофеля подавляется (⁷⁻⁹).

В наших опытах клубни картофеля сортов Лорх, Приекульский и Эпрон облучали на установке ЭГО-2 при мощности дозы 450 г/мин (Co^{60}).

Определение пигментов и активности ферментов проводили в поверхностном слое после удаления кожуры.

Как показали проведенные наблюдения, по мере выдерживания на свету контрольных клубней в периферийных слоях коровой паренхимы происходит накопление хлорофилла и картофель приобретает зеленую окраску. В то же время указанные процессы в клубнях сорта Лорх, подвергнутых действию γ -радиации, в значительной мере подавляются. Нарушение образования хлорофилла, особенно хлорофилла а, имеющее место после облучения при 10 000 г, с увеличением дозы усиливается (рис. 1).

Интересно отметить, что если доза 10 000 г в клубнях сорта Лорх вызвала лишь ослабление синтеза зеленых пигментов, то у облученного при той же дозе картофеля Приекульский и Эпрон практически не образовывался ни хлорофилл а, ни хлорофилл б (табл. 1).

Таблица 1

Влияние ионизирующей радиации на накопление хлорофилла в клубнях картофеля
(в миллиграммах на 10 г сырого веса)

Сорт	Число дней на свету	Контроль			10 000 г		
		хл. а	хл. б	сумма	хл. а	хл. б	сумма
Приекульский	0*	0,025	0,000	0,025	0,000	0,000	0,000
	1	0,050	0,000	0,050	0,000	0,000	0,000
	8	0,120	0,000	0,120	0,010	0,000	0,010
Эпрон	0*	0,025	0,030	0,055	0,000	0,000	0,000
	1	0,060	0,055	0,135	0,000	0,000	0,000
	8	0,151	0,088	0,239	0,000	0,000	0,000

* Исходные данные.

Академия наук СССР
Биохимия
Том 22, Вып. 3, 1967 г.

Воробьев В. И.

**О МЕХАНОХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВАХ НИТЕЙ МИОЗИНА,
ПОЛУЧЕННЫХ ПРИ ДОБАВЛЕНИИ ДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕИНОВОЙ
КИСЛОТЫ**

О МЕХАНОХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВАХ НИТЕЙ МИОЗИНА, ПОЛУЧЕННЫХ ПРИ ДОБАВЛЕНИИ ДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ

В. И. ВОРОБЬЕВ

Институт высокомолекулярных соединений Академии наук СССР, Ленинград

Классические работы Энгельгарда и Любимовой [1; 2] открыли новое направление в биохимии — механохимию сократительных систем — заложили основы моделирования при изучении сократимости.

Сократимость протоплазмы, несомненно, является одним из самых обычных свойств, которое следует приписать специфическим фибриллярным и цитоскелетическим структурам.

Добавление дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) к ряду глобулярных белков приводит в определенных условиях к получению белково-нуклеиновых комплексов, обладающих физико-химическими свойствами, подобными свойствам биологических структурных образований [3, 4]. Эти модельные структуры, имеющие фибриллярный характер, обладают эластичностью, высокой прочностью, способны к набуханию и дегидратации при изменении концентрации солей и т. д.

Поэтому интересно рассмотреть, обладают ли эти искусственные структуры способностью моделировать сократительные свойства.

Оказалось, что нити, приготовленные из белково-нуклеиновых комплексов, а также из дезоксирибонуклеопротеидов, выделенных из ядер некоторых тканей, могут деформироваться при изменении кислотности среды. Характерной чертой этих превращений является однозначное изменение всех размеров нитей: как длины, так и поперечного сечения. Подобные свойства присущи всем полиэлектролитам, находящимся в состоянии структурированного геля [5], и уже включают в себе некоторые элементы сократимости, как способности системы активно деформироваться при изменении химического состава окружающей среды.

Однако сократимыми мы считаем те элементы живой протоплазмы, которые оказываются способными трансформировать химическую энергию клеточного метаболизма в механическую энергию сокращения при посредстве специфических агентов (аденозинтрифосфата — АТФ), образующихся в самом ходе метаболизма.

Наши искусственные структуры оказались неспособными отвечать сокращением на добавление АТФ при условии постоянства pH среды и, следовательно, не могли служить моделью истинной сократимости. Такой результат, конечно, можно было ожидать с самого начала, так как сокращение реципрокно связано с расходом донатора энергии, а те объекты, с которыми мы имели дело, не могли расщеплять АТФ. Если мы хотели получить искусственные структуры, моделирующие процесс сокращения, то нам следовало выбрать для этого белок, который способен был бы катализировать распад АТФ. Таким белком является миозин. Для нас было особенно существенно то обстоятельство, что миозин, будучи отделен от актина, как было обнаружено [6], теряет способность к сокращению под влиянием АТФ. Однако в недавней работе Кафани и Энгельгарда [7] было показано, что миозиновые нити, приготовленные путем сжатия поверхностной пленки белка боковым давлением, отвечают сокращением на добавление АТФ. Авторы связывают особенность таких нитей с их

более прочной основой по сравнению с нитями, полученными обычными способами.

Нами было обнаружено [4], что при добавлении ДНК к миозину в определенных условиях механические свойства последнего изменяются. Нити, приготовленные из подобного комплекса, обладают примерно в 2 раза большей прочностью на разрыв и в 2—3 раза большей эластичностью, чем нити из миозина.

Исходя из того, что способность нити сокращаться должна быть связана с характером ее структурной организации, которая проявляется в механических свойствах нити, мы полагали, что такие миозиновые нити, «упрочненные» ДНК, окажутся подходящими моделями для воспроизведения элементарного акта сокращения под действием АТФ.

МЕТОДИКА

В опытах использовали миозин, полученный из мышц кролика и пересаживаемый четыре раза. Препарат был свободен от актина (отсутствовало понижение вязкости при добавлении АТФ, характерное для актомиозина). Натриевую соль ДНК готовили по [8] из зобной железы телят.

Нити из миозина получали путем выдавливания 1%-ного раствора белка в 0,6 М КСl через шприц с оттянутым в виде капилляра концом в раствор 0,05 М КСl, 10^{-3} М СаСl₂ и 10^{-3} М MgСl₂ в боратном буфере 0,01 М, рН 7,5. Нити из миозина и ДНК готовили выдавливанием раствора, состоящего из смеси равных объемов 0,2%-ного раствора ДНК и 2%-ного раствора миозина в 0,6 М КСl, в ту же среду.

Для каждого опыта отбирали совершенно однородные нити, одинакового диаметра и нужной длины. Обычно использовали нити длиной 10—12 мм и диаметром 0,5—1,0 мм. Регулируя скорость выдавливания раствора, можно было приготовить нити различной степени прочности [9].

Перед опытом нити выдерживали в растворе 30 мин. За это время, по нашим наблюдениям, полностью закаливаются процессы релаксации в нитях и в дальнейшем уже не происходит изменение их длины.

Исследование механических свойств нитей проводили при помощи описанного ранее приспособления [4; 9].

РЕЗУЛЬТАТЫ ОПЫТОВ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Способность миозиновых нитей деформироваться при добавлении АТФ обычно связывают с адезинтрифосфатазными свойствами миозина [1; 2]. Поэтому необходимо было сначала выяснить, связывается ли присутствие ДНК на ферментативных свойствах миозина.

Определение ферментативной активности миозина в присутствии ДНК производили, как и определение активности миозина, в широких пределах величины рН. Как видно из рис. 1, добавление ДНК не влияет на ферментативную активность миозина. Результаты этого опыта показывают, что нуклеиновая кислота, соединяясь с миозином, не закрывает реактивный центр последнего. Оптимум рН при этом не изменяется, как это имеет место при добавлении актина, что может служить указанием на то, что при образовании комплекса ДНК с миозином не затрагиваются те группы, за счет которых происходит соединение миозина с актином.

