

В. Д. СЕМИЧАЕВСКИЙ, Г. И. ЛОЗОВАЯ

КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ СООТНОШЕНИЯ ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ АССОЦИАТОВ ХЛОРОФИЛЛА а С БЕЛКАМИ

(Представлено академиком А. И. Опариным 30 IX 1970)

В настоящей работе изучалась фотосенсибилизационная активность хлорофилла а при взаимодействии его ассоциатов в водной среде с 0,2% раствором сывороточного альбумина человека или протамина в зависимости от количества пигмента в реакционной среде. Ассоциаты хроматографически чистого хлорофилла а получали по методу, описанному ранее ⁽³⁾, кинетические кривые сенсибилизированной пигментом реакции фотовосстановления метилового красного аскорбиновой кислотой ⁽⁴⁾ записывали на автоматической установке ⁽⁵⁾.

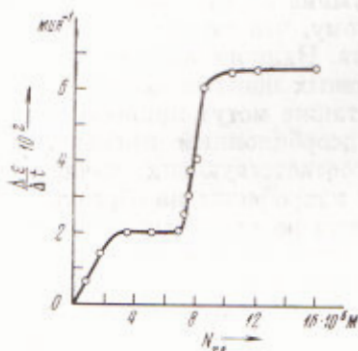


Рис. 1. Фотосенсибилизационная активность хлорофилла а в системе пигмент — сывороточный альбумин в зависимости от его концентрации в реакционной среде

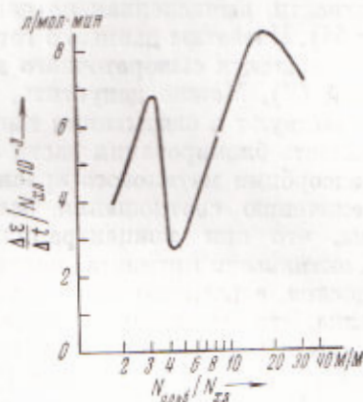


Рис. 2. Фотосенсибилизационная активность единицы хлорофилла в зависимости от соотношения сывороточный альбумин / хлорофилл в реакционной среде

Активность хлорофилла в ассоциациях и при взаимодействии с протамином была низкой ($\Delta\epsilon_{520} / \Delta t = 0,012 \text{ мин}^{-1}$) независимо от количества пигмента. Взаимодействие ассоциатов хлорофилла с сывороточным альбумином приводит к значительному возрастанию активности пигмента в реакции фотосенсибилизации ⁽⁶⁾. При введении сывороточного альбумина в систему с различным содержанием хлорофилла для скорости реакции наблюдалась концентрационная зависимость, подобная изотерме адсорбции Ленгмюра (рис. 1). Поэтому можно предположить, что сывороточный альбумин оказывает дезагрегирующее действие на ассоциаты пигмента, а связывание молекул пигмента биополимером носит адсорбционный характер. При этом изменения активности, очевидно, отражают изменения состояния адсорбции пигмента. Взаимодействие же с протамином, по-видимому, не приводит к разрушению ассоциатов. Обращает на себя внимание двух-

ступенчатый характер концентрационной зависимости. Подобную форму имели изотермы адсорбции (⁸⁻¹⁰), кривые изменения коэффициента поверхностного отражения хлорофилла, адсорбированного на неорганических и органических носителях небелковой природы (⁹), а также концентрационная зависимость включения пигмента в искусственные пигмент-белковые комплексы (^{11, 12}). Двухступенчатые кривые получались также и для зависимости извлечения хлорофилла из листьев смесью полярного и неполярного растворителей при изменении концентрации последнего, что интерпретировалось как наличие двух форм связи пигмента с белком (¹³).

