

КАЛОРИМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕПЛОЙ ТРАНСКОНФОРМАЦИИ КОЛЛАГЕНА

*Э.Д.Андроникашвили, Н.Г.Бакрадзе, Г.В.Маджагаладзе,
Д.Р.Моиселидзе, Г.М.Мревлишвили, З.И.Чанчалашвили*

Выяснение природы трансформации длинных полимерных цепей (как синтетических, так и природных) вызывает в последнее время большой интерес физиков и такой тип фазовых превращений рассматривается в настоящее время в теоретических исследованиях [1].

К классу линейных природных полимеров относится, в частности, и молекула коллагена, состоящая из трех левозакрученных полипептидных цепей, объединенных водородными связями. Представляло интерес изучить процесс тепловой трансформации этого белка. В результате экспериментов, проведенных нами методом дифференциального адиабатного микрокалориметрического анализа (чувствительность микрокалориметрической установки 10^{-7} Дж), выяснилось, что макромолекулы коллагена, экстрагированные из ткани двумя различными способами могут претерпевать конформационное превращение двух типов. Как видно из рис. 1,а, на котором изображена температурная зависимость теплоты поглощения растворов коллагена (запись сделана на электродном потенциометре ЭПН-09), процесс тепловой трансформации соле-экстрагированного коллагена протекает двухстадийно с распадом тройной спирали на три отдельные полипептидные цепи. При конформационном же превращении кислотно-экстрагированного коллагена (рис. 1,б) наблюдается всего лишь одна стадия процесса внутримолекулярного плавления, с распадом молекул на одинарные и двойные цепи, сворачивающиеся в хаотические клубки. При этом и в двойной цепи все основные связи оказываются разорванными, за исключением небольшого количества поперечных, добавочных, междоцепочечных сшивок, не дающих измеримого вклада в теплоту процесса трансформации. Различный характер распада молекул коллагена был подтвержден нами седиментационным анализом (рис. 2,а,б), аналогично тому, как это было сделано в работе [2]. Обращаем внимание читателя на то, что двухстадийным диаграммам теплоты поглощения соответствуют седиментограммы с одним пиком, и наоборот.

Было интересно выяснить, может ли различаться по своей природе характер внутримолекулярного фазового превращения, в зависимости от того из какой ткани, нормальной или опухолевой, выделен исследуе-

мый белок. Следует заметить, что нами было установлено различие в характере кристаллизации воды в нормальных и опухолевых тканях при их охлаждении до -130°C . Действительно, если в процессе прогрева нормальной мышечной и соединительной ткани от -130 до 0°C ,