Таким образом, нити, полученные из этого комплекса, являясь более прочными и эластичными, чем миозиновые нити, в то же время оказались способными полностью сохранять ферментативные свойства миозина.

Если к закрепленной с одного конца выпрямленной нити, находящейся под определенной нагрузкой, добавить раствор АТФ до конечной концентрации $5 \cdot 10^{-3}$ М, то нить начинает укорачиваться. Процесс сокращения, как видно из рис. 2, сначала идет быстро, а затем медленнее. Укорочение нити достигает 15—20% первоначальной ее длины.

Тщательное отмывание сократившейся под влиянием АТФ нити раствором 0,05 М КСl, содержащим СаСl₂ — 10^{-3} М и MgСl₂ — 10^{-3} М, вызывает постепенное удлинение нити до исходной длины.

Укорачиваясь, нить в то же время увеличивается в поперечнике, как это видно из приведенных ниже данных:

Укорочение нити в %	Увеличение диаметра нити в %
17,0	26,0
15,2	24,6
20,0	35,0
15,0	22,5
20,0	31,0

Последнее обстоятельство весьма существенно, так как именно такого рода изменения — анизодимENSIONАЛЬНЫЙ тип сокращения — являются характерными и для сокращения мышечного волокна. Подобные изменения обнаружались и на пленочных нитях миозина [7]. Эти наблюдения показывают, что сокращение нитей во всех этих случаях не связано с сфинтерисом.

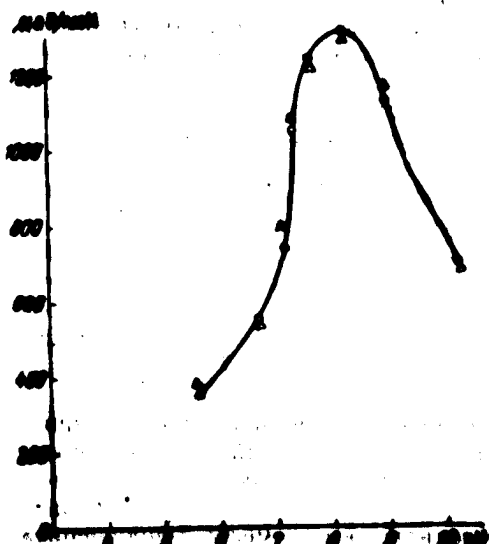


Рис. 1. Стимуляционная активность миозина в зависимости от pH:

Ордината — количество $\mu\text{г}$ фосфора, отщепленного от АТФ, отнесенное к 1 мг N миозина. $\circ$ — μ — миозин; Δ — Δ — миозин в присутствии ДНК (исходная концентрация 0,1%).

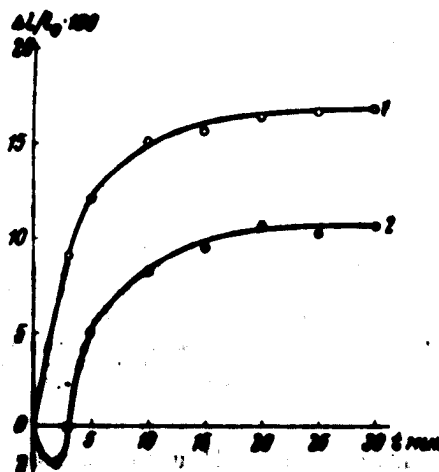


Рис. 2. Сокращение нитей из миозина и ДНК при добавлении АТФ:

Абсцисса — время с момента добавления АТФ — t (мин.). Ордината — $\Delta L/L_0 \cdot 100$ — относительное изменение длины нити, отнесенное к исходной длине, в %. При сокращении нитей использовались растворы ДНК: 1 — 0,1% и 2 — 0,05%. Для всех растворов миозина и ДНК использовались по 5 ч.

Особенно примечательным в этих опытах является то, что нить, поднимая груз, способна совершать работу. Некоторые из наших нитей поднимали груз до 16 мг на высоту, равную 15—20% длины нити. Очевидно, в процессе сокращения нить способна активно преодолевать сопротивление, то есть, как и мышечное волокно, нить при этом развивает напряжение.

В ряде случаев нам удалось измерить это напряжение прикладывая к нити дополнительную нагрузку и заставляя ее растягиваться до исходной длины. Такой тип сокращения по существу является изометрическим. Оказалось, что для растяжения сокращающейся нити до первоначальной длины нужно прикладывать такие нагрузки, чтобы уравновесить напряжение нити, равное 40—60 мг/мм², через 20 мин. после начала сокращения. На рис. 3 представлены результаты одного из таких опытов.

Исследование миозиновых нитей в аналогичных условиях оказалось крайне затруднительным вследствие очень малой прочности нитей, мешающей манипуляциям с ними. Однако в некоторых опытах нам удалось закрепить неповрежденные миозиновые нити, находящиеся под чрезвычайно малой нагрузкой, таким образом, что было возможно следить за их поведением.

Во всех этих случаях при добавлении АТФ мы наблюдали не сокращение, а удлинение нитей, как это имело место в экспериментах Энгельгардта и Любимовой [2].

Различный эффект, который наблюдается в этих случаях при действии одного и того же агента — АТФ, можно связать с различной степенью структурированности нитей.

АТФ, вероятно, обладает двойным действием на миозиновую систему. С одной стороны, проявляются его так называемые «пластифицирующие» свойства [2; 10], которые присутствуют и другим полифосфатам и которые, как считают, объясняются способностью АТФ разрывать некоторые слабые поперечные связи внутри структуры. С другой стороны, выявляется, по-видимому, нитино-связанная с ферментативными свойствами миозина способность АТФ индуцировать деформацию нити.

Очевидно, эти особенности АТФ предъявляют высокие требования к механическим свойствам структуры. Можно допустить, что пластифицирующее влияние АТФ, увеличивая способность системы к деформации вязкого течения, в случае миозиновых нитей преобладает над непосредственным сокращающим действием на миозин и поэтому происходит растяжение нитей. При добавлении ДНК, однако, имеет место «уплотнение» структуры, увеличение степени ее структурированности, так что потенциальная способность миозина сокращаться получает реальную возможность проявиться.

Однако и в этом случае в ряде опытов перед за добавлением АТФ к нитям из миозина и ДНК имеет место первоначальное удлинение нити, а уже затем ее укорочение. Такой эффект всегда наблюдается при работе с менее прочными нитями.

Таким образом, как мы полагаем, при изменении степени структурированности нити должны меняться также величина и направление механического эффекта.

Нити различной степени структурированности можно получить несколькими способами. Как видно из таблицы, в зависимости от количества ДНК, добавленной к миозину, образуются нити различной прочности, которые реагируют на добавление АТФ большей или меньшей деформацией. Так, нити, полученные из растворов, содержащих сравнительно большое количество ДНК, сокращаются до 80% их первоначальной длины. Наоборот, нити, полученные при небольшой содер-

* Следует заметить, что подобное действие происходит только в присутствии ДНК. Деполимеризованные препараты ДНК не оказывают заметного влияния на физико-механические свойства нитей [4].

