

# AZ IZOMBIOKÉMIA ÚJABB EREDMÉNYEI

BIRÓ ENDRE

ELTE Származás és Örökléstani Intézet  
Biokémiai részleg

Az alábbi összefoglalóban az izom biokémiai kutatásának legújabb eredményeit fogjuk ismertetni. Az ismertetés szükségszerűen nem törekszik az izommal kapcsolatos összes biokémiai jellegű kutatások átfogására. Azokat a kutatásokat fogjuk elsősorban szem előtt tartani, amelyek az izom jellemző fehérjéinek részletes megismerése révén az izomműködés alapját képező (és végső soron a fehérjestruktúra valamilyen megváltozásán alapuló) elemi folyamatok felderítésére irányulnak. Így lényeges tárgyalás nélkül hagyunk olyan fontos területeket, mint az izomszövet oxidatív folyamatainak újabban feltárt részletei, az izom elektrolitjainak, kationeloszlásának problémái, az izomingerület biokémiai problémái stb. A kiemelt területen sem törekszünk a (még ilyen szűkítés mellett is) hatalmas anyagot képviselő irodalom teljes ismertetésére. Ennek oka az, hogy felfogásunk szerint igen nagy számmal jelennek meg olyan, többé kevésbé mellékes részletekre vonatkozó munkák, amelyek nagyon kevés tényleges előrehaladást jelentenek, kevésbé változtatott feltételek melletti ismétlései régebbi munkáknak. Az irodalom ezen egészségtelen szaporodásának egyik oka az, hogy olyan bonyolult rendszerekkel van dolgunk, amelyeknél a vizsgálat szempontjából változtatható feltételek száma szinte korlátlan. Így a munkák értékének megítélésénél igen éles válogatásra van szükség. Ennek az értékelésnek a szempontja kettős: egyrészt azok a munkák látszanak jelentősnek, amelyek előreviszik az izomkontrakcióban szerepet játszó fehérjék egzakt, konkrét karakterizálását, másrészt valamilyen részletadat annál jelentősebbnek látszik, minél közvetlenebbül hozható kapcsolatba az élő működő izom alapvető fiziológiai és biofizikai sajátásaival. Az alábbiakban ezen kettős szempont szerint válogatva ismertetjük az utóbbi néhány év legfontosabbnak tűnő eredményeit, eleve számolva avval, hogy válogatásunkba szükségszerűen bizonyos egyoldalúság keveredik.

## a) Az izom funkcionális fehérjéi

A harántcsíkolt emlős izom kontraktilis eleme, a miofibrillum túlnyomórészt két fehérje, az aktin és miozin komplexeként fogható fel. A tisztított



aktomiozin (AM a továbbiakban) különböző szinerézis jelenségei, az aktomiozin szál ATP hatására jól mérhető erő kifejtéssel járó kontrakciója, arra vezette a kutatókat, hogy az izom kontraktilis elemét pusztán mint aktomiozin komplexet tekintsék. Az újabb néhány évben ezt az általánosítást széles anyagon ellenőrizték és kiegészítették. Ezek a vizsgálatok egyrészt igazolták, hogy minden izom kontraktilis struktúreleme valóban egy olyan fehérjekomplexum, amelyet joggal aktomiozinnak nevezhetünk. Ugyanakkor azonban finomabb különbségek derültek ki a különböző eredetű izmok között.

A harántcsíkolt izom után különböző eredetű sima izmokon is igazolódott, hogy a szerkezetet kétféle fehérjefonal, egy vékonyabb — ami a harántcsíkolt izomban találtak alapján aktinnak tekinthető — és egy vastagabb, miozinfonal építi fel. A harántcsíkolt izomban ezek a fonalak ismert módon helyezkednek el [1]. A sima izom felépítése ettől eltér [2], de alapvető minden esetben a kétféle fonalból épülő szerkezet. Ugyanakkor minden izomféleségben található egy nagy ionerősségnél oldódó, ATP-áz aktivitással rendelkező fehérje, miozin és egy a miozinnal komplexet képező, másik fehérje az aktin.

A fehérjék lokalizációja azonban, úgy látszik, harántcsíkolt izomban sem egységesen olyan, mint az emlős izmon kapott eredmények [1] alapján várnánk. Így pl. DE VILLAFRANCA [3] szerint a *Limulus* izomban az A-csík teltségét okozó fehérje nem miozin, mint a magasabbrendű izmokban, hanem aktomiozin. Minthogy ízeltlábú izomból még senkinek sem sikerült miozint aktin nélkül kivonni, feltételezi, hogy általában az ízeltlábúaknál az aktomiozin alkotja az A-csíkot és az I-csíkban látható fonalak valamilyen más fehérjéből állanak.

