

УДК 577.15

БИОХИМИЯ

Г. С. КОМОЛОВА, Г. Д. ЕРЫГИН, Т. Б. ВАСИЛЬЕВА, И. А. ЕГОРОВ

ВЛИЯНИЕ ПОСТОЯННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ ВЫСОКОЙ НАПРЯЖЕННОСТИ НА ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ ГИДРОЛИЗ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

(Представлено академиком А. И. Опариным 19 VII 1971)

Известные эффекты магнитного поля на такие важные функции организма, как рост, развитие, размножение обусловлены, очевидно, нарушениями в субклеточных структурах клетки, которые могут быть связаны как с изменением биохимических процессов в цитоплазме, так и с непосредственным воздействием магнитного поля на ДНК. В последние годы получены данные, свидетельствующие об изменении физико-химических свойств ДНК в магнитных полях высокой напряженности (порядка $10^3 - 10^4$ э) (¹⁻³). Известно, в частности, что молекула ДНК в растворе ориентируется длинной осью перпендикулярно линиям магнитного поля (^{2, 3}). Согласно представлениям Дорфмана (⁴), переориентация под влиянием магнитного поля молекул ДНК в растворе должна обнаруживаться не только в тонких оптических эффектах, но может отразиться, из-за нарушения стерического взаимодействия между ферментом и субстратом, и на соответствующих биохимических реакциях. Можно ожидать изменения в кинетике тех ферментативных процессов, которые связаны с присутствием стержнеобразных макромолекул ДНК и РНК. Однако, согласно литературным данным, экспериментальная проверка высказанного положения на примере ферментативного гидролиза РНК не привела к ожидаемым результатам. Магнитное поле напряженностью до 10^5 э не вызвало заметных изменений в кинетике реакции РНК — РНКаза (^{4, 5}).

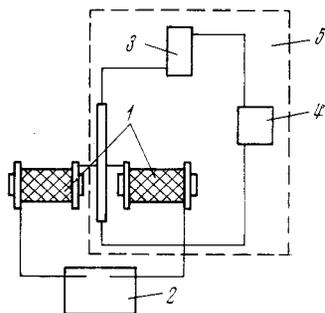


Рис. 1. Схема установки для магнитной обработки растворов

Таблица 1

Влияние магнитного поля на активность рибонуклеазы. Напряженность магнитного поля $3,2 \cdot 10^3$ э

№ опыта	Изменение активности по сравнению с контролем	
	ед. оптич. плотн. при λ 260 мμ	%
1	-0,016	-0,9
2	0	0
3	+0,03	+2,1
4	+0,012	+0,8
5	-0,02	-1,1
Среднее	+0,0012	+0,18

В данной работе, кроме упомянутой ферментативной реакции, в постоянном магнитном поле исследована ферментативная система ДНК — ДНКаза, связанная с присутствием молекул ДНК.

Были использованы кристаллические препараты ферментов: панкреатическая рибонуклеаза фирмы «Reanal» (Венгрия) и панкреатическая ДНКаза фирмы «Light» (Англия). Оба фермента являются эндонуклеазами и гидролизуют полинуклеотид-

ные цепи по фосфодиэфирным связям с отщеплением моно- и олигонуклеотидов.

Определение активности ферментов проводилось спектрофотометрически: рибонуклеазы — по Алфиссену (7) и дезоксирибонуклеазы — по Шмидту (8). Используемые методы основаны на определении величины прироста экстинкции в кислоторастворимой фракции при λ 260 м μ . В качестве субстрата при определении активности РНКазы использовался коммерческий препарат РНК фирмы «Light» (Англия).

Субстратом при исследовании ферментативной системы ДНК — ДНК-аза являлся препарат ДНК, выделенный нами из печени крыс детергентным

Таблица 2
Влияние магнитного поля на активность дезоксирибонуклеазы

№ опыта	Активность фермента			
	ед. оптич. плотн. при λ 260 м μ		%	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Напряженность магнитного поля $3,2 \cdot 10^3$ э				
1	0,150	0,200	100	133,3
2	0,170	0,220	100	129,4
3	0,150	0,200	100	133,3
4	0,170	0,220	100	129,4
5	0,160	0,200	100	125,0
Среднее	—	—	100 \pm 0	130,1 \pm 1,5 $p < 0,001$
Напряженность магнитного поля $1,2 \cdot 10^3$ э				
1	0,160	0,190	100	119
2	0,170	0,210	100	123
3	0,170	0,200	100	117
4	0,170	0,190	100	112
5	0,170	0,190	100	112
Среднее	—	—	100 \pm 0	116 \pm 2,0 $p < 0,01$
Напряженность магнитного поля $0,8 \cdot 10^3$ э				
1	0,170	0,160	100	94,2
2	0,170	0,170	100	100,0
3	0,150	0,160	100	106,6
4	0,160	0,160	100	100,0
Среднее	—	—	100 \pm 0	100,2 \pm 2,5 $p > 0,05$

методом по Кэю (9) с многократной депротеинизацией по Мармуру (10). Выделенная ДНК была достаточно полимерной ($S \approx 25$). Примесь РНК в препарате составляла 12%, белка — менее 1%. Ферментативный гидролиз проводился при температуре 25° в течение 1,5 час., причем все это время реакционная смесь циркулировала по замкнутой системе трубок в присутствии (опыт) или в отсутствие (контроль) магнитного поля.