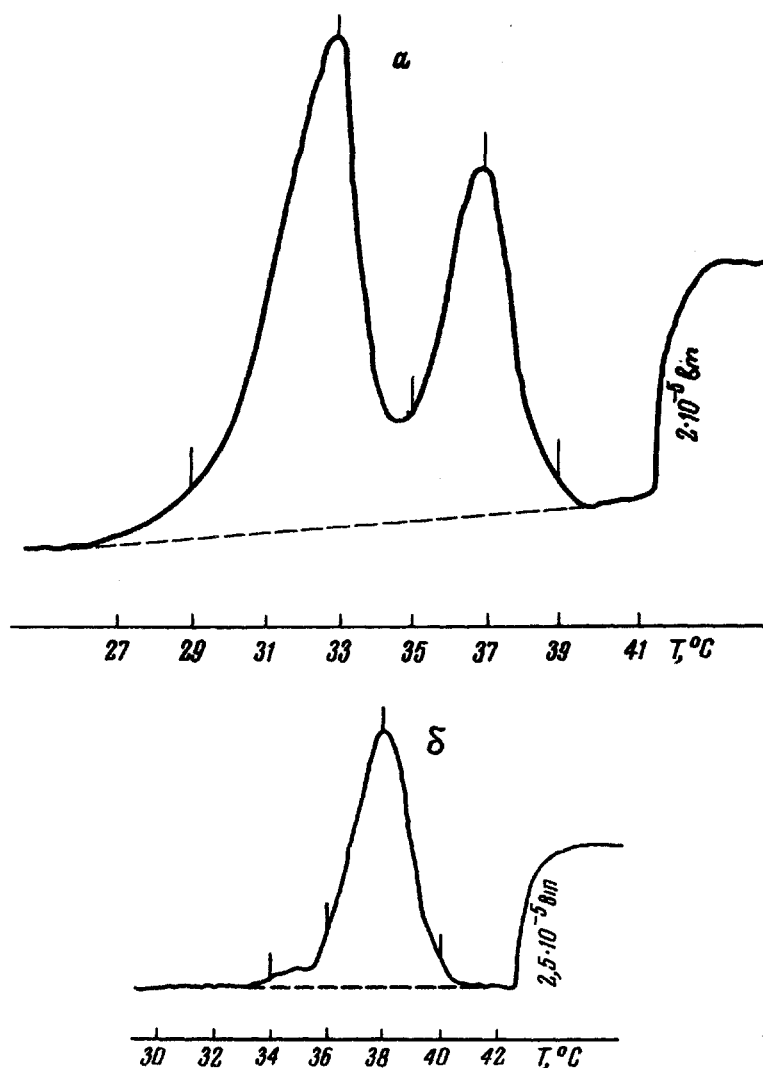


Рис. 1. Калориметрическая запись теплопоглощения растворов коллагена, выделенного из нормальной соединительной ткани, в $0,1\text{M}$ ацетатном буфере $\text{pH } 4,1$: *a* – соле-экстрагированный коллаген, *б* – кислотно-экстрагированный коллаген

при плавлении внутритканевого льда поглощается $73,1 \text{ ккал/г}$, то при прогреве опухолевой ткани поглощается всего $66,4 \text{ ккал/г}$. Таким образом, количество "связанной" (т.е. невымораживаемой) воды, приходя-

щейся на 1 : вещества значительно больше в опухолевой, чем в нормальной ткани. С нашей точки зрения это означает, что при деструкции ткани увеличивается эффективная площадь соприкосновения поверхности макромолекул с молекулами воды [3]. А это, в свою очередь, обозначает высвобождение химически активных групп, объединяющих в норме белковые молекулы в надмолекулярные структуры высшего порядка.

Выделяемые из злокачественной опухоли¹⁾ (Саркома М-1) молекулы

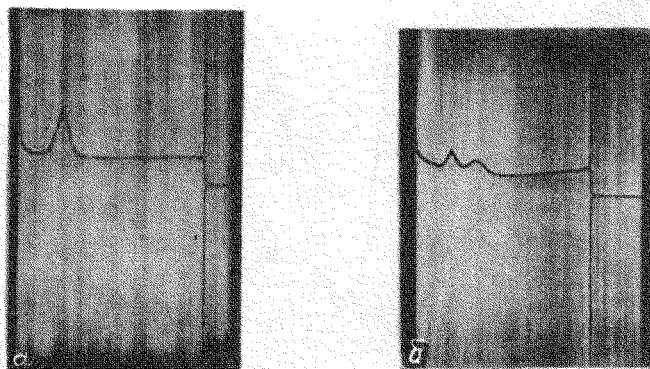


Рис. 2. Седиментограммы растворов денатурированного коллагена, выделенного из нормальной соединительной ткани в 0,1М ацетатном буфере РН=4,1, 40°C: а — соле-экстрагированный коллаген, концентрация $C = 0,42\%$, 56100 об/мин; 90 мин после достижения максимальных оборотов, угол наклона 70°, б — кислотно-экстрагированный коллаген, концентрация $C = 0,47\%$, 56100 об/мин; 90 мин после достижения максимальных оборотов; угол наклона 75°

коллагена в сравнении с молекулами коллагена экстрагированного из нормальной соединительной ткани, показали следующее:

а) в "раковых" молекулах кислотно-экстрагированного коллагена вопреки норме отсутствуют добавочные межцепочечные сшивки, благодаря чему седиментация всех продуктов трансконформации происходит с одной скоростью (рис. 3)²⁾;

¹⁾ Данная опухоль представляет собой полиморфноклеточную саркому, полученную в 1943 г. Л.Шабадом и М.Блох, путем перевивки опухоли, индуцированной 3, 4-бензпиреном.