Az utóbbi időben sok vizsgálat foglalkozik a tropomiozinnal. A tropomiozin (TM) a miofibrillum alkatrésze. Lokalizációja, és az ionizálható oldallánc-csoportok nagy száma alapján a funkcionális struktúrfehérjék közé számíthatjuk, azonban a legtöbbet tanulmányozott emlős izomban a struktúrfehérjéknek csak néhány százalékat teszi ki, továbbá semmiféle enzimaktivitással nem rendelkezik, s így sokáig nem lehetett semmiféle szerepet tulajdonítani neki a kontraktilis modellek funkciójában. Újabban a helyzet némileg változott, amennyiben kiderült, hogy kagylók és más puhatestűek izmában sokkal nagyobb mennyiségben fordul elő. A gerinctelen, főleg kagylóizomban kétféle TM található, amit egyes szerzők TM *a*, ill. *b*-nek neveznek [4, 5]. Ezek közül a TM *b* igen hasonló a gerinces TM-hoz, a másik komponens azonosnak bizonyult a strukturális vizsgálatokból régóta ismert paramiozinnal, amely kagylók záróizmában a fehérjének sokszor 30%-át is kiteszi. Egyes szerzők a kagylóizmok nagy TM-tartalmát a kagylók tónusos záró tevékenységével hozzák kapcsolatba. Így pl. RUEGG [6] kimutatja, hogy kagylók záróizmából készült glicerines rostok kétfélék. Az egyikben a TM : AM arány 4 : 1, a másikban 1 : 1. A nagy TM-tartalmú szálak ATP hatására történő kontrakciója esetében a hossz-feszültség diagram hatalmas hiszterézist mutat: az ATP jelenlétében



megrövidülni engedett szál, ha (továbbra is ATP jelenlétében) ismét nyújtjuk, sokkal nagyobb feszültségeket fejt ki azonos hosszban. A kis TM-tartalmú szálak ugyanezt nem mutatják. A kagyló-TM köti az ATP-t és a TM-ből készült szálakat az ATP nyújthatóbbá teszi, képlékenyíti.

Sok tanulmány foglalkozik újabban az ún. extraprotein (EP) kérdésével. Ha ugyanis a glicerinnel extrahált, sőt a vizes közegben készült miofibrillumokat feloldjuk, az oldatba ment fehérje nem csapódik ki teljes egészében olyan feltételek között, amelyek az aktomiozint kicsapják. Más szóval a miozin kicsapása után oldatban maradó „extraprotein” olyan fehérjéből áll, amelyek oldhatók a miofibrillum előállításra használt közegben és azért oldódnak fel csak a miozinstruktúra teljes feloldásával kapcsolatban, mert a struktúrfehérjével valamiféle komplexet képeztek. Újabban különösen IVANOV [7], továbbá PERRY és mt. [8] intenzív tanulmányozás alá vették ezt az EP-t. Különösen érdekes IVANOV és mt. vizsgálata [7], akik megállapítják, hogy különböző funkciójú izmokban az EP mennyisége különböző, a tónusos sima izmokban különösen nagy az EP mennyisége. Ha ehhez hozzávesszük, hogy az EP fő frakciója a legkülönbözőbb szerzők szerint TM (bár a TM részvételének arányáról az adatok különböznek), ez ismét a TM szerepének fontosságát húzza alá.

Ezeknek az EP-vel kapcsolatos vizsgálatoknak az értékelését meglehetősen megnehezíti, hogy a hosszas izolálási procedurák miatt nem zárhatjuk ki denaturált termékek jelenlétét, mint ahogy PERRY [8] jelentős mennyiségben talál egy fehérjefrakciót az EP-ben, amely minden valószínűség szerint denaturált aktin.

Igen érdekes és alapos vizsgálatokat folytatott NEEDHAM és mt. [9] az uterus struktúrfehérjeivel. Legérdekesebb eredményük, hogy az uterusból előállított aktomiozin ATP-áz aktivitása igen alacsony az emlős aktomiozinéhoz képest, azonban enyhe tripszines emésztésre, amely egy az akto-H-meromiozinhoz hasonló fehérjéhez vezet (ami a molekulasúlyt és más jellemzőket illeti) hatalmasan megnő az ATP-áz aktivitás, 7—8-szorosra és eléri a normális akto-H-meromiozint. Ez a csekély ATP-áz aktivitás nem preparálással kapcsolatos inaktiválódás következménye, mert kíméletesen izolált uterus miofibrillumok is megfelelően alacsony aktivitást mutatnak. Ez a vizsgálat is mutatja, hogy az aktomiozin jelenléte teljesen általánosítható alapja minden izom működésének, a részletek azonban sokkal bonyolultabbak, mint eleinte feltételezték és érdemes a különbségek pontos tisztázásával fáradozni.

Sok érdekes tanulmány foglalkozott a miozin és részben más struktúrfehérjék pontos szerkezetének, felépítésének megismerésével. Ismeretes, hogy különböző szerzőknek sikerült enyhe fehérjebontó behatásokra a miozin-molekulát fragmentálni, vagyis két különböző, az első vizsgálatok szerint egységes fehérjeféleségre, az L és H-meromiozinre kettébontani. A H-meromiozin tartalmazza a miozin összes SH-csoportjait és ez mutatja a teljes ATP-áz aktivi-



tást, az L-meromiozin kölesönzi a miozinnak sajátságos oldékonysági viszonyait és VARGA és mt. vizsgálatai szerint ebben található a miozin kolineszteráz aktivitása teljes egészében. Kezdetben úgy látszott, hogy arról van szó, hogy néhány specifikus peptidkötés tartja összes a miozin két alkotóelemét. (L. összefoglalólag: [10]).