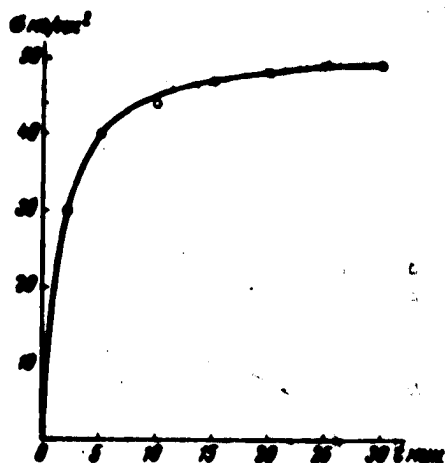


Рис. 3. Напряжение нити из миозина и ДНК в зависимости от времени с момента добавления АТФ:

Ордината — o — напряжение — нагрузка, в мм, отнесенная к начальной площади поперечного сечения нити, в мм

мании ДНК в растворе, по прочности приближаются к миозиновым нитям и при добавлении АТФ ведут себя подобно последним.

Зависимость степени деформации нитей и прочности их на разрыв при действии АТФ от количества ДНК, добавленной к миозину при получении нитей

Концентрация раствора ДНК в %	Прочность на разрыв в кг/см^2	Изменение длины нити в %
0,4	12,8	-20,0
0,2	9,7	-16,0
0,1	7,2	-7,5
0,05	6,0	-2,0
0,02	5,2	5,0
—	4,5	12,0

Отметим, что в первый момент после добавления АТФ всегда имеет место удлинение тех нитей, которые получались из растворов, содержащих ДНК в количестве 0,1% и ниже.

Изменяя скорость выдавливания раствора при приготовлении нитей, также можно получить нити различной прочности. Степень укорочения таких нитей в ответ на добавление АТФ оказалась неодинаковой. Так, если нить, полученная при выдавливании раствора со скоростью 1 мл за 5 сек. (прочность на разрыв $9,7 \text{ кг/см}^2$), укорачивается на 15%, то нить, образующаяся при выдавливании 1 мл раствора за 20 сек. (прочность на разрыв $7,9 \text{ кг/см}^2$), сокращается при тех же условиях всего на 8% исходной длины, причем при добавлении АТФ в этом случае всегда происходит первоначальное удлинение нитей.

Для получения более прочных нитей мы также пользовались следующим приемом. Нити, полученные из миозина при добавлении ДНК, медленно вытягивали под нагрузкой до 200% исходной длины. Затем нагрузку снимали и нитям позволяли релаксировать. Если до вытягивания нити реагировали на добавление АТФ укорочением на 12—15%, то после вытяжения и релаксации мы могли наблюдать сокращение уже на 20—22%.

В одной серии опытов мы получали нити из миозина и ДНК при выдавливании их растворов в среду, содержащую $0,05 \text{ M KCl}$, но без солей кальция и магния. Совершенно неожиданно оказалось, что эти нити отвечают на добавление АТФ не укорочением, а, наоборот, удлинением (до 8—10%). Можно было думать, что приготовленные таким образом нити по своим механическим свойствам уступают нитям, полученным в присутствии ионов Ca^{++} и Mg^{++} . Действительно, их прочность оказалась меньшей, чем у последних (прочность на разрыв $7,5\text{—}8,0 \text{ кг/см}^2$, по сравнению с $9,5\text{—}10,0 \text{ кг/см}^2$, соответственно). Однако нити подобной же прочности, полученные в стандартных для наших опытов условиях, как мы видели, сокращались при добавлении АТФ. Следовательно, при объяснении этого явления, по-видимому, нельзя допустить, что здесь имеет место преобладающее пластифицирующее воздействие АТФ на нити, как это мы предполагали в случае миозиновых нитей. Действительно, добавление к этим нитям солей кальция и магния (10^{-2} M и 10^{-3} M , соответственно) вызывает укорочение нитей, однако, достигающее только 5—6% их первоначальной длины (рис. 4).

Наши опыты, таким образом, показывают, что нити, полученные из комплекса миозина с другим полимером биологического происхожде-

ния — ДНК («нуклеомиозинозные нити»), обладают механохимическими свойствами, напоминающими свойства актомиозиновой системы. Этим подтверждаются данные ряда исследователей о том, что соединение с актином не является обязательным условием возникновения механохимической реактивности у миозина [7; 11; 12].

Результаты изложенных опытов, кроме того, приводят к выводу, что механохимический эффект сокращения связан определенным образом с механическими параметрами системы, которые, в свою очередь, определяют ее внутренней структурной организацией.

Мы рассмотрели одну из важнейших сторон проблемы сократимости структур. Действительно, высокая степень внутренней организации структуры является совершенно необходимой для того, чтобы система могла проявить свою потенциальную способность развивать сокращение в ответ на добавление АТФ. Однако не следует забывать и другую, еще более важную сторону вопроса, касающуюся механизмов трансформации химической энергии АТФ в механическую энергию деформации сокращающейся системы. Стремление подойти к решению этой задачи возникло сразу же после открытия Энгельгардта и Любимовой [1; 2] и проявилось в попытке всесторонне исследовать более конкретную проблему существования внутренней причинной связи между механохимической реактивностью нити и ферментативным расщеплением АТФ.

В ряде опытов мы исследовали сокращение нитей при различных рН среды. При этом неизменно оказывалось, как и в опытах Энгельгардта [2; 7], что деформация была наибольшей в той области рН, в которой миозин проявляет значительную АТФ-азную активность. Например, если при рН 7,6 нить сокращается уже на 12%, то при рН 8,2 — на 15%.

Попытки использовать ингибиторы АТФ-азной активности для того, чтобы продемонстрировать наличие внутренней связи между ферментативными свойствами и деформацией нитей, предпринимались уже с первых работ Энгельгардта. При этом всегда оказывалось, что торможение АТФ-азной активности приводит к потере способности нитей деформироваться под влиянием АТФ (см., например [2]). Однако эти опыты можно было бы истолковать как следствие обратимого повреждения некоторого нативного состояния миозина, однако же необходимого как для ферментативной активности, так и для механохимической реактивности. Поэтому нам представлялось существенным поставить опыты, в которых АТФ-азная активность миозина тормозилась бы таким образом действующим агентом, который не затрагивал бы нитяные свойства миозина.

В последние годы появились указания, что натриевая соль этилендиаминотетрауксусной кислоты (ЭДТА), в зависимости от условий, различным образом влияет на ферментативные свойства миозина: в одних случаях ускоряет реакцию расщепления АТФ, в других же — тормозит ее [13; 14].

При добавлении ЭДТА в количестве $5 \cdot 10^{-3}$ М к раствору миозина в $0,05$ М КСl и $Mg\ Cl_2$ — 10^{-3} М в отсутствие солей кальция происходит почти полное торможение АТФ-азной активности миозина (остается лишь около 5% первоначальной активности). Однако, если затем добавить соли кальция в количестве, эквивалентном ранее добавленному ЭДТА, то АТФ-азная активность миозина полностью восстанавливается, и при добавлении избытка Ca^{++} происходит даже увеличение активности. Мы не будем здесь останавливаться на возможных объяснениях механизма этих явлений. Для нас существенно только то, что в этом случае АТФ-азная активность миозина тормозится обратимо. Это наблюдение позволило нам провести исследование механохимических свойств нитей в присутствии ЭДТА.

Оказалось, что приготовленные нами нити из миозина и ДНК в присутствии $5 \cdot 10^{-3}$ М ЭДТА в ответ на добавление АТФ не только не укорачиваются, а, наоборот, даже несколько удлиняются (на 6—8%). Однако при добавлении раствора CaCl_2 в количестве 10^{-3} М происходит быстрое укорочение нити, сопровождающееся отщеплением фосфата АТФ (рис. 5).

Представленные опыты, как и наблюдения Энгельгардта [2; 7], обнаруживают наличие определенной корреляции между ферментативной активностью миозина и процессом деформации нити. Мы склонны истолковать эти данные, как указание на то, что процесс сокращения нити в наших опытах непосредственно связан с ферментативной активностью миозина.