²⁾ Необходимо отметить, что в исследуемых нами опухолях количественно значительно преобладала кислотно-экстрагируемая фракция, соле-экстрагируемая фракция в этот период развития опухоли (15 дней после прививки) практически отсутствовала. Оказалось также, что по мере роста опухоли, количество "свободной" воды непрерывно уменьшается.

б) вместо одностадийного процесса тепловой трансформации, характерной для молекул кислотно-экстрагированного коллагена, процесс в этом случае протекает в две стадии, хотя полная теплота плавления, равная $18 \pm 1 \text{ кал/г}$ белка ($10,5 \pm 0,5 \text{ кал/г}$ на первой стадии и $7,4 \pm 0,6 \text{ кал/г}$, на второй) в обоих случаях, в пределах погрешности опыта, не меняется (рис. 4);

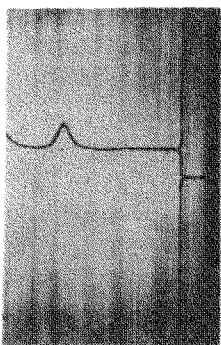


Рис. 3. Седиментограмма растворов денатурированного коллагена, выделенного кислотной экстракцией из опухолевой ткани; 0,1М ацетатный буфер, $\text{РН}=4,1$; 40°C ; концентрация $\text{C} = 0,32\%$ 56100 об/мин; 130 мин после достижения максимальных оборотов; угол наклона 70°

в) пик теплоглощения при 38°C , наблюдаемый в процессе тепловой трансформации коллагена экстрагированного из нормальной ткани, распадается на два пика с максимумами при $33,5$ и $37,5^\circ\text{C}$.

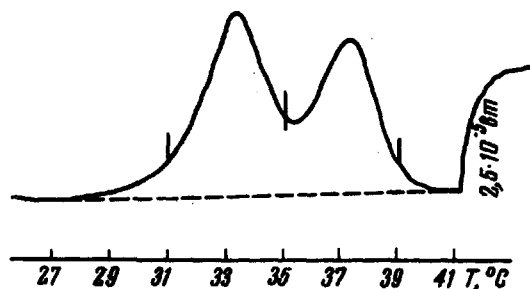


Рис. 4. Калориметрическая запись теплоглощения растворов кислотно-экстрагированного коллагена, выделенного из опухолевой ткани; 0,1М ацетатный буфер; $\text{РН}=4,1$

Таким образом, нами не только исследован характер трансформации белковых макромолекул, но, исходя из чисто физических концепций о внутримолекулярных фазовых превращениях, чисто физическими методами, на примере коллагена, ясно показано, что процесс трансформации макромолекул, выделенных из опухолевой ткани, в значительной степени отличается от аналогичного процесса, протекающего в "нормальных" молекулах. Это свидетельствует об из-

менении структурных свойств коллагеновых белков опухолевой ткани, чья термостабильность оказывается значительно измененной.

Авторы сердечно благодарят действительного члена АМН СССР Л.М.Шабад за обсуждение результатов и проф. Г.Е.Георгадзе, совместно с которым была проведена гистологическая часть исследования.

Институт физики
Академии наук Грузинской ССР

Поступило в редакцию
25 июля 1968 г.
После переработки
2 сентября 1968 г.

Литература

- [1] И.М.Лифшиц. ЖЭТФ, 55, вып. 12, 1963.
- [2] K. Å. Piez, M. S. Lewis, G. K. Martin, J. Gross. *Bioch. Bioph. Acta.*, 53, 596, 1961.
- [3] Э.Л.Андроникашвили, Г.М.Мревлишвили, П.Л.Привалов. ДАН СССР, 171, 1198, 1966.