Újabb vizsgálatok több oldalról kétségbevonják, hogy a meromiozinok egységesek és hogy olyan értelemben alegységei a miozinnak, mint ahogy azt kezdetben feltételezték. Különösen HARRINGTON és MIHÁLYI [11] vizsgálatai vezettek igen világos, mélyreható eredményekre a kérdéssel kapcsolatban. A tripszinnel való emésztés kinetikáját végig követték, négy különböző módszerrel egyidejűleg mérve a hatást (pH-stat, forgatóképesség, viszkozitás, ultracentrifuga). A bontás kinetikáját különböző hőmérsékleten elemezték. Megállapították, hogy a reakció két különböző sebességgel történő bontás összehatásaként írható le. A gyors kezdeti bontás csak néhány polipeptid kötésre terjed ki, viszont ez eredményezi a molekula szétesését. Kezdetől fogva folyik a lassabb lefolyású bontás is, amely azonban nem eredményez fragmentációt. Végeredményben vizsgálataikból az a kép alakul ki, hogy a miozin molekulája néhány polipeptid láncból áll, melyek teljes hosszában végigfutnak a molekulán. A polipeptidlánc-kötegeknek vannak jól rendezett részei, alfa-spirál struktúrában, ezeket a tripszin csak lassan bontja, a specifikitásának megfelelő peptidkötéseknél, míg vannak rendezetlen részek, amelyeket a tripszin gyorsan meg tud támadni. Ha ezen a szakaszon mindegyik polipeptid láncban egy-egy kötés elhasad, a molekula szétesik. A hőmérséklet változásával a rendezett és rendezetlen szakaszok aránya némileg változik, ami a bontás kinetikájából jól kiolvasható. Jól egyezik MIHÁLYI és HARRINGTON eredménye avval, hogy mint SZENT-GYÖRGYI A. és COHEN megállapították, az optikai forgatóképesség diszperziója alapján, a miozin szerkezetében az alfa spirálisba rendezett polipeptid rész kb. a molekula felét teszi csak ki. Maga az a tény, hogy a miozinmolekulában vannak egyes szakaszok, amelyek tripszin segítségével elbonthatók és a molekula feldarabolásához vezetnek, még nem bizonyítja, hogy a kapott részek szerkezeti-kémiai értelemben határozott molekulák, mint az MIHÁLYI és HARRINGTON idézett vizsgálataiból kiviláglik. Így különösen figyelemre méltó LAKI elmélete, aki felteszi, hogy a miozin voltaképpen tropomiozinnal és aktinnal épülne fel [12, 13]. LAKI elképzelésének kiindulását az képezte, hogy az általa végzett igen pontos aminosavanalízisek szerint a miozin aminosav összetétele meglepően egyezik egy aktin és egy TM-molekula aminosavösszetételének összegével. További támpontot nyert ez az elképzelés VELICK vizsgálataiból [14]. VELICK megállapította, hogy C<sup>14</sup>-gyel jelzett fenilalanin a meromiozinokba különböző sebességgel épül be, vagyis hogy a miozin molekula két fele különböző sebességgel szintetizálódik és nyilván később kapcsolódik össze. VELICK adataiban feltűnő, hogy a H-meromiozin és az aktin féléletideje egyrésztől (80, ill. 67 nap) és a TM és L-meromiozin féléletideje másrésztől (27, ill.



20 nap) igen közel esik egymáshoz. Igen érdekesek LAKI és mt. [15] immunológiai eszközökkel végzett vizsgálatai. Ezek szerint a miozin, az L-meromiozin és a csak gerinctelen izmokból izolálható TM *a* keresztreakciókat adnak egymással. Úgy látszik tehát, hogy az emlős miozin L-meromiozin szakaszában olyan specifikus struktúrák vannak, mint amilyenek a gerinctelen izmokban külön fehérjéhez a TM *a*-hoz vannak kötve. A TM *b*, amely egyaránt előfordul gerinces és gerinctelen izomban, nem reagál immunológiailag a miozinnal. A nem egységes, emlős miozinból kapott L-meromiozin túlnyomó része egy kristályosítható fehérje, amely sok sajátságában igen hasonló a TM *a*-hoz.

**b) A funkcionális fehérjék kölcsönhatása ATP-vel  
mint az izomműködés modellje**

Az izomfehérjék és az ATP (és rokon vegyületek) kölcsönhatását vizsgáló kutatások értékelése szempontjából döntő jelentősége van azoknak a vizsgálatoknak, amelyeket az utóbbi években túlélő izmon végeztek az „ATP-teória” ellenőrzésére.