Нам хотелось бы в этой связи обратить внимание на то замечательное обстоятельство, что все известные в настоящее время сократительные белки обладают АТФ-азной активностью. Парамицин, выделенный из простейших [5], миксомиозин, полученный из плесени [16] и др., — являются фибриллярными белками, несущими свойства АТФ-азы. Движения структур, наблюдающиеся в кардиокинезе, также, по-видимому, обусловлены фибриллярными белками нуклеопротеидного характера, в то же время обладающими АТФ-азными свойствами [17]. Видимо, природа уже давно создала механизм сократимости, который в своих основных и первичных чертах является свойственным всем живым тканям и достигает своего кульминационного выражения в эволюционном процессе в мышечной клетке. Создается впечатление, что АТФ-азные свойства, которыми так поразительно наделены все белки, непосредственно участвующие в осуществлении этой функции, не могут не иметь отношения к самому механизму сократительности, хотя нитимная сторона этих отношений пока остается от нас скрытой.

Мы попытались, далее, проследить, имеется ли соответствие между количеством распавшегося АТФ и величиной укорочения нити. Следует ожидать, что кинетика распада АТФ в наших опытах, когда фермент

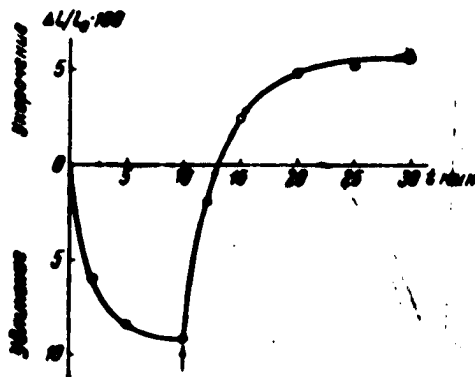


Рис. 4. Деформация нити из миозина и ДНК при добавлении АТФ в среде, не содержащей солей кальция и магния:

1 — Момент добавления CaCl_2 и MgCl_2 (10^{-3} М и 10^{-3} М соответственно)

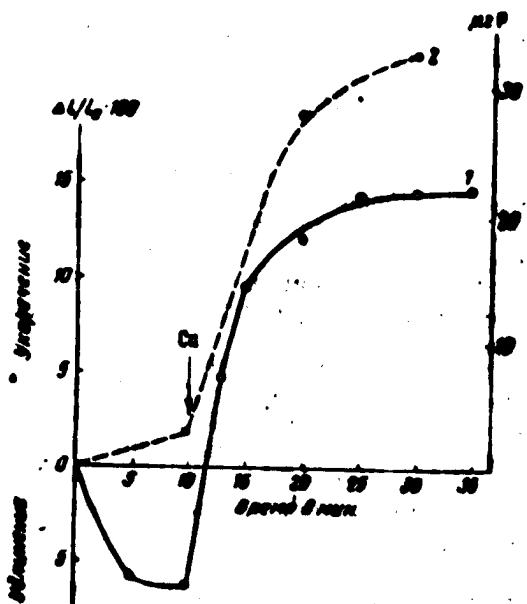


Рис. 5. Влияние АТФ на деформацию нити из миозина и ДНК и скорость деформирования АТФ в присутствии ЭДТА до и после добавления солей кальция:

1 — измеренная длина нити в % к начальной длине;
2 — рассчитанное по фосфору, отщепленному от АТФ
1 — Добавление CaCl_2 (10^{-3} М)

сфокусирован в нити, будет отличаться от таковой в типичных случаях исследования кинетики ферментативных реакций, когда имеет место равномерное распределение фермента и субстрата в растворе. Однако в данной работе мы не ставили перед собой задачу сравнительного исследования кинетики распада АТФ

в этих случаях. Нам было важно только определить количество распадающегося АТФ при его воздействии на нить и сравнить кинетику распада с темпом деформации.

Опыты ставили на серии одинаковых нитей, приготовленных из миозина и ДНК. Через определенные промежутки времени после добавления АТФ отмечали величину укорочения нити, сразу же добавляли трихлоруксусную кислоту до конечной концентрации 5% и пробу помещали в лед. Осадок отделяли центрифугированием, а в фильтрате определяли количество неорганического фосфата по сравнению с контрольным опытом.

Результаты серии таких определений позволили построить кривые, изображенные на рис. 6. Сопоставление кинетики расщепления АТФ (кривая 1) с кинетикой деформации нити (кривая 2) показывает, что в первые минуты опыта имеется хорошее совпадение этих процессов. Однако впоследствии продолжающееся увеличение расщепления АТФ уже не сопровождается укорочением нити.

Рис. 6. Деформация нити из миозина и ДНК в кинетика расщепления АТФ:

1 — изменение длины нити в % к начальной длине;
2 — количество P_i фосфора, отщепленного от АТФ в данный момент времени

Таким образом, в этих опытах не удалось обнаружить соответствия между количеством расщепленного АТФ и величиной деформации системы.

Подобное соответствие не было выявлено также в опытах Бовена [18], который показал, что добавление к нитям актомиозина, сокращающимся под действием АТФ в 0,05 М КСl, раствора $MgCl_2$ до конечной концентрации 10^{-2} М, вызывает ускорение сокращения, сопровождающееся снижением АТФ-азной активности. Наоборот, добавление $CaCl_2$ до 10^{-2} М уменьшает величину сокращения, но ускоряет АТФ-азную активность.

Далее, при сравнительном изучении кинетики ферментативного расщепления различных полифосфатов миозином было обнаружено [19], что максимальная скорость расщепления АТФ в 5 раз выше таковой триполифосфата, в то время как по степени сродства к миозину АТФ превосходит триполифосфат в 150 раз. Последнее вещество оказалось, однако, неспособным вызывать деформацию актомиозиновых нитей, хотя количество АТФ, соответствующее $1/5$ концентрации, при которой наблюдается максимальная скорость дефосфорилирования, вызывает заметное сокращение нитей.

Таким образом, мы приходим к парадоксальному, на первый взгляд, заключению: хотя для деформации миозиновых нитей сохранение ферментативной активности является необходимым, количество расщепляющегося АТФ, как мы видели, не всегда строго коррелируется с величиной деформации, а само по себе расщепление макроэргической связи недостаточно для деформации системы.

Эти противоречивые результаты, однако, в известной степени могут найти объяснение в рамках давно развивавшихся представлений о природе элементарного механохимического акта превращения химической энергии в механическую, как о процессе, в основе которого лежит энтропийный [20] или электростатический [21] механизм.

Кун и Качальский [5, 22] блестяще показали применимость этих принципов к процессу обратной деформации гелей полиэлектролитов, в частности геля полиметакриловой кислоты. Одной из последних попыток создания этих механизмов на основе новых данных являются работы группы Моралеса [23, 24].

Результаты цитированной выше работы [19] показывают, что весьма существенной с точки зрения механохимической реактивности системы является степень сродства действующего агента к миозину. Последние данные по кинетике взаимодействия миозина с некоторыми доступными в настоящее время нуклеозидтрифосфатами также обнаруживают, что в отношении своей способности вызывать сокращение эти вещества располагаются в зависимости от их сродства к миозину [12].

Действительно, ферментативное расщепление АТФ миозином, как и всякая ферментативная реакция, начинается с присоединения субстрата (АТФ) к ферменту (миозину) с образованием активного комплекса. В процессе присоединения АТФ к миозину, по-видимому, происходит потеря большей части всей свободной энергии, которая расходуется при дефосфорилировании АТФ [25]. Поэтому естественно, что появляясь сообщения о том, что именно этот этап — присоединение АТФ к миозину — является определяющим при трансформации химической энергии АТФ в механическую энергию деформации миозина.

