

Ю. С. БОРОВИКОВ, М. С. ШУДЕЛЬ, Н. А. ЧЕРНОГРЯДСКАЯ,
Ю. М. РОЗАНОВ, И. Я. БАРСКИЙ

ОБ ИЗМЕНЕНИИ АЗИМУТАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК
ПОЛЯРИЗОВАННОЙ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОЙ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ
ОДИНОЧНЫХ МЫШЕЧНЫХ ВОЛОКОН
ПРИ РАСТЯЖЕНИИ И СОКРАЩЕНИИ

(Представлено академиком Г. М. Франком 26 V 1970)

Ранее нами были исследованы азимутальные характеристики (а.х.) поляризованной у.-ф. флуоресценции некоторых анизотропных цитологических объектов, одним из которых было мышечное волокно (а.х.— зависимость степени поляризации флуоресценции от угла (φ) между направлением электрического вектора электромагнитных колебаний возбуждающих флуоресценцию лучей и осью объекта). Полученные а.х. одиночного мышечного волокна связывались с наличием по крайней мере двух преимущественных направлений ориентации триптофановых молекул (¹), ответственных за флуоресценцию мышечного волокна в у.-ф. области спектра (²). Нами было замечено изменение а.х. мышечного волокна при тепловом повреждении (¹), глицеринизации и действии различных фиксаторов, применяемых в цитологических и электронномикроскопических исследованиях. Экстракция актина и миозина позволила предположить, что существование а.х. мышечного волокна обусловлено в основном молекулами миозина толстых протофибрилл.

В настоящей работе приводятся результаты изучения а.х. поляризованной у.-ф. флуоресценции одиночных тетанических мышечных волокон *m. ileofibularis* травяной лягушки (*Rana temporaria*) при растяжении и сокращении.

Растяжению (в среднем на 10—20%) подвергали живые мышечные волокна. Сокращение изучали на глицеринизированных моделях мышц. Глицеринизированные мышцы получали по общепринятой методике (³). В экстрагирующем растворе их содержали в течение 1—2 мес. при температуре -10° , а перед опытом помещали на сутки в отмывающий раствор

Таблица 1

Изменение характеристик поляризованной у.-ф. флуоресценции мышечных волокон при растяжении и сокращении (%)

Объект	P_0	P_{90}	P_{\min}	$P_{\text{ср}}$
Живые мышечные волокна				
В расслабленном состоянии	$29,5 \pm 0,5$	$22,5 \pm 1,5$	$-6,0 \pm 3,0$	$5,5 \pm 0,5$
В растянутом состоянии	$31,0 \pm 0,5$	$20,0 \pm 1,0$	$-6,0 \pm 3,0$	$7,0 \pm 0,5$
Отмытые глицеринизированные мышечные волокна				
В расслабленном состоянии	$31,0 \pm 0,5$	$14,0 \pm 1,0$	$-8,0 \pm 3,0$	$12,5 \pm 0,5$
При изотоническом сокращении	$24,5 \pm 3,0$	$16,0 \pm 1,0$	$-8,0 \pm 2,0$	$6,5 \pm 1,5$
При изометрическом сокращении	$30,0 \pm 1,0$	$16,0 \pm 0,5$	$-4,0 \pm 2,0$	$10,0 \pm 0,5$

(0,12 M KCl, 0,005 M MgCl₂, 0,01 M фосфатный буфер pH 7,0). Отпрепарованные и отмытые от глицерина мышечные волокна подвергали одномоментному действию 0,3% АТФ, разведенной на отмывающем растворе.

Исследовали изменения а.х. мышечных волокон при изотоническом и изометрическом сокращении. При изотоническом сокращении длина мышечного волокна уменьшалась на 30—40%. Флуоресценцию возбуждали лучами с λ 303 мμ, регистрацию производили в области спектра 320—380 мμ.

А.х. живых (в расслабленном и растянутом состоянии) и отмытых глицеринизированных мышечных волокон (в расслабленном и сокращенном состоянии) имеет период 90°. Наблюдаются два максимума при $\varphi = 0$ (P_0) и при $\varphi = 90^\circ$ (P_{90}) и один минимум между ними. При этом P_0 всегда больше чем P_{90} , хотя при сокращении мышечного волокна максимумы сильно сближаются по величине. Для мышечных волокон в расслабленном и растянутом состоянии характерно положение минимума (P_{min}) при 50°; при сокращении мышечного волокна P_{min} сдвигается в область 45°.

Для живых волокон в расслабленном состоянии $P_0 = 29,5\%$, $P_{90} = 22,5\%$, $P_{min} = -6\%$. Спонтанная поляризация флуоресценции $P_{сп}$ равна 5,5%. Для отдельных мышечных волокон наблюдается разброс этих величин в некоторых пределах (табл. 1).

При растяжении живых мышечных волокон происходит увеличение P_0 на 1—1,5% и падение P_{90} на 2—3%. $P_{сп}$ растет на 1—2% (рис. 1).

Если освободить концы растянутого мышечного волокна, параметры P_0 , P_{90} и $P_{сп}$ принимают первоначальные значения. Однако после сильного растяжения, когда величина P_0 возрастает более чем на 3%, возвращения к норме не наблюдается.

Для отмытых глицеринизированных мышечных волокон при сравнении их с живыми зарегистрирован небольшой подъем P_0 и значительное уменьшение P_{90} ; P_{min} уменьшается; $P_{сп}$ увеличивается почти в два раза.