A SZENT-GYÖRGYI, ill. ENGELHARDT által elindított aktomiozin-ATP modellkutatás hallgatólagos feltevése, amely később kellő bizonyítékok nélkül igen általánosan elterjedt felfogássá lett, az volt, hogy az ATP-nek az aktomiozin által történő elbontásakor felszabaduló energia fedezi az izomkontrakció energiaszükségletét. Ennek a koncepciónak nehézségeire kezdettől fogva ismételten rámutatott ERNST [16]. 1953 óta különböző szerzők [16 a—21] túlélő izom nukleotida összetételének analízise révén vizsgálat tárgyává tették a kérdést és az eredmények többsége azt mutatja, hogy a túlélő izom bizonyos feltételek között képes munkát végezni anélkül, hogy az energetikai számítások alapján szükségesnek tartott ATP mennyiség elbomlana. Az első néhány rágás alatt csak a számítottnál sokkal kisebb mértékű ATP-bomlást sikerült kimutatni [20, 21]. Radioaktív foszfát alkalmazásával nem sikerült kimutatni az ATP terminális foszfátján a jelölődés fokozódását aktivitáskor [18]. Ez utóbbi kísérletek bizonyító ereje ugyan kritizálható, mert mint régebbi hasonló kísérletek esetében, nem zárható ki, hogy a nyugalmi izomban kapott jelöltség azonos a sejten belüli anorganikus foszfát jelöltségével, s így természetesen a megújulás során nem fokozódhat. TICZYI kísérletei [22] azonban sokkal bonyolultabbnak mutatják a kérdést. Ennek a nehézségnek a megkerülésére, ami a foszfát igen lassú penetrálásának következménye, FLECKENSTEIN újabban  $O^{18}$ -at használ az ATP megújulási sebességének vizsgálatára, mivel a  $H_2O^{18}$  sok nagyságrenddel gyorsabban penetrál mint a foszfát. Egyelőre azonban még csak nyugvó izomról közöl adatokat, a munkavégzés hatását a jelölődésre még nem tanulmányozta [23]. Ezek az ATP energiaszolgáltató szerepét cáfoló kísérletek, bár különböző ellenvetések ezek ellen is felvethetők (mint pl. az, hogy az ATP bomlás szabad-energia értékének kiszámításánál a koncentrációtól függő tagot



nem veszik tekintetbe, vagy az, hogy a restitúciós folyamatok lehetőségével nem számolnak kellőleg), teljes határozottsággal mutatják, hogy az „ATP-teória” eredeti merev formájában nem tartható fenn. Ennek ellenére az izomfunkció megértése szempontjából alapvető jelentősége van az aktomiozin rendszer és ATP közötti kölcsönhatás mélyebb megismerésének. Kétségtelen ugyanis, hogy a kontrakció alapja a főleg aktomiozinból álló miofibrillumstruktúrájának valamilyen megváltozása, továbbá kétségtelen, hogy mint minden szövetben, az izomban is a táplálék elégeésekor felszabaduló energia hasznosítható része az ATP és néhány vele szoros kapcsolatban levő anyag szabadenergia tartalma formájában jelentkezik. Biokémiai szempontból igen kevésbé kielégítő a tudásunk éppen ennek az aktomiozin és ATP közötti kölcsönhatásnak a mivoltáról. A morfológiai kutatások által újabban felvetett „*sliding filament*” teória [1], vagy az ERNST iskola adatai a miozinnak a funkcióval kapcsolatos kristályosodásáról [24, 25, 26], vagy a különböző funkcionális fehérjeszerkezetek töltésváltozásaira alapozott teóriák [l. pl. 27, 27a] további konkretizálást igényelnek a kérdéses jelenségekben szereplő fehérjék szerkezeti, fizikai-kémiai és enzimológiai sajátosságai alapján.

Az aktomiozin modellrendszereknek az ATP-vel való kölcsönhatását vizsgáló munkák egy jelentős csoportja a modellrendszerek relaxálása körül forog. Ismeretes, hogy különböző aktomiozin modellek, ATP hatására kontrahálódnak. Az ATP nélküli modellek azonban nem tekinthetők a relaxált izommal analógnak. Kitűnik ez abból, hogy ha pl. egy izometriásan kontraháltatott rostot ATP nélküli fürdőbe viszünk át, a rost nem relaxál, feszültsége megmarad. Az ATP nélküli rendszer inkább a rigoros izomnak felel meg. Igen jól megmutatkozik ez pl. a glicerines rost nyújtási ellenállásában, ami igen nagy, nagyságrendekkel nagyobb, mint az élő, nyugvó izomé, vagy az ATP hatására kontraháló modellé [28]. A modellrendszereken akkor sikerült először a relációval némileg analóg állapotot elérni, mikor PORTZEHL egy ATP-vel kontraháltatott rosthöz ATP-áz mérgeket adott [28]. Ilyen esetben a rost relaxál, illetve egy ilyen közegbe vitt rost nem kontrahál, de nyújtási ellenállása mégis leszáll arra az alacsony értékre, ami az élő nyugvó izom nyújtási ellenállásának felel meg nagyságrendileg. Ezekből a vizsgálatokból WEBER és iskolája azt a képet alakította ki, hogy az ATP hatása a modellekre kettős. Egy képlékenyítő hatás, amelyről ERNST már korábban szólt [28a] és amely a rostot a nyugvó izomhoz hasonló állapotba hozza (vagyis nyújtási ellenállását lecsökkenti) és a kontrakciót kiváltó hatás. Nagyon jól alátámasztja ezt a felfogást, hogy egyes anyagok, mint pl. pirofoszfát képlékenyítő hatással rendelkeznek, kontraháló hatással viszont nem. Ezen analógia alapján lehetett arra gondolni, hogy az élő izomban is valamilyen gátlás az, ami megakadályozza azt, hogy a jelenlevő aktomiozin és ATP hasson egymásra, vagyis lehetővé teszi, hogy az izom relaxálva maradjon. Valóban sikerült is MARSHnak az izomból egy olyan kivonatot készítenie [29], amely különböző modellrendszerek kontrakció-



