

# ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ

Том VII

№ 11

1965

УДК 668.317+678.01:53

## ИЗМЕНЕНИЕ КОНФОРМАЦИИ МОЛЕКУЛ ЖЕЛАТИНЫ ПРИ ПЛАВЛЕНИИ СТУДНЕЙ

*В. Н. Иэмайлова, В. А. Пчелин, Самир Абу Али*

В предыдущей работе [1] нами исследовалась зависимость температуры плавления студней желатины от концентрации и рН. Было показано, что студни плавятся при тем большей температуре, чем выше концентрация. Отклонение от изоэлектрического состояния в сторону больших и меньших значений рН приводило к уменьшению температуры плавления. Было высказано предположение, что в образовании студня желатины участвуют три типа связей. Большую роль играют заряженные группы, так как они определяют скорость образования студней. У 1—20% студней ответственными являются водородные связи, а для 30—55% студней большую роль играют, кроме того, и гидрофобные связи. Было также показано, что концентрированные студни плавятся при температурах, выше температуры полного перехода спираль — клубок, а менее концентрированные студни плавятся при температурах, ниже температуры полного перехода спираль — клубок.

В настоящее время имеется большое число работ, посвященных изучению конформационного состояния молекул желатины в растворах методом оптического вращения [2—16].

В работах [16] изучено конформационное превращение при изменении температуры и влияние добавления электролитов и неэлектролитов на превращение спираль — клубок для 0,1%-ного раствора желатины. Среднюю температуру перехода спираль — клубок брали как меру стабильности спиральной конформации. Однако студни эти авторы не исследовали.

Целью данной работы было изучение перехода спираль — клубок в растворах и студнях желатины и выяснение влияния процесса студнеобразования на переход спираль — клубок. В работе исследовано изменение конформации молекул желатины при нагревании студней, температура плавления которых ниже температуры полного перехода спираль — клубок. Например, 2%-ный студень разрушается уже при 25°, а переход от спиральной конформации к форме статического клубка осуществляется только при 30—35; 5%-ный студень плавится при 31°, а переход спираль — клубок осуществляется при той же самой температуре. Кроме того, изучено влияние рН студней на скорость перехода спираль — клубок.

Конформации полипептидных цепей в растворе определяли измерением удельного оптического вращения на поляриметре «Hilger» с точностью отсчета 0,01° при  $\lambda$  5850—5750 Å. Опыты проводили на желатине марки «Фото», которую очищали и приводили к изоэлектрическому состоянию методом Лёба. Растворы желатины готовили по следующей методике: павеску желатины помещали в мерную колбу, заливали половинным количеством воды и оставляли для набухания в холодильнике при 5° на 12 час. Затем колбочку с набухшей желатиной погружали в воду, нагретую до 60°, и взвешивали в ней до полного растворения желатины. После этого раствор охлаждали до комнатной температуры, добавляли воду до метки, на колбе и вновь

нагревали до 60°. Исследуемый раствор заливали в термостатированную кювету длиной 0,5 дм. Кювета имела в середине отверстие, в которое опускали конец термопары. При измерении удельного оптического вращения при плавлении студня температуру повышали со скоростью 1° за 10 мин.

Исследуемые растворы различной концентрации (0,5; 2 и 5%) и при различных pH (от 2 до 11) вначале исследовали при естественном охлаждении от 40 до 20° С; по мере охлаждения удельное оптическое вращение увеличивалось, как это было нами показано ранее [17]. Затем растворы студня охлаждали в холодильнике до 5°. Специальными опытами показа-

но, что изменения удельного оптического вращения практически оканчиваются после 4 суток хранения студней при этой температуре. Это связано с прекращением изменения конформаций молекул желатины и наибольшим переходом в спиральную форму. После установления максимального удельного оптического вращения кювету с желатиной медленно нагревали и определяли удельное оптическое вращение для всех концентраций и pH в зависимости от температуры. Типичная кривая для студня желатины представлена на рис. 1.