Весьма схематично контрактильную систему можно представить в виде пучка миозиновых цепей, связанных периодически поперечными связями. Такая система будет иметь постоянную тенденцию к свертыванию вследствие теплового Броуновского движения. Это стремление к скручиванию, однако, будет уравниваться в той или иной степени растягивающими силами, вызванными отталкиванием между одноименными (положительными или отрицательными, в зависимости от рН и концентрации солей) зарядами, фиксированными на цепях. Длина системы в каждый данный момент определяется равнодействующей этих противоположно направленных сил. Известно, что в области рН 7,0—8,0 при малых концентрациях KCl, то есть именно в тех пределах, в которых мы проводили опыты, миозин в присутствии ионов двухвалентных металлов Ca^{++} и Mg^{++} имеет некоторый избыточный положительный заряд [26; 27]. АТФ, с другой стороны, характеризуется сильным анионным характером (ATP^{4-}) и отличается большой плотностью отрицательного заряда [28]. Поэтому присоединение АТФ к реактивным центрам миозина* должно привести к экранированию положительных зарядов, фиксированных на цепях, уменьшению их отталкивания и, следовательно, к нарушению равновесия сил в системе. Конечным результатом этого процесса должно быть сокращение.

До сих пор мы обращали внимание только на механическую сторону тех влияний, которые оказывает ДНК на общие свойства миозиновой системы. Однако теперь следует отметить, что добавление такого типичного полиэлектролита, как ДНК, содержащего вдоль цепи различные функциональные группы (в частности фосфатные), не может не сказаться и на электрохимических свойствах системы.

В описанных выше опытах (см. рис. 4) при отсутствии солей кальция и магния в среде, в которой готовится и испытываются нити, как мы видели, получаются нити, у которых добавление АТФ вызывает не сокращение, а удлинение. Теперь результаты этого опыта становятся понятными. Действительно, отсутствие достаточного количества ионов Ca^{++} и Mg^{++} должно вести к уменьшению положительного заряда системы. Так как при взаимодействии миозина и ДНК происходит взаимная нейтрализация

* Миозин, по-видимому, является поливалентным ферментом, 1 моль которого способен связать 8—10 моль АТФ [25].

противоположно заряженных групп, недостаток ионов кальция и магния здесь должен особенно сильно сказаться на общем заряде системы. Можно допустить, что в этом случае имеет место преобладание отрицательных зарядов в нитях, и поэтому естественно, что АТФ вызывает не сокращение, а удлинение нитей*. Однако добавление солей кальция и магния, которые могут вызвать замену избыточного отрицательного заряда системы положительным, приводит, как мы видели, к сокращению нитей. Эти опыты, как нам кажется, являются убедительным свидетельством в пользу электрохимической природы сокращения.

В свете изложенных выше соображений само по себе сокращение обусловлено сорбцией АТФ и не связано непосредственно с расщеплением последнего. Именно такие взгляды высказываются исследователями группы Моралеса [12; 23; 24]. Расщепление АТФ необходимо лишь постольку, поскольку за ним следует десорбция значительно менее сорбируемых, чем АТФ, продуктов его распада с освобождением реактивного центра миозина. При этом происходит восстановление исходных электрохимических свойств системы, что должно приводить к расслаблению. Действительно в наших опытах, как указывалось выше, отмывка нити, сократившейся под влиянием АТФ, вызывает постепенное ее удлинение. Поэтому совершенно закономерно, что так называемые релаксирующие факторы мышечного волокна (система миокиназы и креатинфосфофазы) являются системами, имеющими большое сродство к АТФ и, таким образом, способствующими быстрому удалению этого вещества с поверхности миозина.

Мы уже указывали, что представления, связывающие сокращение исключительно с процессом расщепления АТФ, не согласуются с фактами. Однако не менее односторонней следует считать также и точку зрения, принимающую, что только связывание субстрата является процессом, осуществляющим трансформацию химической энергии АТФ в работу сокращения.

На второй стадии процесса взаимодействия АТФ с миозином, когда происходит расщепление связанного с миозином АТФ, как мы полагаем, может иметь место дальнейшее сокращение системы. В самом деле, миозин является полиамфолитом, который несет заряды обоих знаков. Преобладание положительных зарядов, которое имеет место в известных условиях, является до некоторой степени относительным. Небольшие изменения концентрации водородных ионов или солей, по-видимому, могут приводить даже к перезарядке миозинового геля [26]. Сорбция АТФ, имеющего сильный анионный характер, следовательно, может изменить электрохимические свойства системы. В этих условиях увеличение концентрации водородных ионов, которое происходит при гидролизе АТФ вследствие освобождения одной периферической фосфатной группы, подавляет диссоциацию анионогенных групп миозина. Этот процесс должен уменьшить силы отталкивания между отрицательно заряженными группами и, следовательно, привести к дальнейшему сокращению.

Таким образом, мы представляем себе сокращение как двухфазный процесс. На первой стадии происходит связывание АТФ, сопровождающееся сокращением, обусловленным экранированием положительных зарядов, причем при этом расходуется большая доля свободной энергии расщепления АТФ. На второй стадии сокращение продолжается уже благодаря тем сдвигам, которые вызывают расщепление АТФ.

Очевидно, нет никаких оснований принимать, что тот или иной агент должен действовать на каждой из этих стадий однозначно. Конечный результат всегда будет равнодействующей тех влияний, которые оказывает данный фактор на различные звенья процесса. Поэтому, в общем

* Мы ранее указывали, что бланширование амперозом (увеличение положительного заряда системы) вызывает сокращение геля (нитей или действующих АТФ) [20].

случае, не следует ожидать строгой корреляции между количеством расщепленного АТФ и величиной деформации.

Мы изложили здесь опыты с миозиновыми нитями, полученными при добавлении ДНК, и некоторые соображения и сопоставления, которые возникли при толковании этих опытов. Миозиновые нити, «упрочненные» ДНК, как мы видели, несмотря на все свое несовершенство, оказались достаточно удовлетворительными моделями для изучения некоторых сторон, связанных с явлением контрактности. Модельный подход, которым так блестяще началось изучение физической сущности сокращения, безусловно еще далеко не исчерпал себя. Дальнейшие исследования на этом пути, и в первую очередь попытки установить связь деформации с различными фазами ферментативной реакции АТФ с миозином, должны открыть много нового для воссоздания стройной картины механизма сокращения.

ВЫВОДЫ

Миозиновые нити, полученные при добавлении ДНК, оказались способными моделировать механохимическую реактивность биологических контрактных систем: они сокращались под влиянием АТФ, развивая при этом напряжение и производя работу. Тщательное отмывание нитей, сократившихся под влиянием АТФ, вызывает возвращение размеров нитей к исходным.

Таким образом, показано, что нити, полученные из комплекса миозина с другим линейным полиэлектролитом биологического происхождения — ДНК, обладают механохимическими свойствами, напоминающими свойства нитей актомиозина. Следовательно, соединение с актином не является обязательным условием возникновения механохимической реактивности у миозина.

Величина, а в ряде случаев и направление деформации нитей в ответ на добавление АТФ связаны определенным образом с их механическими свойствами, которые, в свою очередь, определяются внутренней структурной организацией нитей.

В отсутствие ионов Ca^{++} добавление АТФ вызывает удлинение нитей вместо сокращения, что может объясняться изменением электрохимических свойств контрактной системы в этих условиях.

В ряде случаев удается установить корреляцию между величиной деформации нитей и ферментативной активностью миозина (исследование в различных пределах рН, в присутствии ЭДТА и т. д.).