ját ATP jelenlétében megakadályozza [30] és ugyanakkor az ATP-áz aktivitást is gátolja [29, 30]. Kérdéses mennyire támasztják alá ezek a tények a kontrakció ATP-teóriáját, fel kell hívni azonban a figyelmet arra, hogy az ATP-teóriától legtávolabb álló elméleteknek is számot kell adniuk arról, hogy hogyan lehet az izom aktomiozin struktúrája nagy mennyiségű ATP jelenlétében relaxált állapotban. Ez a probléma fennállna még akkor is, ha a miofibrillumok összehúzódása ATP hatására semmiféle kapcsolatba nem volna hozható az izom fiziológiás működésével, amint ezt először ENGELHARDT demonstrította ki, 1946-ban [31].

Azok az anyagok, amelyek a modellrendszerek ATP-áz aktivitását gátolják, ATP jelenlétében relaxációt okoznak. Ilyenek az izomból kivont, egyelőre tisztázatlan természetű, ún. MARSH-f. faktor [29] mellett egy egész sor enzim-méreg, továbbá egyes polielektrolitek [47].

Megemlítendő továbbá VARGA és mt. azon eredménye [32], hogy anti-miozin, ill. anti-aktin szérum gátolja a glicerines rost kontrakcióját.

Mindezek a vizsgálatok összeegyeztethetők azzal a képpel, amit még SZENT-GYÖRGYINEK a modellrendszerek felfedezése idején felvetett elképzeléséből kiindulva, a későbbi saját és idegen enzimatis vizsgálatok alapján a kandidátusi disszertációjában is képviseltem [33]. Eszerint az ATP nélküli modellrendszerekben az aktin és miozin aktomiozinná egyesül. ATP hatására ez a kötés meg bomlik. Ez eredményezi a szálak nagyobb nyújthatóságát. Ugyanakkor a miozin és aktin között megindul egy kölcsönhatás, amelynek a természetét nem ismerjük, ami aktív erő kifejtésre (ill. rövidülésre) vezet, s amellyel egyidejűleg intenzív ATP bomlás indul meg. Ennek a kölcsönhatásnak feltétele a miozin bizonyos aktív csoportjainak épsége, amelyek gátlása az erő kifejtést és az ATP-bontást megszünteti (ATP-áz mérgek hatása). Hogy maga az ATP-bontás feltétele-e a folyamatnak, vagy csak a miozin olyan csoportjainak az épsége szükséges hozzá, amelyek egyidejűleg az ATP-bontást is létrehozzák, ez teljes szigorúsággal nincs eldöntve. A folyamatnak alapja egy bizonyos kölcsönhatás a miozin és az aktin között, amelyet pl. egyes polielektrolitek képesek akár az aktin, akár a miozin felületének blokkolásával meggátolni [47]. Ez a gátlás azonban csak akkor jöhet létre, ha ATP jelenléte miatt az aktin és miozin közötti kötések ciklikusan felbomlanak és újraképződnek.

A modellek relaxációjával foglalkozó vizsgálatok sem derítenek fényt arra a legfontosabb kérdésre, hogy voltaképpen mi történik az aktin és miozin ATP és Mg jelenlétében történő kölcsönhatásakor. Éppen ezért különösképpen érdekes minden vizsgálat, ami ezt a kérdést feszegeti. STRAUBNAK az aktinhoz kötött ATP, ill. ADP felfedezésekor felvetett teóriájára [34] támaszkodva számos kutató folytatott vizsgálatokat azon elképzelés alapján, hogy a kötött nukleotida valamilyen módon részt vesz az aktin-miozin-ATP kölcsönhatásban. Mi magunk is ezt a feltevést követtük és alátámasztására sok eredmény-