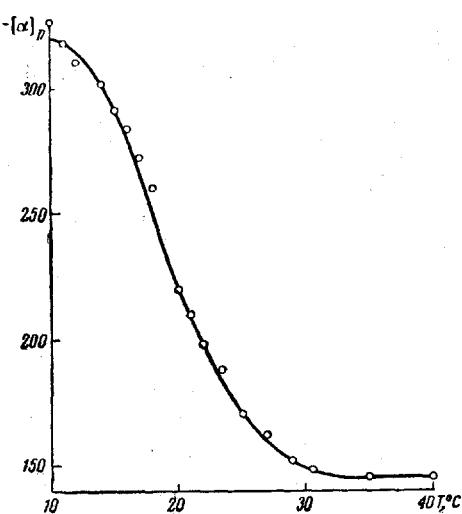
Видно, что с увеличением температуры удельное оптическое вращение уменьшается, что связано с разрушением спиральных конформаций и с постепенным переходом их в конформацию беспорядочного клубка. На этой кривой можно условно выделить три области: область постоянного

Рис. 1. Зависимость удельного оптического вращения 5%-ного студня желатины от температуры

значения наибольшего удельного оптического вращения — примерно до 15°; область быстрого изменения удельного вращения и, наконец, область постоянного, но наименьшего удельного оптического вращения — после 30°.

Для выяснения влияния структуры студня на переход спираль — клубок были проведены опыты с 5 и 2%-ными студнями и, для сравнения, с 0,5-ным раствором желатины. На рис. 2 представлены кривые температурных коэффициентов удельного оптического вращения для растворов и студней в изоэлектрическом состоянии при повышении температуры.

При 36° и выше температурный коэффициент удельного оптического вращения равен нулю. В этой области существуют лишь молекулы желатины в состоянии статистического клубка. При охлаждении до 20° скорость образования спиралей увеличивается, что связано с наибольшей вероятностью образования водородных связей, при этих температурах скрепляющих спираль [18]. При температурах 17—20° температурный коэффициент удельного оптического вращения наибольший и постоянный, а затем он уменьшается. По-видимому, это связано с уменьшением подвижности молекул и ее сегментов при снижении температуры, что затрудняет образование спиральных конформаций, и с тем, что наибольшая часть молекул желатины из формы статистического клубка уже перешла в спиральную конформацию. Из рис. 2 видно также, что максимальные температурные коэффициенты удельного оптического вращения для студней и растворов желатины совпадают; это свидетельствует о том, что переход от конформаций спиралей к конформации статистического клубка для молекул желатины не зависит от того, находятся ли молекулы в растворе или участвуют в образовании структуры студня.



Для выяснения влияния заряда на молекулах желатины на температурный коэффициент удельного оптического вращения в студнях изучали 5%-ные студни в изоэлектрическом состоянии и при кислых и щелочных рН (рис. 3).

По мере нагревания студня конформационные изменения молекул желатины от спиралей к клубку увеличиваются, а затем при определенных температурах для различных рН температурный коэффициент остается постоянным: 18–20° при рН 5,2, 14–18° при рН 10 и 13–16° при рН 2; при дальнейшем повышении температуры снова быстро увеличивается

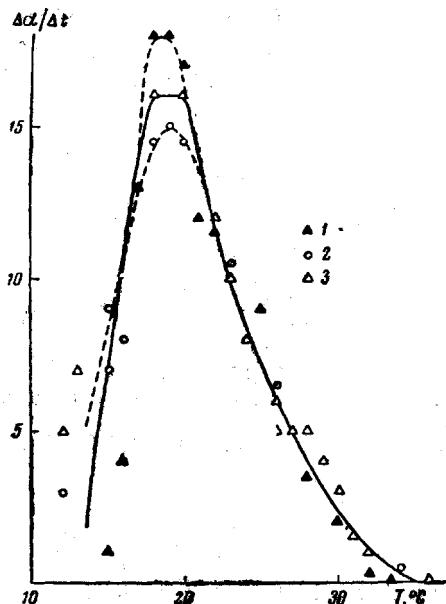


Рис. 2

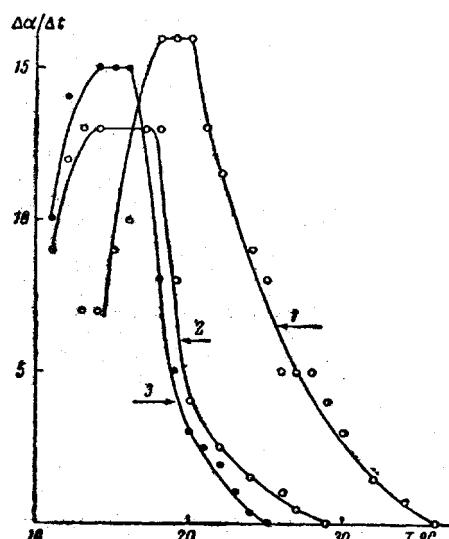


Рис. 3

Рис. 2. Зависимость  $\Delta\alpha/\Delta t$  от  $t$ : 1 — для 0,5-ногого раствора; 2 — 2%-ного студня; 3 — 5%-ного студня в изоэлектрическом состоянии