В работе обсуждаются различные точки зрения о путях использования химической энергии АТФ. Рассматривается применимость энтропийно-электростатического принципа к объяснению механизма сокращения, исходя из полнамфолитной природы контрактных систем. Выдвигаются соображения о путях перехода химической энергии АТФ в механическую работу сокращения как о двухфазном процессе, связанном с двумя стадиями ферментативного взаимодействия АТФ с миозином (присоединение АТФ к реактивным центрам миозина и его расщепление).

В заключение считаю своим приятным долгом выразить признательность В. А. Энгельгардту за интересное обсуждение результатов настоящей работы.

Поступила в редакцию
15.1.1957

ЛИТЕРАТУРА

1. Энгельгардт В. А. и Любимова М. Н., Биохимия 4, 716, 1939.
2. Энгельгардт В. А. и Любимова М. Н., Биохимия 7, 205, 1942.
3. Воробьев В. И. и Шапот В. С., ДАН 77, 309, 1951.
4. Воробьев В. И. и Шапот В. С., Биохимия 18, 603, 1953.
5. Katchalsky A., Prog. Biophys. and Biophys. Chem. 4, 1, 1954.

- 6 Erdős E., *Studies Szeged* 3, 57, 1943.
- 7 Кафрани К. А. и Энгельгардт В. А., *ДАН* 92, 385, 1953.
- 8 Немчинская В. Л., *Биохимия* 15, 478, 1950.
- 9 Воробьев В. И., Дисс. Ленинград, 1952.
- 10 Weber H. H., *Biochim. biophys. acta* 12, 150, 1963.
- 11 Ашмарин И. Л., *Биохимия* 18, 71, 1953.
- 12 Blum J. J., *Arch. Biochem. Biophys.* 55, 486, 1955.
- 13 Cross M., *Science* 118, 218, 1953.
- 14 Hansl N. R., *Feder Proc.* 15, 268, 1956.
- 15 Washendonk W. J., Vloedman D. A., *Biochim. biophys. acta* 7, 335, 1951.
- 16 Tso P. O. P., Bomner J., Eggman L., Vinograd J., *J. Gen. Physiol.* 30, 325, 1956.
- 17 Hoffman-Berling H., *Biochim. biophys. acta* 15, 226, 1954.
- 18 Bowen W. J., *Am. J. Physiol.* 165, 10, 1951, 169, 218, 1952.
- 19 Friess E. T., Morales M. F., *Arch. Biochem. Biophys.* 58, 326, 1955.
- 20 Wöhlich E., *Naturwiss.* 28, 305, 1940.
- 21 Meyer K. H., *Biochem. Z.* 214, 253, 1929.
- 22 Kuhn W., Katchalsky A., *Nature* 165, 514, 1950.
- 23 Morales M., Botts J., *Discuss. Faraday Soc.* № 13, 125, 1953.
- 24 Hill T. L., *Discuss. Faraday Soc.* № 13, 132, 1953.
- 25 Oullet L., Laidler K. J., Morales M. F., *Arch. Biochem. Biophys.* 39, 37, 1952.
- 26 Sarkhar N. K., *Enzymol.* 14, 237, 1950.
- 27 Laidler K. J., Berdell A. J., *Arch. Biochem. Biophys.* 55, 138, 1955.
- 28 Hill T., Morales M., *Arch. Biochem. Biophys.* 37, 425, 1952.
- 29 Kuschinsky G., Turba F., *Experientia* 6, 103, 1950.

ON MECHANO-CHEMICAL PROPERTIES OF MYOSIN THREADS OBTAINED UPON ADDITION OF DESOXYRIBONUCLEIC ACID

V. I. VOROBIEV

Institute of High Molecular Compounds, Academy of Sciences of the USSR, Leningrad

The threads obtained from a complex of myosin with another polyelectrolyte of biological origin (DNA) possess mechano-chemical properties resembling those of actomyosin threads (in the presence of 10^{-2} M CaCl₂ and 10^{-3} M MgCl₂ in 0.05 M KCl the threads contract under the influence of ATP). Hence, the combination with actin is not a prerequisite of the mechano-chemical reactivity of myosin.

In the absence of Ca-ions addition of ATP causes lengthening of the threads instead of contraction. This is attributed to a change in the electrochemical properties of the contractile system under the given conditions.

In some cases a correlation was established between the deformation value of the threads and the enzymic activity of myosin (within different pH ranges, in the presence of EDTA, etc.).

The validity is discussed of the entropy-electrostatic principle for the explanation of the mechanism of contraction as based on the polyampholytic nature of the contractile systems. Some suggestions are made as to the transformation of chemical energy of ATP into mechanical work of contraction. This is conceived as a biphasic process linked with two stages of enzymic interaction of ATP with myosin (addition of ATP to the reactive centers of myosin and ATP splitting).

Академия наук СССР
Журнал структурной химии
Том 2, № 3, 1961 г.

И. П. Борисова и М. В. Волькенштейн

О ВАН-ДЕР-ВААЛЬСОВОМ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ МОЛЕКУЛ
УГЛЕВОДОРОДОВ

Н. П. Борисова и М. В. Волькенштейн

О ВАН-ДЕР-ВААЛЬСОВОМ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ МОЛЕКУЛ
УГЛЕВОДОРОДОВ

Рассчитано ван-дер-ваальсово взаимодействие двух молекул метана при различных относительных расположениях. Согласно с опытом может быть получено, если воспользоваться для взаимодействия водородов потенциалом Хилла, причем необходимо учитывать также и взаимодействие углеродов и углеродов с водородом в зависимости от взаимной ориентации молекул. Вклад стерического взаимодействия в барьер внутреннего вращения для этана оказывается пренебрежимо малым.

Конформационные свойства молекул особенно существенны для поведения полимеров. Макромолекулы представляют собой поворотнo-изомерные кооперативные системы, их физические характеристики определяются набором возможных поворотных изомеров и его изменениями при тех или иных воздействиях на макромолекулу [1]. Однако до сих пор мы не располагали уверенным методом расчета разности энергий поворотных изомеров — основной величины, ответственной за конформационные свойства молекулы. Целью настоящей работы является рассмотрение взаимодействия валентно не связанных атомов водорода в углеводородах.

При расчете стерического взаимодействия атомов водорода в этане Эйринг [2] воспользовался потенциалом для двух молекул H_2 , вычисленным по методу валентных схем. Считая энергию взаимодействия двух атомов H равной $1/4$ энергии взаимодействия двух молекул H_2 , Эйринг получил ван-дер-ваальсов потенциал, показанный на рис. 1 (кривая 1). На том же рисунке приведена соответствующая экспериментальная кривая 2, полученная из потенциала взаимодействия $H_2 - H_2$, найденного по атому виральному коэффициенту [3]. Кривые сильно расходятся при малых расстояниях, что, по-видимому, связано с непригодностью в этих условиях потенциала Леннард-Джонса, использованного при построении экспериментальной кривой [4].