telen munkát végeztünk. A polimerizált aktinnal vagy izolált miofibrillumokkal sem nekünk [35, 36], sem PERRY igen alapos kísérleteinek [37] nem sikerült kimutatni, hogy a miofibrillum kötött nukleotidája szabad nagyenergiájú vegyületekkel, pl. (kreatinfoszfoferáz segítségével) kreatin-foszfáttal reagálna. Radioaktív ATP-t alkalmazó kísérleteinkben [38], a kötött nukleotida esetleges kicserélődését szabad ATP-vel kizártuk. Nem zárják ki azonban ezek a kísérletek azt a lehetőséget, hogy a kötött ADP ciklikusan foszforilálódik, illetőleg defoszforilálódik az aktin-miozin-ATP kölcsönhatás során. Ennek ellenére a negatív kísérletek sorozata alapján hajlanánk ennek a feltevésnek az elejtésére, ha időközben nem jelentek volna meg STROHMAN igen érdekes kísérletei [39], amelyek a kötött nukleotida szerepének lehetőségét újra élesen felvetik. STROHMAN szerint amikor az aktin dialízissel való depolimerizációját ATP jelenléte által reverzibilissé tesszük, nem az történik, amint azt STRAUB eredetileg feltételezte, hogy a polimerizált aktin ADP-je ATP-re cserélődik ki, hanem transzfoszforiláció történik, a szabad ATP foszforilálja a kötött ADP-t. Ugyanez elérhető, ha a dialízis során egyáltalán nincs jelen ATP, hanem kreatin-foszfát és kreatinfoszfoferáz van a rendszerben. Végül pedig kimutatta STROHMAN, hogy a polimerizálatlan aktin mint ilyen, kötődik H-meromiozinhoz és ez a G-aktin-H-meromiozin komplex krestinfoszfoferáz jelenlétében folyamatosan szabadít fel anorganikus foszfátot krestinfoszfátból. Vagyis globuláris aktint tartalmazó aktomiozin esetén megkapta a kötött nukleotidának azt a reakcióját (ciklikus foszforiláció, defoszforiláció), amit mi is, Perry is hiába kerestünk, *F-aktint* tartalmazó miofibrillumok esetében. Így amennyiben feltételezhetjük, hogy az aktin globuláris formája előfordul az *in vivo* izomban, fel kell tételeznünk, hogy a kötött nukleotida fontos szerepet játszik az aktin-miozin-ATP reakcióban.\*

A modellkontrakciókban mindenütt a Mg-mal aktivált AM—ATP-áz játszik szerepet. A Ca-mal aktomiozinon észlelt nagy aktivitás, ami megegyezik a miozinnak magának Ca-mal mért aktivitásával, más folyamat mint a Mg—AM ATP-bontása. Hogy valóban gyökeresen más folyamatról van szó Ca és Mg jelenlétében, azt ragyogóan igazolja KOSHLAND egy nemrégiben megjelent munkája [40]. Eszerint, ha miozin vagy aktomiozin ATP-t hasít  $H_2O^{18}$  tartalmú közegben, Mg jelenlétében a keletkező foszforsavban jelentős  $O^{18}$ -felvétel mutatható ki (a várható egy O atom/molekula fölött), míg ha Ca jelenlétében

\* Míg ezen cikk sajtó alatt volt, megjelent GERGELY és mt. munkája [48] amely a Strohman-féle vizsgálatok egyes eredményeit cáfolni látszik. *In vivo* végzett kísérleteik szerint a miofibrillum kötött nukleotidájának foszfátja (amely gyakorlatilag ADP-foszfát) nem jelölődik az izom működtetése során. Ezek a kísérletek nem zárják ki azt a mechanizmust (ami fentebb említett saját kísérleteink szerint is fennmarad mint lehetőség), hogy a strukturkötött ADP ciklikusan foszforilálódik-defoszforilálódik. Ugyanezen időpontban jelent meg NODA és YAGI [49] egy munkája, amelyben kimutatják hogy *desoxikoláttal kezelt*, vagy *glicerinezett* izomból előállított miofibrillumok ADP-je képes foszfátot átvenni kreatinfoszfáttól, és az így keletkezett ATP-t elbontani, vagyis sikerült azt a kísérletet megvalósítanunk, ami PERRY szerint *közönséges mosott* miofibrillumokkal nem jön létre.



történik a hasítás, ez elmarad. Mivel sem az ATP, sem az anorganikus foszfát miozin nélkül nem vesz fel  $O^{18}$ -at és a hidrolízisnél maximálisan molekulánként egy O cserélődhet  $O^{18}$ -ra, fel kell tételezni, hogy a Mg jelenlétében folyó hasítás során képződik egy fehérje-foszfát intermedier, amely képes oxigénjét a víz oxigénjével kicserélni.

Ezen túlmenően roppant jelentősnek tartjuk KOSHLAND kísérleteit abból a szempontból, hogy először szolgáltat direkt bizonyítékot arra, hogy a modellek funkciójával kapcsolatos ATP-bontás nem egyszerű hidrolitikus folyamat, hanem valamilyen komplexebb jelenség, amelynek kapcsán egy fehérje-P intermedier képződik. Minthogy aktomiozin esetében az extra  $O^{18}$ -felvétel kisebb, mint miozin esetében, feltehető, hogy ez a miozin-P intermedier reagál az aktinnal, tehát a kicserélődésre *nem* vezető reakció gyorsabb lesz, s így kisebb a kicserélődés lehetősége.

### c) Perspektívák

Befejezésül ismét hivatkozunk arra, amit nem tudunk, illetve aminek a nemtudása legfájdalmasabb, éppen mert ugyanakkor megközelíthető közelben látszik lenni.