Рис. 3. Зависимость  $\Delta\alpha/\Delta t$  от  $t$  для 5%-ного студня при различных рН: 1 — рН 5,2; 2 — рН 10,3; 3 — рН 2

превращение из спиральной конформации в форму беспорядочных клубков. Резкий переход раньше всего наблюдается при рН 2 (кривая 3), затем при рН 10 (кривая 2) и позже всего при рН 5,2, что отвечает изоэлектрическому состоянию. В общем виде кривые для кислой и щелочной областей студня желатины повторяют тот же ход. Однако температуры полного перехода спираль — клубок, где температурный коэффициент удельного оптического вращения равен нулю, резко отличаются: при рН 5,2 — 36°; при рН 10,3 — 29°; при рН 2 — 25°, т. е. в кислой и щелочной областях полный переход осуществляется при температурах на 7–11° ниже, чем в изоэлектрическом состоянии. Это объясняется тем, что спиральные конформации в щелочной и кислой средах менее стабильны из-за одноименного заряда на молекулах желатины.

### Выводы

1. Максимальные температурные коэффициенты удельного оптического вращения для студней и растворов желатины совпадают. Это свидетельствует о том, что переход от конформаций спиралей к конформациям статистического клубка для молекул желатины не зависит от того, находятся ли молекулы в растворе или участвуют в образовании структуры студня.

2: При нагревании полный переход от спиральных конформаций к статистическому клубку в кислой и щелочной областях осуществляется при температурах на 7—11° ниже, чем в изоэлектрическом состоянии. Это объясняется тем, что спиральные конформации в щелочной и кислой средах менее стабильны из-за одноименного заряда на молекулах.

Московский государственный университет  
им. М. В. Ломоносова

Поступила в редакцию  
30 XII 1964

#### ЛИТЕРАТУРА

1. В. Н. Измайлова, В. А. Пчелин, Самир Абу Али, Высокомолек. соед., 6, 2497, 1964.
2. E. O. Kremers, J. R. Fanslow, J. Phys. Chem., 29, 1169, 1925.
3. D. C. Carpenter, F. E. Lovelace, J. Amer. Chem. Soc., 67, 2342, 2337, 1935.
4. C. Robinson, M. J. Blott, Nature, 168, 325, 1951.
5. C. Cohen, Nature, 175, 129, 1955.
6. C. Cohen, J. Biophys. and Biochem. Cytol., 1, 203, 1955.
7. A. Elliott, Recent Advan in Gelation and Glue Reseavch, 1957.
8. A. R. Downie, A. Elliott, Proc. Roy. Soc., 242, 325, 1957.
9. I. T. Yang, P. Doty, J. Amer. Chem. Soc., 79, 761, 1957.
10. W. F. Harrington, Nature, 14, 997, 1958.
11. A. Vies, J. Cohen, Nature, 186, 84, 1960.
12. P. Y. Floix, E. S. Weaver, J. Amer. Chem. Soc., 82, 4518, 1960.
13. W. F. Harrington, P. Hippel, Arch. Biochem. and Biophys., 92, 100, 1961.
14. P. H. Hippel, Kwok-J-wong, J. Biochem., 4, 664, 1962.
15. A. Courts, J. Biochem., 83, 124, 1962.
16. P. H. Hippel, Kwok-J-Wong, J. Biochem., 2, 1387, 1399, 1963.
17. В. А. Пчелин, В. Н. Измайлова, В. П. Мерзлов, Высокомолек. соед., 5, 1429, 1963; Докл. АН СССР, 150, 1307, 1963.
18. В. А. Пчелин, Н. В. Григорьева, В. Н. Измайлова, Докл. АН СССР 151, 134, 1963.

---

#### CONFORMATIONAL CHANGES IN GELATINE MOLECULES DURING MELTING OF GELS

*V. N. Izmailova, V. A. Pchelin, Samir Abu Ali*

#### Summary

The helix-coil transitions in gelatine solutions and gels and the conformational changes of the gelatine molecules on heating the gels at different pH have been investigated. From data on the optical rotation of gelatine gels at various temperatures it follows that transition from the helical conformation to the statistical coil in the case of gelatine molecules is independent of whether the molecules are in solution or take part in the formation of a gel structure. The pH of the gel greatly influences the helix-coil transition temperature, due to the fall in stability of the helical conformations with increase in like charges on the gelatine molecules.

---