Вклад в барьер внутреннего вращения для этана, определяемый взаимодействием $H - H$, составляет, согласно Эйрингу, $0,3$ ккал/моль. Если использовать не теоретическую, а экспериментальную кривую, то этот вклад будет значительно больше. Мэзон и Кривой [5] исходят из потенциала $H \dots H$, вычисленного Хиршфельдером и Линнетом [6]. Это — потенциал взаимодействия двух атомов H , находящихся в триплетном состоянии. В работе [5] при расчете стерических эффектов потенциал приравняется половине триплетного:

$$U_{H-H} = \frac{1}{2} \psi(r, A) = \frac{1}{2} [37 \cdot 10^3 \exp(-3,07 r) - 90 r^{-6}]. \quad (1)$$

Кривая 3 (рис. 1), полученная по формуле (1), отвечает более сильному отталкиванию, чем экспериментальная кривая. Кривой 3 соответствует притяжение при $r > 3,7$ А. Следует отметить, что расстояния между ближайшими валентно не связанными атомами H в углеводородах могут быть значительно меньше (около 2 А). Мы думаем, что потенциал (1) неудовлетворителен, так как нельзя фиксировать именно триплетное состояние двух атомов H . Более разумно учесть в потенциале и синглетное состояние [7]:

$$U_{H-H} = \frac{1}{4} U_{12} + \frac{3}{4} U_{32}, \quad (2)$$

здесь U_{12} и U_{32} — энергии синглетного и триплетного состояния, взятые из работы [6]. Аналитический вид (2) такой:

$$U(r, A) = 12 \cdot 10^3 \exp(-2,85 r) - \frac{160}{r^6}. \quad (3)$$

Как видно из рис. 1, кривая 4, полученная по формуле (3), близка к экспериментальной. Ряд авторов [4, 8] выражал сомнение по поводу применимости потенциала для

свободных атомов Н к расчетам стерического взаимодействия Н — Н в углеводородах. Однако в работах [5, 9] высказана противоположная точка зрения: авторы этих работ считают вполне возможным пользоваться «триплетным» потенциалом.

Рассмотрим стерическое взаимодействие двух молекул метана, что позволяет выбрать разумный потенциал для взаимодействия Н...Н. В крайнем положении а (рис. 2) отталкивание должно быть значительно больше, чем в другом крайнем положении б. Экспериментальная кривая взаимодействия $\text{CH}_4\cdots\text{CH}_4$ [10] является усредненной по всем взаимным ориентациям молекул и должна поэтому лежать между кривыми для положений а и б. Для расчета необходимо, кроме потенциала Н...Н, знать также потенциалы С...Н и С...С. Последний был найден А. И. Китайгородским (рис. 3):

$$U_{\text{C-S}}(r, \text{А}) = 37 \cdot 10^3 e^{-3.4r} - \frac{330}{r^6} \quad (4)$$

Для взаимодействия Н...Н мы берем потенциал (3), а потенциал С...Н (рис. 4)

$$U_{\text{C-H}}(r, \text{А}) = 68 \cdot 10^3 e^{-3.2r} - \frac{230}{r^6} \quad (5)$$

находим из (3) и (4), пользуясь так называемым комбинационным правилом [11].

На рис. 5 приведены рассчитанные нами кривые для положений а и б и экспериментальная кривая. Очевидно, расчет не согласуется с опытом. Нельзя считать, что взаимодействие атомов Н, валентно связанных с С, такое же, как у атомов Н в молекулах H_2 . Согласно рентгенографическому исследованию парафинов [12], ван-дер-ваальсов радиус водорода, связанного с атомом С, равен в среднем 1,2 А, тогда как из рис. 1 видно, что этот радиус составляет примерно 1,5 А. Область $2,2 < r < 3,0$ А для свободных атомов Н является областью отталкивания, а для водородов связей С — Н — областью притяжения.

Хилл [4] для взаимодействия атомов Н связей С — Н предложил потенциал:

$$U_{\text{H-H}}(r, \text{А}) = 350 \cdot 10^3 e^{-3.7r} - \frac{18}{r^6} \quad (6)$$

Эта формула получена на основе потенциала Леннарда-Джонса с найденными из кристаллографических и термодинамических данных параметрами. Потенциал (6) в области $2,2 < r < 3,0$ А дает притяжение (рис. 1). Можно думать, что различие в поведении атомов Н, свободных и валентно связанных с С, обусловлено главным образом влиянием атома С. Это влияние сводится к деформации электронной оболочки атома Н, вследствие чего уменьшается обменное отталкивание водородов. Совпадение кривой, построенной по формуле (3) с экспериментальной кривой для взаимодействия $\text{H}_2\cdots\text{H}_2$ и с кривой Эйринга, показывает, что валентная связь Н — Н такого влияния не оказывает. Другой причиной сжатия сферы дей-

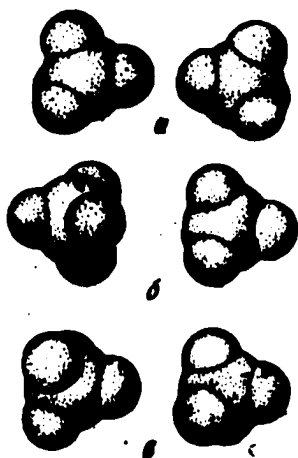


Рис. 2. Различные взаимные положения молекул метана

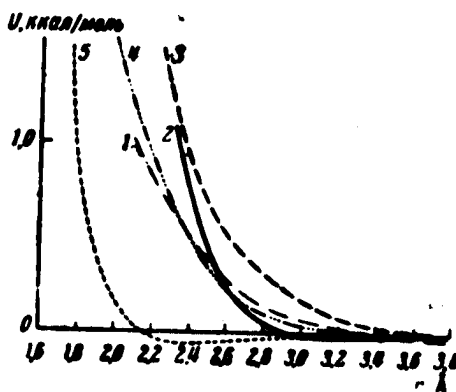


Рис. 1. Потенциалы взаимодействия Н...Н: 1 — по Эйрингу, 2 — экспериментальная кривая, 3 — по формуле (1), 4 — по формуле (3), 5 — по Хиллу

ствия связанных водородов по сравнению со свободными является притяжение Н к атому С, с которым Н валентно не связан [8]. Однако этот эффект, проявляющийся только в области $r \approx 3,0$ Å, не может заметно сказаться на энергии взаимодействия. Расчет взаимодействия $\text{CH}_4 \dots \text{CH}_4$, проведенный при помощи потенциала Хилла (6) и найденного из (4) и (6) потенциала для $\text{C} \dots \text{H}$ (рис. 4)

$$U_{\text{C} \dots \text{H}}(r, \text{Å}) = 36 \cdot 10^2 \exp(-4,6r) - 80 r^{-6}, \quad (7)$$

согласуется с опытом.

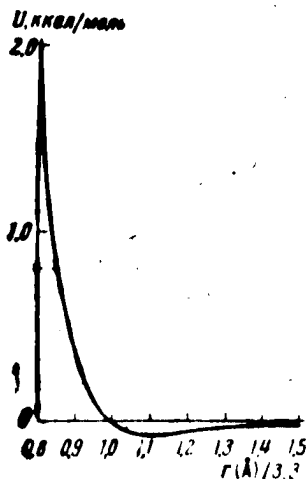


Рис. 3. Потенциал взаимодействия $\text{C} \dots \text{C}$.

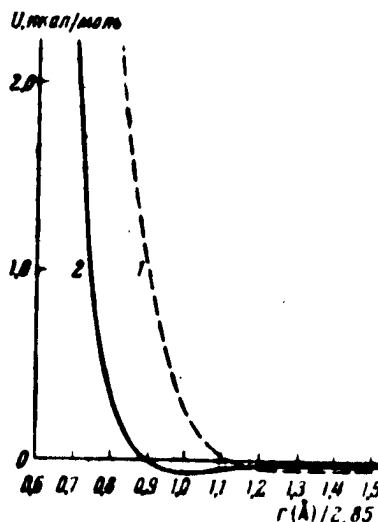
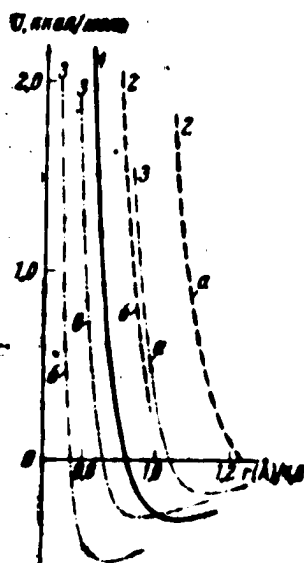


Рис. 4. Потенциалы взаимодействия $\text{C} \dots \text{H}$: 1 — по формуле (5), 2 — по формуле (7).