Изотоническое сокращение мышечного волокна вызывает резкое падение P_0 на 5—10% при возрастании P_{90} на 1—3%; $P_{сп}$ падает больше чем в два раза, достигая 5—8%; P_{min} уменьшается по абсолютной величине, но незначительно, лишь на 2—3%, оставаясь отрицательной величиной

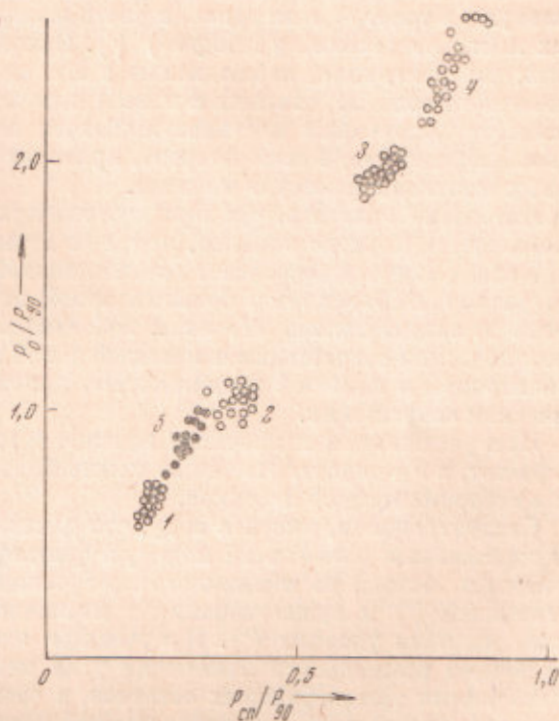


Рис. 1. Изменение параметров а.х. одиночного мышечного волокна при растяжении и сокращении. 1 — живые мышечные волокна в расслабленном состоянии, 2 — отмытые глицеринизированные мышечные волокна при изотоническом сокращении, 3 — отмытые глицеринизированные мышечные волокна при изометрическом сокращении, 4 — отмытые глицеринизированные мышечные волокна, 5 — живые мышечные волокна в растянутом состоянии. P_0 — степень поляризации у.ф. флуоресценции при $\varphi = 0$, P_{90} — степень поляризации у.ф. флуоресценции при $\varphi = 90^\circ$, $P_{сп}$ — спонтанная поляризация флуоресценции

(в данном случае сравнение производится с отмытыми глицеринизированными мышечными волокнами, поскольку сокращение изучалось на глицеринизированных моделях).

При изометрическом сокращении мышечного волокна наблюдается падение P_0 , по всего на 1—3%, и возрастание P_{90} на 1,5—2%; $P_{сн}$ уменьшается по сравнению с контролем всего на 1—2% (см. рис. 1).

Как уже сообщалось⁽¹⁾, а.х. мышечного волокна связана с существованием по крайней мере двух преимущественных направлений ориентации триптофановых молекул в толстых протофибриллах: вдоль оси мышечного волокна и под углом, близким к 90°. Не исключена возможность появления такой ориентации вследствие расположения части миозиновой молекулы в толстой нити вдоль, а части поперек при образовании поперечных мостиков («crossing bridges») (2). Исходя из этого, можно предположить, что изменения, наблюдаемые в а.х. при сокращении и растяжении мышечного волокна, связаны с изменением количества, ориентации и подвижности поперечных мостиков в области перекрытия толстых и тонких протофибрилл, что, в свою очередь, приводит к переориентации триптофановых остатков в молекуле миозина.

Интересно отметить, что при изотоническом сокращении величина P_0 уменьшается гораздо сильнее, чем при изометрическом, в то время как P_{90} в обоих случаях возрастает почти одинаково. Можно предположить, что это различие объясняется большей зоной перекрытия толстых и тонких питей и, следовательно, большим количеством поперечных мостиков при изотоническом сокращении и меньшей зоной перекрытия, но более строгой ориентацией и меньшей подвижностью поперечных мостиков при изометрическом сокращении.

При растяжении мышечного волокна имеет место обратная картина: P_0 растет, а P_{90} падает, что также может быть связано с уменьшением числа и переориентацией мостиков.

Следует, однако, иметь в виду, что данные о существовании двух преимущественных ориентаций молекул триптофана допускают также объяснения а.х. исходя из возможного построения молекулы миозина из двух α -спиралей (3) и существования в мышечном волокне спирализации на более высоких уровнях (4). Полученные экспериментальные данные не исключают возможности изменения угла между преимущественными направлениями триптофановых остатков, в частности вследствие изменения шага спирали во всей или определенной части миозиновой молекулы.

Таким образом, объяснение изменения а.х. при растяжении и сокращении вследствие изменения количества, подвижности и ориентации поперечных мостиков в области перекрытия толстых и тонких протофибрилл является упрощенным. К сожалению, для более однозначного решения этого вопроса пока еще не хватает экспериментальных данных.

Институт цитологии
Академии наук СССР
Ленинград

Поступило
6 V 1970

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Ю. М. Розанов, И. Я. Барский и др., ДАН, 197, № 1 (1974). ² С. В. Конаев, Электронновозбужденное состояние биополимеров, Минск, 1965. ³ A. Szent-Györgyi, Biol. Bull., 96, 2, 140 (1949). ⁴ F. A. Pepe, J. Mol. Biol., 27, 2, 203 (1967). ⁵ C. Cohen, K. C. Holmes, J. Mol. Biol., 6, 5, 423 (1963).