

М. Е. КРЮКОВА, О. М. БОЧАРОВА-МЕССНЕР

СТРУКТУРА ТОЛСТЫХ ПРОТОФИБРИЛЛ МЫШЦ НАСЕКОМЫХ НА ПРИМЕРЕ МЫШЦ ДОМОВОГО СВЕРЧКА

(Представлено академиком Г. М. Франком 5 III 1975)

Изучение организации толстых протофибрилл остается одной из актуальных задач в исследовании мышечного сокращения. С тех пор, как Хаксли (¹) описал принцип расположения миозиновых молекул в толще протофибриллы, было предложено несколько моделей толстых протофибрилл. Пепе (²) разработал модель миозиновой протофибриллы мышц позвоночных. В своих последних работах (³, ⁴) он представил результаты изучения структуры толстых протофибрилл кролика. При больших увеличениях электронного микроскопа удалось разрешить субъединицы в поперечном сечении протофибриллы и получить их четкое изображение с помощью метода ротационной фотографии (⁵). Количество и расположение субъединиц хорошо согласуются с моделью Пепе. Сквайр предложил иную модель (⁶, ⁷), применимую к толстым протофибриллам мышц разных животных, в соответствии с которой протофибриллы дополнительно к миозину содержат немиеозиновый сердечник. В пользу этой модели свидетельствует тот факт, что парамиеозин удалось извлечь не только из гладких и косо исчерченных мышц моллюсков и аннелид, где его присутствие связывают со специфической «занимательной» функцией этих мышц, но и из поперечно-полосатых мышц некоторых других беспозвоночных, в том числе четырех видов насекомых (⁸, ⁹). В ходе сравнительного исследования ультраструктуры летательных и нелетательных мышц домового сверчка (*Acheta domestica* L.) мы сопоставляли строение протофибриллярного аппарата двух групп мышц. Нам представилось целесообразным выявить детали строения толстых протофибрилл с помощью методики, которую применяли Пепе и Дрюкер (³), и сопоставить полученные результаты с данными этих авторов и моделями миозинсодержащих протофибрилл.

В работе использованы три летательные (быстрые) мышцы и четыре нелетательные (медленные) мышцы, фиксированные при длине покоя. Установлено, что диаметр толстых протофибрилл не может служить критерием принадлежности к группе летательных или нелетательных мышц так же, как и организация субъединиц в поперечных сечениях протофибрилл.

Летательные мышцы (Å)	
1-я дорсальная метоторака	280±16
1-я тергококсальная метоторака	276±17
1-я субаларная метоторака	230±12
Нелетательные мышцы (Å)	
1-я тергококсальная проторака	286±26
Вентральная	264±24
1-я дорсальная проторака	262±28
Абдоминальная	254±21

Поэтому в дальнейшем изложении мы не будем разграничивать эти группы. Заполняющие поперечные сечения протофибриллы субъединицы варьируют по размерам (от 20 до 40 Å в диаметре), форме и плотности. При просмотре большого количества микрофотографий определенно выявляется

тенденция субъединиц к формированию концентрических колец (рис. 1а, б). Достаточно четко видны два кольца, которые мы будем называть центральным и внешним, и одна стержневая субъединица. Центральное кольцо в некоторых случаях состоит из более крупных и плотных субъединиц (рис. 1а — третья протофибрилла сверху, рис. 1б — нижняя протофибрилла). Иногда видны расположенные более поверхностно по отношению к внешнему кольцу группы субъединиц, которые можно интерпретировать

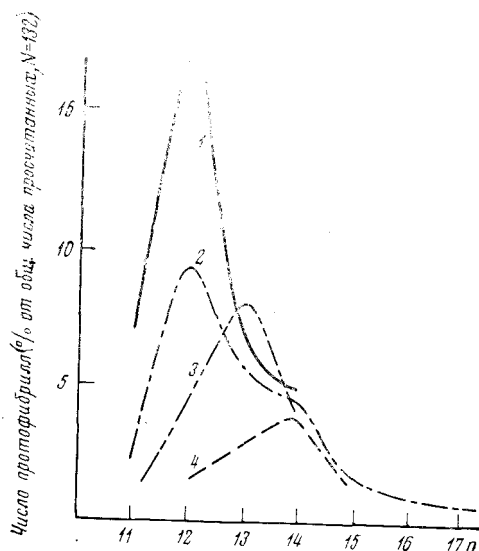


Рис. 2. Распределение протофибрилл с 6 (1), 7 (2), 8 (3) и 9 (4) субъединицами в центральном кольце в связи с количеством субъединиц во внешнем кольце (n)

как сохранившиеся части третьего, периферийного, кольца (рис. 1а — третья и четвертая протофибриллы, рис. 1б — верхняя левая протофибрилла). Полностью третье кольцо сохраняется очень редко (рис. 1а — две нижние протофибриллы).