Предварительным исследованием кинетики реакции найдены концентрации ферментов в реакционной смеси, соответствующие начальной скорости реакции при 25°. Для РНКазы она соответствовала 0,6 μ г/мл (ферментно-субстратное соотношение 1:5000) и для ДНКазы 3 μ г/мл (ферментно-субстратное соотношение 1:50).

Магнитная обработка растворов проводилась на установке, схема которой приводится на рис. 1. Установка состоит из электромагнитов (1), емкости

для раствора (3), перистальтического насоса (4) и замкнутого контура, по которому циркулирует жидкость. Питание электромагнитов осуществляется от выпрямителя ВСА-6 (2). Замкнутый контур термостатируется, температура регулируется с точностью $\pm 0,1^\circ$. Скорость протекания жидкости равнялась 3 мл/мин. Максимальная используемая в работе напряженность магнитного поля соответствовала $3,2 \cdot 10^3$ э. Опыты в каждом варианте повторялись пятикратно, причем каждый результат является средним из 3—4 параллельных измерений.

Данные по исследованию влияния магнитного поля с напряженностью $3,2 \cdot 10^3$ э на активность рибонуклеазы представлены в табл. 1.

Из приведенных результатов следует, что активность рибонуклеазы в магнитном поле в пределах ошибки измерений не отличается от контроля, что согласуется с имеющимися литературными данными (⁴, ⁵).

Опыты по исследованию активности дезоксирибонуклеазы проводились при различных напряженностях магнитного поля: $0,8 \cdot 10^3$; $1,2 \cdot 10^3$; $3,2 \cdot 10^3$ э. Из представленных в табл. 2 данных следует, что магнитное поле обнаруживает на систему ДНК — ДНКазы эффект, выражающийся в увеличении активности фермента.

Максимальное действие магнитного поля обнаруживается при напряженности $3,2 \cdot 10^3$ э. Уменьшение напряженности приводит к снижению эффекта. При напряженности магнитного поля $0,8 \cdot 10^3$ э эффект исчезает.

Полученные данные по модифицирующему влиянию постоянного магнитного поля на реакцию ДНК — ДНКазы подтверждают теоретическое предположение о возможности изменения кинетики ферментативных реакций, связанных с присутствием молекул ДНК, за счет их переориентации (¹). В рассматриваемом случае эффект магнитного поля выражается в повышении активности дезоксирибонуклеазы по сравнению с контролем максимально на 30%.

Можно полагать, что для ферментативных реакций, связанных с присутствием молекул ДНК и РНК, существует определенный порог напряженности магнитного поля, ниже которого эффект не проявляется. Как следует из результатов, приведенных в табл. 2, для рассматриваемой системы ДНК — ДНКазы пороговая величина напряженности лежит между $1,2 \cdot 10^3$ и $0,8 \cdot 10^3$ э.

С наличием порога напряженности в проявлении влияния магнитного поля на ферментативные реакции, субстратом в которых являются нуклеиновые кислоты, связано различное поведение в магнитном поле с напряженностью не более $3,2 \cdot 10^3$ э аналогичных систем: ДНК — ДНКазы и РНК — РНКазы. Можно полагать, что для проявления эффекта магнитного поля на активность рибонуклеазы требуются гораздо больше, чем используемые в работе, напряженности.

Полученные данные по усилению ферментативного гидролиза ДНК указывают на возможность модифицирующего влияния магнитного поля на целый ряд биохимических процессов, связанных с ферментативным расщеплением ДНК в норме и патологии клетки *in vivo*.

Институт биохимии им. А. Н. Баха
Академии наук СССР
Москва

Поступило
12 VII 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Я. Г. Дорфман, Биофизика, 7, 733 (1962). ² М. И. Мекшенков, Биофизика, 10, 747 (1965). ³ М. И. Мекшенков, В кн.: Молекулярная биофизика, «Наука», 1965, стр. 155. ⁴ J. E. Maling, E. E. Weissbluth, Biophys. J., 5, № 6, 767 (1965). ⁵ V. Rabinovitch, J. T. Maling, Biophys. J., 7, № 2, 187 (1967). ⁶ В. С. Шапот, Нуклеазы, М., 1968. ⁷ C. Anfinsen, J. Biol. Chem., 207, 201 (1954). ⁸ G. Schmidt, In: Methods in Enzymol., 2, № 7, 771 (1955). ⁹ E. R. M. Kay, N. S. Simmons, A. L. Dounce, J. Am. Chem. Soc., 74, 1724 (1952). ¹⁰ J. Margur, J. Mol. Biol., 3, 208 (1961).