Nem tudunk gyakorlatilag semmit annak a részleteiről, hogy milyen természetű a kölcsönhatás az aktin és a miozin között, ATP nélküli modellekben, még kevésbé ATP jelenlétében. Semmit vagy csak olyan bizonytalan fehérjekémiai általánosságokat, amik semmiképpen nem kielégítőek. Éppen ezért új kutatási utak megnyitására van szükség, egyrészt a fehérjékről való tudásunk fejlődésének türelmesen a nyomában haladva, másrészt türelmetlenül elébe szaladva és olyan módszereket feszegetve, amelyekkel az általános fehérjekutatás is még csak most kezd ismerkedni, illetőleg esetleg még nem is ismer. Ebből a szemléletből kiindulva szeretnék még egy-két friss eredményt megemlíteni, előzetes közleményeket, amelyek nem eredményeikkel, hanem inkább újszerűségükkel hívják fel a figyelmet.

Az egyik GOODAL [41], illetőleg KAMINER [42] megállapítása, akik megállapítják, hogy tiszta nehézvízben,  $D_2O$ -ban, az izom kontrakciója lelassul, illetőleg hogy a békaszív működése normálisan fennmaradó akciós potenciál mellett megáll. Mindkét dolgot arra enged következtetni, hogy a  $D_2O$  nem az ingerületi folyamatot, hanem a kontraktilis apparátust befolyásolja.

A nehézvíz ilyen mélyreható befolyása a kontraktilis apparátusra fontos kiinduló pontja lehet lényegesen előreívő vizsgálatoknak. A nehézvíz hatása elvileg három lehetőség irányába mutat: befolyása alapulhat azon, hogy valamilyen disszociálható proton játszik szerepet a kontrakcióban, eredményezheti a hatást a fehérjestruktúra hidrogénhidainak befolyásolása, végül lehetséges, hogy a nehézvíz hatása az izomban levő kötött víz állapotának befolyásolása révén hathat, ha ugyan a háromféle lehetőség egyáltalán élesen elválaszt-



ható egymástól. Az izomban levő víz jelentőségét ERNST három évtizedre terjedő munkái állandóan előtérben tartották. [Vö. 24.] Az ERNST-iskola legutóbbi ezzel kapcsolatos munkái különösen élesen ráirányítják a figyelmet arra, hogy az izom állapotváltozásainak felderítése szempontjából döntő jelentősége lehet az izomban levő kötött víz változásainak [43, 44], amennyiben szélesebb alapon megismétlik és kiterjesztik ERNSTnek már 1925-ben tett azon megfigyelését [45], hogy az izom vízkötését az izom feszültsége befolyásolja. A kötött víz kérdésének fő nehézsége, hogy a gőztenzió mérésen és súlyeltolódásokon alapuló mérés technikák túl lassúak ahhoz, hogy a méréseket a funkció során történő változásokra kiterjeszthessük. Éppen ezért metodikai szempontból érdekesnek látszik egy nemrégiben megjelent előzetes közlemény [46], amely különböző működési fázisban megfagyasztott békaszív kötött víz tartalmát radiofrekvenciás hullámok elnyelése segítségével próbálja megállapítani. A cikk egyelőre nem vezetett semmi biztos konklúzióra, a mérési eredmények kiértékelésénél a szerző maga is igen óvatos, azért tartjuk csupán említésre érdemesnek, mert metodikai lehetőséget látunk benne arra, hogy a kötött víz kérdése a kontrakció folyamatára kiterjesztve is vizsgálható legyen.