Измерения и подсчеты, выполненные на более чем двухстах протофибриллах с достаточно хорошо сохранившимся расположением субъединиц, дали следующие результаты. Диаметр центрального кольца варьирует от 100 до 170 Å. внешнего — от 170 до 290 Å с максимумами распределения 125 и 250 Å соответственно. Данных о периферийном кольце недостаточно. Предполагается его диаметр меняется от 250 до 400 Å. Количество субъединиц в кольцах варьирует в достаточно широких пределах (рис. 1а, б, 2). Можно отметить некоторый параллелизм в возра-

стании количества субъединиц в центральном и внешнем кольцах, хотя возможны самые разнообразные комбинации (рис. 2). Преобладают протофибриллы с набором субъединиц 1+6+12. Когда кольца содержат кратные количества субъединиц и сохраняется симметрия их расположения, применим метод ротационной фотографии⁽⁵⁾, который позволяет получить более четкое изображение субъединиц (рис. 1б).

Известно, что на поперечных срезах мышц насекомых часто центральная часть толстых протофибрилл прокрашивается слабее, протофибриллы выглядят «полыми». На основании наших данных можно предположить, что последовательность изменений, приводящих к появлению «полых» протофибрилл, такова (рис. 1а, сверху вниз). Просветляется середина протофибриллы, в ее центре исчезает фоп-матрикс, как правило присутствующий. Затем уменьшается плотность стержневой субъединицы (постепенно она исчезает совсем) и субъединиц центрального кольца. Диаметр центрального кольца при этом не меняется (при измерении по внешнему краю), но за счет значительного уменьшения плотности составляющих его субъединиц создается впечатление, что просвет в центре протофибриллы увеличивается.

Полученные результаты свидетельствуют о дифференцировке структурных элементов протофибриллы (молекул или их агрегатов) на несколько слоев, выявляющихся на поперечном срезе в виде концентрических колец. Обнаруженное периферийное кольцо субъединиц включает, по-видимому, N-меремиозиновые участки молекул миозина. То, что это кольцо не было выявлено ранее, можно объяснить лабильностью составляющих его субъединиц и использованием недостаточно больших увеличений электронного микроскопа. (Пепе при больших увеличениях изучал структуру