Исследованная нами система существенно отличается от описанных ранее (^{8-10, 14}) тем, что в качестве адсорбента мы использовали биополимер. Кроме того, если в упомянутых выше работах адсорбция пигмента производилась из органических растворителей, в нашем случае белок взаимодействовал с ассоциатами хлорофилла в водной среде. Общий характер изменения свойств хлорофилла при его адсорбции, по-видимому, одинаков для всех случаев, однако имеются различия в количественных соотношениях. Активность единицы хлорофилла в единицу времени становится максимальной при аномально больших соотношениях белок/пигмент (рис. 2), хотя следовало бы ожидать (¹⁴), что максимум активности должен соответствовать мономолекулярному покрытию поверхности адсорбента (емкость монослоя для молекулы сывороточного альбумина при плоском расположении порфириновых частей молекул хлорофилла «а» на ее поверхности, вычисленная по данным (¹⁵) из расчета $S_{\text{хл}} = 400 \text{ \AA}$, составляет 44). Известны данные о гетерогенности состава (¹⁵) и «связывающих мест» молекул сывороточного альбумина по отношению к адсорбции красителей (¹⁶). Можно допустить, поэтому, что не все молекулы биополимера участвуют в связывании пигмента. Наличие ассоциатов белка (¹⁷) и возможность блокирования части активных центров молекул альбумина за счет адсорбции метилового красного также могут привести к кажущемуся увеличению соотношения белок/адсорбционный пигмент. Возможно также, что при концентрациях, соответствующих точкам максимальной активности пигмента, молекулы хлорофилла не образуют сомкнутого монослоя, а располагаются островками на активных центрах поверхности белка. Это, по-видимому, является одной из причин расхождения наших данных с результатами (¹⁸), где не наблюдалось перегиба на линейном участке кривой, и с данными (¹⁴) по изучению активности хлорофилла. Скачкообразный характер полученных кривых, по-видимому, указывает на дискретность состояний адсорбированного хлорофилла, обусловленных различным характером взаимодействия между пигментом и носителем (белком). Подобная дискретность состояний хлорофилла и в связи с этим изменения его активности наблюдались при накоплении пигментов *in vivo* (^{19, 20}).

Спектральные свойства пигмента описаны нами в другой статье (⁷). Мы не обнаружили спектральных сдвигов максимума поглощения хлорофилла при увеличении его концентрации в системе от $1,6 \cdot 10^{-6}$ до $1,6 \cdot 10^{-5}$ мол/л, хотя фотосенсибилизационная активность пигмента при этом характерно изменялась. Очевидно, изменения донорно-акцепторных свойств молекул хлорофилла являются более чувствительным показателем состояния пигмента, чем «агрегационное» смещение красного максимума поглощения.

Описанные результаты согласуются с полученными нами данными (²¹) о характере взаимодействия ассоциатов хлорофилла с белками и о регуляторной роли белка по отношению к функциональным свойствам пигмента. Показанная зависимость активности пигмента от концентрационных соотношений и качественных особенностей белкового компонента может иметь определенное значение в становлении функционально активных компонентов комплексов.

Авторы выражают благодарность Е. Г. Судьиной за ценные замечания, сделанные при обсуждении работы.

Институт ботаники
Академии наук УССР
Киев

Поступило
29 IX 1970

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. А. Красновский, Л. М. Кособуцкая, ДАН, 85, 177 (1952).
² Л. И. Некрасов, Биофизика, 12, 215 (1967). ³ К. Б. Серебровская, Г. И. Лозовая, Т. О. Балаевская, Журн. эволюцион. биохим. и физиол., 2, 302 (1966). ⁴ В. Б. Евстигнеев, В. А. Гаврилова, ДАН, 126, 410 (1959).
⁵ В. Д. Семичаевский, Укр. бот. журн., 27, 391 (1970). ⁶ А. И. Опарин, К. Б. Серебровская, Г. И. Лозовая, В сборн. Функциональная биохимия клеточных структур, «Наука», 1970. ⁷ Н. Д. Семичаевский, С. И. Лось, Г. И. Лозовая, Биофизика (в печати). ⁸ Л. И. Некрасов, Н. И. Кобозев, Г. Г. Комиссаров, Биофизика, 7, 568 (1962). ⁹ Л. И. Некрасов, Р. Каплер, Биофизика, 11, 48 (1966). ¹⁰ Г. Г. Комиссаров, Л. И. Некрасов, Н. И. Кобозев, ДАН, 154, 950 (1964). ¹¹ Д. Толибеков, С. К. Абдулаева, Ю. Е. Гиллер, Докл. АН ТаджССР, 11, 62 (1968). ¹² Ю. Е. Гиллер, Биофизика, 13, 1006 (1968). ¹³ Д. И. Сапожников, С. А. Черноморский, Физиол. раст., 7, 660 (1960). ¹⁴ Г. Г. Комиссаров, В. А. Гаврилова и др., ДАН, 150, 174 (1963). ¹⁵ П. Л. Привалов, Д. Р. Монаселидзе, Биофизика, 8, 420 (1963). ¹⁶ F. Karush, J. Am. Chem. Soc., 72, 2705 (1950). ¹⁷ P. D. Squire, P. Moser, C. T. O'Konski, Biochemistry, 7, 4261 (1968). ¹⁸ К. Б. Серебровская, В. Б. Евстигнеев и др., Биофизика, 7, 34 (1962). ¹⁹ О. Г. Судьи́на, М. Г. Голод, Укр. бот. журн., 20, 3 (1963). ²⁰ Г. И. Лозовая, Укр. бот. журн., 23, 17 (1966). ²¹ Г. И. Лозовая, В. Д. Семичаевский, II Всесоюзн. биохим. съезд, Тез. секц. сообщений, 19 секция. Ташкент, 1969.