## IRODALOM

1. HANSON, J. és HUXLEY, H. E.: Symp. Soc. Exptl. Biol. **9**, 228 (1955).
2. HANSON, J. és LOWY, J.: Nature **180**, 906 (1957; Nature **184**, 286 (1959).
3. DE VILLAFRANCA, G. V., SCHEINBLUM, T. S. és PHILPOTT, D. E.: Biochim. et Biophys. Acta **43**, 147 (1959).
4. KOMINZ, D. R., SAAD, F. és LAKI, K.: Nature **179**, 206 (1957).
5. BAILEY, K.: Biochim. et Biophys. Acta **24**, 612 (1957).
6. RUEGG, J. C.: Biochim. et Biophys. Acta **35**, 278 (1959).
7. IVANOV, I. I., MIROVICH, N. I., MOISSEIEVA, V. P., PARSHINA, R. J., TUHACHINSKY, S. E., YURIEV, V. A., ZAKHAROVA, Z. N. és ZINOVJEVA, I. P.: Acta Physiol. Hung. **16**, 7 (1959).
8. PERRY, S. V. és ZYDOWO, M.: Biochem. J. **71**, 220 (1959).
9. NEEDHAM, D. M. és WILLIAMS, J. M.: Biochem. J. **73**, (1959).
10. SZENT-GYÖRGYI, A. G.: Adv. in Enzymology **16**, 313 (1959).
11. MIHÁLYI, E. és HARRINGTON, W. F.: Biochem. et Biophys. Acta **36**, 447 (1959).
12. LAKI, K.: J. Cell. Comp. Physiol. **49** (suppl. 1.), 249 (1957)
13. SAAD, F., KOMINZ, D. R. és LAKI, K.: J. Biol. Chem. **234**, 551 (1959).
14. VELICK, S. F.: Biochem. et Biophys. Acta **20**, 28 (1956).
15. LAKI, K., HORVÁTH, B. és KLATZO, I.: Biochem. et Biophys. Acta **28**, 656 (1958).
16. ERNST, J.: Mét 1951. MTA V. Osztályközleményei **3**, 109 (1952); továbbá SZABOLCS, J.: Acta Physiol. Acad. Sci. Hung. **6**, Suppl. 68 (1954).
- 16 a FLECKENSTEIN, A.: Der Kalium-Natrium-Austausch als Energieprinzip in Muskel und Nerv. — Springer, Berlin 1955.
17. FLECKENSTEIN, A. és JANKE, J.: Pflügers Arch. Ges. Physiol. **228**, 177 (1953).
- 17 a FLECKENSTEIN, A., JANKE, J., DAVIES, R. E. és KREBS, H. A.: Nature **174**, 1081 (1954).
18. FLECKENSTEIN, A.: Arch. Exptl. Pathol. Pharmacol. **228**, 46 (1955).
19. MOMMAERTS, W. F. H. M.: Nature **174**, 1083 (1954).
20. CHANCE, B.: Nature **179**, 1236 (1957).
21. CHANCE, B. és JÖBSIS, F.: Nature **184**, 196 (1959).
22. TIGYI, J.: Acta Physiol. Ac. Sci. Hung. **16**, 87 (1959).
23. FLECKENSTEIN, A., GERLACH, E., JANKE, J. és MARMIER, M.: Naturwissenschaften **46**, 365 (1959).
24. ERNST, E.: Die Muskeltätigkeit. Ung. Akad. Wissenschaften, Budapest, 1959.
25. ERNST, E. és TIGYI, J.: Acta Phys. Hung. **2**, 234 (1952).



26. ERNST, E., BALOG, I., TIGYI, J. és SEBES, A.: *Acta Physiol. Hung.* **2**, 253 (1954).
27. ERNST, J.: *MTA V. Osztályközleményei* **2**, 1 (1950).
- 27 a MORALES, M. F., BOTTS, D. J., BLUM, J. J. és HILL, T. L.: *Physiol. Revs.* **35**, 475 (1955)
28. PORTZEHL, H.: *Z. Naturforschung* **7B**, 1 (1952).
- 28 a ERNST, J.: MÉT 1951. *MTA V. Osztályközleményei* **3**, 109 (1952).
29. MARSH, B. B.: *Biochim. et Biophys. Acta* **14**, 247 (1952).
30. HASSELBACH, W. és WEBER, H. H.: *Biochim. et Biophys. Acta* **11**, 160 (1953).
31. ENGELHARDT, V. A.: *Adv. in Enzymology* **6**, 147 (1946).
32. VARGA, E., KOVÁCS, T., KÖVÉR, A. és SZABOLCS, M.: Előadás az 1959. évi Biokémikus Vándorgyűlésen, Debrecenben.
33. BIRÓ, E.: Kandidátusi disszertáció, Budapest, 1954.
34. STRAUB, F. B. és FEUER, G.: *Biochim. et Biophys. Acta* **4**, 445 (1950).
35. BÁRÁNY, M. és BIRÓ, E.: *Kísérletes Orvostudomány* **2**, 242 (1950).
36. BIRÓ, N. A. és MÜHLRÁD, A.: *Acta Physiol. Hung.* — sajtó alatt.
37. CHAPPEL, J. B. és PERRY, S. V.: *Biochem. J.* **57**, 421 (1954).
38. BIRÓ, N. A. és MÜHLRÁD, A.: *Acta Physiol. Hung.* — sajtó alatt.
39. STROHMANN, R. C.: *Biochim. et Biophys. Acta* **32**, 436 (1959).
40. LEVY, H. M. és KOSHLAND, D. E.: *J. Biol. Chem.* **234**, 1102 (1959).
41. GOODALL, M. C.: *Nature* **182**, 677 (1958).
42. KAMINER, B.: *Nature* **185**, 173 (1960).
43. ERNST, E., TIGYI, J. és ZAHORCSEK, A.: *Acta Physiol. Hung.* **1**, 5 (1950).
44. ERNST, E., TIGYI, J. és NAGY, J.: *Acta Physiol. Hung.* **6**, 135 (1954).
45. ERNST, E.: *Arch. Ges. Physiol.* **213**, 131 (1925).
46. HOPKINS, A. L.: *Biochim. et Biophys. Acta* **37**, 148 (1960).
47. BÁRÁNY, M. és JAISLE, F.: *Biochem. et Biophys. Acta* **41**, 192 (1960). — BÁRÁNY, M. és BÁRÁNY, K.: *Biochem. et Biophys. Acta* **41**, 204 (1960).
48. GERGELY, J. et alii.: *J. Biol. Chem.* **235**, 1700, 1704, 1707 (1960).
49. YAGI, K. et NODA, L.: *Biochim. et Biophys. Acta* **43**, 249 (1960).