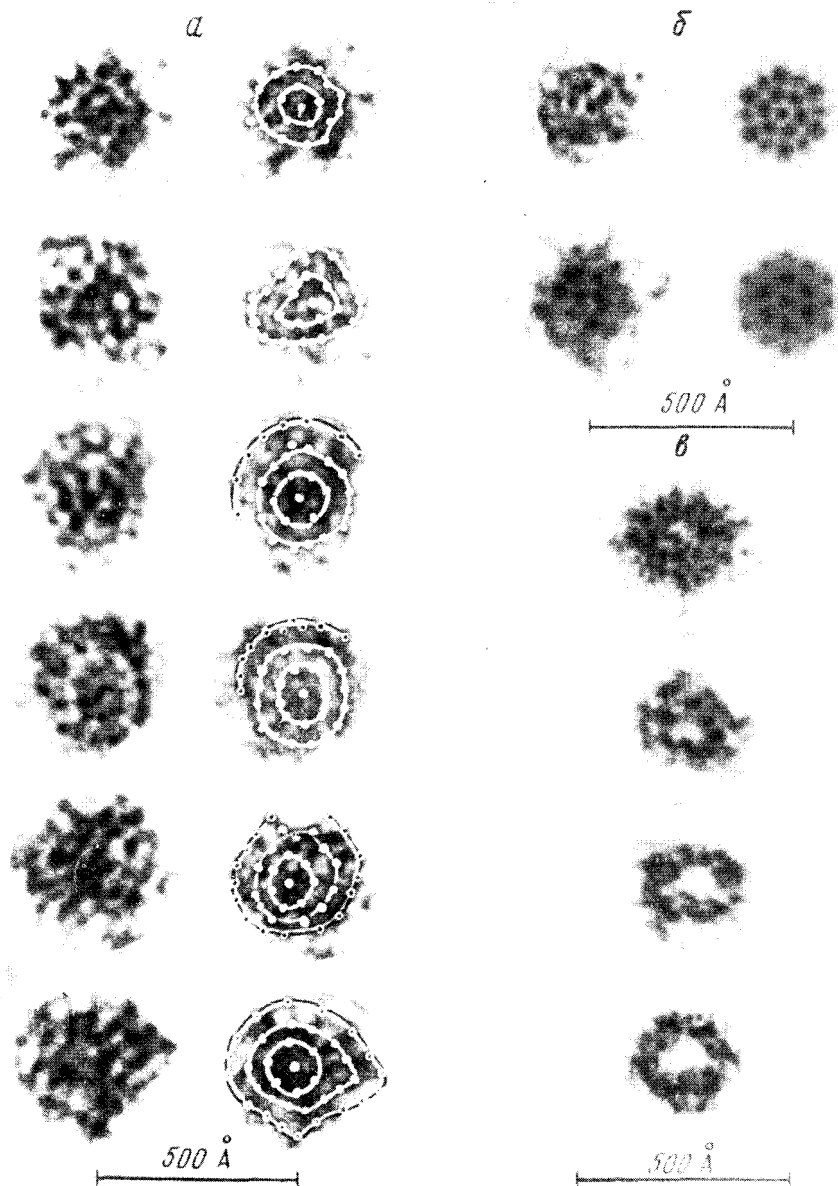


Рис. 1. Субъединичная структура толстых протофибрилл мышц домового сверчка. *a* — детали структуры варьируют, на продублированных микрофотографиях протофибрилл (правый ряд) промаркированы субъединицы и обозначены кольца; *б* — микрофотографии протофибрилл, отпечатанные обычным способом (слева) и путем шестикратного экспонирования с вращением на 60° (справа); *в* — разные варианты субъединичной структуры «полых» протофибрилл. Фиксация: 2,5% глутаральдегид + 1% OsO_4 ; заливка в эпон; контрастирование: 1% фосфорно-вольфрамовая кислота в 100% спирте при обезвоживании ткани, уранилацетат + цитрат свинца на срезах