Как видно из рис. 5, кривые для крайних положений а и б действительно располагаются по разные стороны усредненной экспериментальной кривой.



Рассчитанная таким же способом кривая для положения а (рис. 2) лежит между экспериментальной кривой и кривой б. Стерическое взаимодействие молекул CH_4 существенно зависит от их взаимной ориентации; предположение о приближенной сферичности молекул CH_4 является очень грубым и справедливо только на больших расстояниях. Из анализа расчетных данных следует, что в положении а сильное отталкивание осуществляется за счет взаимодействия ближайших атомов Н, в положении б — за счет взаимодействия С с ближайшим Н, а в положении в — за счет взаимодействий $\text{H} \dots \text{H}$ и $\text{C} \dots \text{C}$. Что касается остальных взаимодействий,

Рис. 5. Потенциалы взаимодействия двух молекул метана в различных положениях (указаны буквами, согласно рис. 2): 1 — экспериментальная кривая, 2 — по формулам (4), (3) и (5); 3 — по формулам (4), (6) и (7).

то на рассматриваемых расстояниях они соответствуют притяжению, но существенного вклада в суммарную кривую не вносят. Отсюда можно

заключить, что, вопреки сказанному в [5], существенного экранирования атомов С водородом нет. Следовательно, необходимо учитывать как взаимодействие $H...H$, так и $C...H$ и $C...C$. Очевидно, это относится и к взаимодействию метильных групп в углеводородах. Исходя из приведенных результатов, мы рассчитали взаимодействие $H...H$ в молекуле этана $H_3C - CH_3$. Оно отвечает притяжению с энергией -0.2 ккал/моль, практически не зависящему от угла поворота группы CH_3 вокруг связи $C - C$. Следовательно, вклад этого взаимодействия в барьер внутреннего вращения в этане пренебрежимо мал. У Хоулетта [9] (и также в ряде других работ, см. [1]) приписывается барьер внутреннего вращения в этане отталкиванию атомов H. Хоулетт учитывает поправку на угловую зависимость «триплетного» потенциала (1) от ориентации связей $C - H$. В сущности здесь учитывается эффект ориентации связей, рассмотренный Полингри [13] и Харрисами [14]. Этот эффект не имеет отношения к стерическому отталкиванию водородов; прием, использованный Хоулеттом, представляется нам искусственным.

Проведенные расчеты позволят анализировать условия внутреннего вращения в углеводородах.

Мы благодарим Т. М. Бирштейн и О. Б. Птицына за ценную дискуссию.

ЛИТЕРАТУРА

1. М. В. Волькенштейн. Конфигурационная статистика полимерных цепей. Изд-во АН СССР, М., 1959.
2. H. Eyring, J. Amer. Chem. Soc., **54**, 3191 (1932).
3. J. Leonard Jones, Physica, **4**, 941 (1937).
4. T. Hill, J. Chem. Phys., **16**, 399, 938 (1948).
5. E. Mason, M. Kreevoy, J. Amer. Chem. Soc., **77**, 5808 (1955); **79**, 4854 (1957).
6. J. Hirschfelder, J. Linnet, J. Chem. Phys., **18**, 130 (1950).
7. C. A. Coulson, D. Stocker, Mol. Phys., **2**, 397 (1959).
8. H. Stuart, Die Struktur des freien Moleküls, Springer Verlag, Berlin, 1952.
9. K. Howlett, J. Chem. Soc., 4353 (1957).
10. I. Amdur, E. Mason, J. Chem. Phys., **22**, 843 (1954).
11. E. Mason, W. Rice, J. Chem. Phys., **22**, 522 (1954); I. Amdur, E. Mason, A. Harkness, J. Chem. Phys., **22**, 1071 (1954); E. Mason, J. Chem. Phys., **23**, 49 (1955).
12. A. Muller, Proc. Roy. Soc., A154, 624 (1936), 478, 227 (1941).
13. L. Pauling, Proc. Nat. Acad. Sci. USA, **44**, 211 (1958).
14. G. Harris, F. Harris, J. Chem. Phys., **31**, 1450 (1959).

Институт высокомолекулярных соединений
АН СССР
Ленинград

Статья поступила
4 июля 1960 г.

Том 2, № 3, 1961

ЖУРНАЛ СТРУКТУРНОЙ ХИМИИ

Н. Б. Берсукер

ВНУТРЕННЯЯ АСИММЕТРИЯ В КОМПЛЕКСНЫХ СОЕДИНЕНИЯХ

1. МЕТОД РАСЧЕТА И ОСНОВНЫЕ ФОРМУЛЫ В ПРИБЛИЖЕНИИ ТЕОРИИ КРИСТАЛЛИЧЕСКОГО ПОЛЯ

Приведены результаты исследования внутренней асимметрии, возникающей в первой координационной сфере шестикординированных комплексных соединений благодаря несимметричности ψ -облака электронов незаполненной d -оболочки центрального атома (принципиальное объяснение этой асимметрии основывается на теореме Яна - Теллера). Равновесная конфигурация одинаковых лигандов в общем случае по отношению к комплексу будет искаженным октаэдром (у которого одна диагональ либо длиннее, либо короче двух других) и остается правильным октаэдром только если центральный атом имеет электронные конфигурации d^0 , d^5 , d^8 и d^{10} . Для всех случаев в рассматриваемом приближении получены формулы величины искажения октаэдра, а также формулы делительного расщепления уровней энергии благодаря внутренней асимметрии.

ВВЕДЕНИЕ

Основные физико-химические свойства комплексных соединений, как известно, тесно связаны с симметрией пространственного расположения лигандов вокруг центрального атома в первой координационной сфере. К таким свойствам относятся, например, поглощение света в видимой области (цветность), инфракрасный, микроволновой и рамановский спектры, оптическая активность, изомерия, реакционная способность и др. Следовательно, при исследовании этих свойств необходимо иметь определенное представление о симметрии комплекса.

В практике изучения комплексных соединений обычно предполагают, что пространственное расположение лигандов вокруг центрального атома в первой координационной сфере при отсутствии внешних возмущений соответствует максимальной симметрии для данного координационного числа. Так, например, для координационного числа шесть и одинаковых лигандов комплекс считается октаэдрическим, для координационного числа четыре — тетраэдрическим или квадратным и т. д. Эти предположения не вызывали бы возражений, если бы поле центрального атома было сферически симметричным или, по крайней мере, обладало достаточно высокой симметрией. Однако вследствие наличия незаполненных d (или f) оболочек центральный атом-комплексообразователь при взаимодействии с лигандами в общем случае не создает вокруг себя достаточно симметричного поля, так что лиганды, хотя они и одинаковы, могут занимать несимметричные положения по отношению к такому центральному атому. Поэтому комплексы в общем случае не будут максимально симметричными.

В кристаллическом состоянии отклонения от максимальной симметрии в комплексных соединениях могут возникнуть и за счет влияния внешней или следующей координационной сферы. В отличие от этих искажений симметрии, асимметрию, возникающую вследствие несимметричности ψ -облака электронов центрального атома, мы будем называть внутренней. В случае свободных молекул или ионов в растворе асимметрия, очевидно, может быть только внутренней.

Page Denied

Next 3 Page(s) In Document Denied