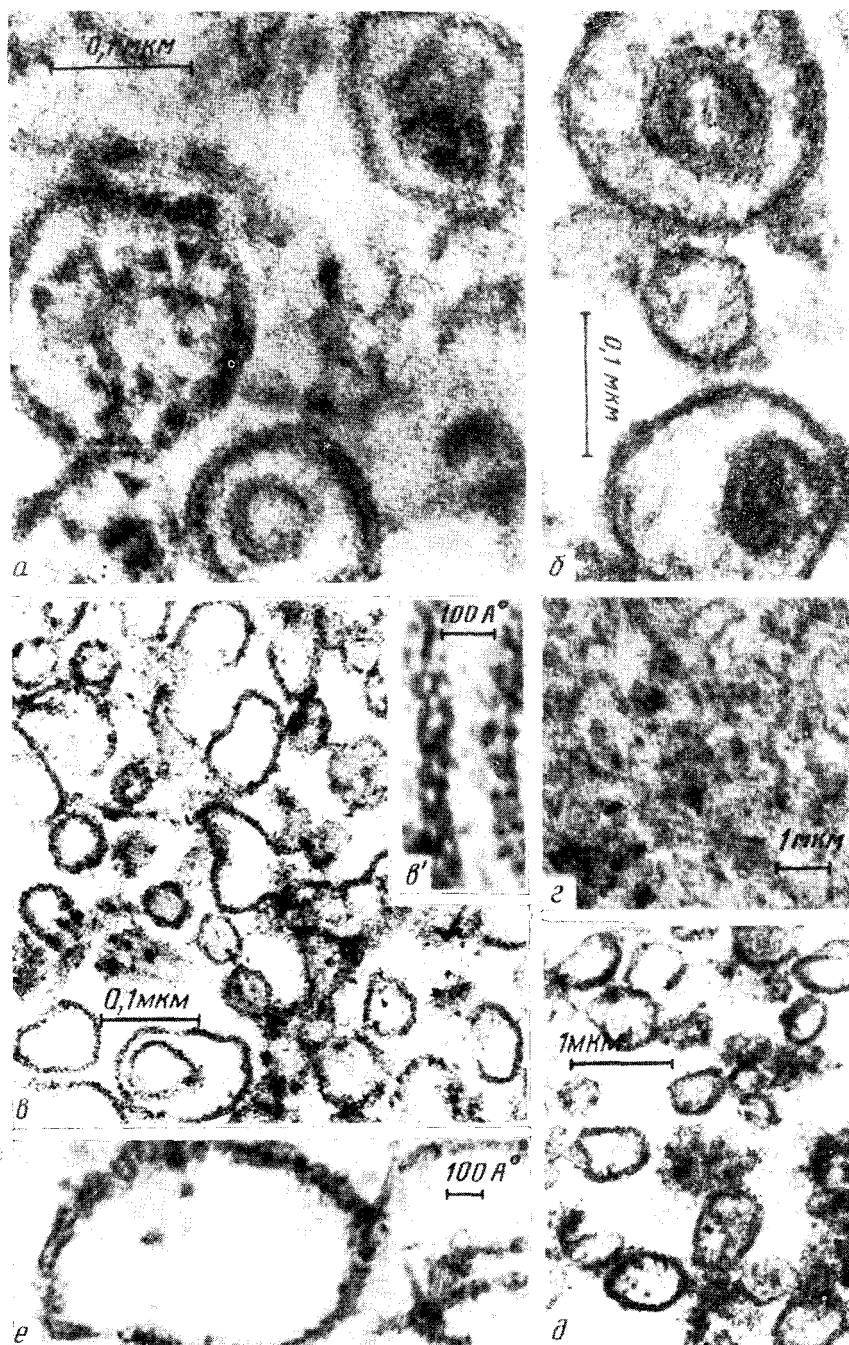


Рис. 2. *а, б* — поперечные срезы пузырьков «теней» микросомной фракции печени крысы после фиксации только глутаральдегидом (*а*) и после фиксации глутаральдегидом с дофиксацией четырехокисью осмия (*б*). *в, в'* — поперечное сечение мембран, реконструирующихся при удалении детергента диализом, фиксированных глутаральдегидом и четырехокисью осмия. *з* — суспензия мембран, реконструированных диализом детергента без добавок и в присутствии 10% альбумина или ПВН. Фиксация одним глутаральдегидом. Мембранные пузырьки полностью разрушены. *д, е* — сечение мембранных пузырьков, реконструированных в присутствии 10% альбумина или ПВН и фиксированных глутаральдегидом и четырехокисью осмия

того участка протофибриллы, который содержит только L-меромиозин). Существование периферийного кольца сокращает расстояние между тонкими и толстыми протофибриллами, что облегчает понимание путей их взаимодействия. Наблюдаемые нами картины расположения субъединиц в поперечных сечениях протофибрилл согласуются со схемами, созданными с привлечением электронно-микроскопических данных ⁽³⁾. В соответствии с моделью Пепса ⁽²⁾, толстая протофибрилла кролика, средний диаметр которой равен 140 Å, состоит из 12 линейных агрегатов миозиновых молекул. L-меромиозиновые участки молекул на поперечном срезе выявляются в виде 12 субъединиц, располагающихся по схеме 3+9. H-меромиозиновые участки молекул должны располагаться более периферийно в виде 6 менее четко видимых субъединиц. Предполагается, что толстые протофибриллы кролика целиком состоят из миозина и что каждая субъединица представляет одну молекулу, хотя возможность агрегирования молекул не исключена. В соответствии с обобщенной моделью Сквайра ^(6, 7), поперечное сечение протофибриллы должно включать значительно большее количество молекул. При этом помимо миозина, образующего на поверхности протофибриллы слой постоянной толщины, имеется немиеозиновый сердечник. Существенное количественное несоответствие между моделью Сквайра и данными электронной микроскопии не представляется возможным объяснить, даже если предположить, что субъединицы представляют собой агрегаты молекул миозина: учитывая размеры субъединиц, трудно допустить, что они состоят более, чем из двух молекул. Вместе с тем, нам кажется возможным привлечь представления Сквайра о существовании немиеозинового сердечника в протофибрилле для объяснения выявленной неоднородности субъединиц центрального и внешнего колец.

В свете изложенного весьма полезным для решения вопроса об организации толстых протофибрилл представляется проведение электронно-микроскопических исследований, дополняемых биохимическими данными о качественном и количественном белковом составе изучаемых протофибрилл.

Институт биологической физики
Академии наук СССР
Пущино-на-Оке

Поступило
25 II 1975

Институт эволюционной морфологии
и экологии животных им. А. Н. Северцова
Академии наук СССР
Москва

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ H. E. Huxley, J. Mol. Biol., v. 7, № 3, 281 (1963). ² F. A. Pepe, J. Mol. Biol., v. 27, № 2, 203 (1957). ³ F. A. Pepe, B. Drucker, J. Cell Biol., v. 52, № 2, 255 (1972). ⁴ F. A. Pepe, Cold Spring Harbor Symp. on Quant. Biol., v. 37, 97 (1972). ⁵ R. Markham, S. Fray, G. H. Hills, Virology, v. 20, № 1, 88 (1963). ⁶ J. M. Squire, Nature (London), v. 233, № 5320, 457 (1974). ⁷ J. M. Squire, J. Mol. Biol., v. 77, № 2, 291 (1973). ⁸ G. W. De Villafrance, V. E. Leitner, J. Gen. Physiol., v. 50, № 40, 2495 (1967). ⁹ B. Bullard, B. Luke, L. Winkelman, J. Mol. Biol., v. 75, № 2, 359 (1973).