ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՍՍՀ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԿԱԴԵՄԻԱ: ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ՀԱՆԴԵՍ
АКАДЕМИЯ НАУК АРМЯНСКОЙ ССР. БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ АРМЕНИИ
XX, № 9, 1967

Г. А. ПАНОСЯН

# СТРУКТУРА И ФУНКЦИЯ ГИСТОНОВ

За последние годы повысился интерес исследователей к одной из главных составных частей ядра — белкам основного характера — гистонам, входящим в состав хромосом ядра клетки.

Если раньше гистонам приписывалась только структурная роль в организации хромосом, то в настоящее время предполагается, что гистоны могут прямо или косвенно играть роль регуляторов генетической активности клетки, поскольку, взаимодействуя специфически с определенными участками ДНК — носителя генетической информации, они могут изменять матричную активность ДНК. При этом не исключается структурная роль гистонов, их участие в организации и типов хромосом, характера спирализации последних и т. д.

В настоящее время, как это ни парадоксально, мы очень мало знаем о функциях этих широко распространенных белков. Лишь немного известно о строении и свойствах гистонов.

Доля английских ученых, чему посвящена настоящая статья, в исследовании структуры, свойств и роли гистонов велика. Достаточно сказать, что именно благодаря впервые высказанной эдинбургскими учеными Стедман и Стедман [34] гипотезе о регуляторной роли гистонов, исследования в этой области приняли широкий размах.

Исследованием гистонов в Великобритании занимаются во многих учреждениях, основными из которых являются Научно-исследовательский раковый институт Честер Битти, Лаборатория молекулярной биологии Кэмбриджского университета, Портсмутский технологический колледж, Эдинбургский и Оксфордский университеты.

В настоящей статье мы попытаемся вкратце представить исследования английских ученых, проведенные за последние два-три года и подытоженные на состоящихся 4 октября 1966 г. в Портсмуте заседании группы биофизической химии Британского биофизического общества и 21 октября 1966 г. в Лондоне на заседании Биохимического общества и специальном коллоквиуме «Биохимия гистонов».

В исследовании гистонов исключительно важное значение имеет разработка методов выделения гистонов и их идентификация. В этом отношении чрезвычайно важны исследования, проводимые в институте Честер Битти группой исследователей под руководством проф. Батлера. Особенно в этом отношении необходимо отметить методические разработки и исследования Джонса, Филлипса и др. [4, 10—14, 16, 27—31]. Джонс разработал методы выделения и фракционирования гистонов из

тимуса теленка, основанных на различной растворимости различных фракций гистонов в кислоте, спирте и ацетоне. Общий гистон тимуса теленка ими был разделен на пять фракций, обозначенных $F_1$, $F_{2a1}$, $F_{2a2}$, $F_{2b}$ и $F_3$, которые отличаются друг от друга аминокислотным составом и концевыми аминокислотами. Они показали, что $F_1$ и $F_{2b}$—фракции, богатые лизином гистоны, $F_{2a1}$ и $F_3$—богатые аргинином гистоны, а $F_{2a2}$—промежуточные типы с молярным отношением лизина к аргинину, приблизительно равному единице. Каждая из этих фракций составляет около 20% общего количества гистона тимуса теленка. Проведены аминокислотный анализ, определение концевых аминокислот и электрофорез на крахмальном геле всех полученных фракций. Обнаружено, что каждая из полученных фракций гетерогенна [14]. Джонсом разработан метод электрофоретического разделения и количественного определения микроколичеств гистонов на полиакриламидном геле при pH 2,4; полученные полосы охарактеризованы по электрофоретической подвижности, сравнительно с электрофоретической подвижностью альбумина бычьей плазмы, используемой в качестве маркера.

В связи с регуляторной ролью гистонов исключительно важное значение имеют исследования по распределению и специфичности гистонов у различных животных и в различных тканях организма. В литературе имеется большое количество данных о гетерогенности и специфичности гистонов. Однако эти данные противоречивы. Ряд исследователей указывает на наличие различий между строением и свойствами гистонов, выделенных из различных тканей и организмов, тогда как другие исследователи отрицают специфичность гистонов. Дальнейшие исследования гетерогенности и специфичности гистонов чрезвычайно важны, поскольку этот вопрос связан с регуляторной ролью гистонов.

В этом отношении необходимо отметить исследования, проводимые проф. Батлером и его сотрудниками [4, 14, 16]. Очевидно, что если гистоны являются регуляторами генетической активности и осуществляют путем связывания с определенными участками молекулы ДНК, то в организме мы должны иметь большое количество разнообразных гистонов, обладающих специфической структурой и сродством к определенным участкам молекулы ДНК. Различие, следовательно, также должно быть обнаружено и между гистонами, выделенными из различных организмов.

В связи с этим большое значение имеют эксперименты по выделению и исследования свойств гистонов одноклеточных и многоклеточных организмов, поскольку наличие или отсутствие гистонов у одноклеточных организмов указывает либо на универсальную роль гистонов во внутриклеточной регуляции, либо на связь гистонов с процессами дифференциации тканей (если гистоны обнаруживаются только у многоклеточных организмов).

Батлер и сотрудники провели сравнительное исследование гистонов различных животных как высших, так и низших. Например, Палау и

Батлер [25, 26] исследовали основные белки из сперматозоидов различных видов иглокожих и моллюсков. Палау и Субирана показали, что общий гистон, выделенный из морских ежей Arbacia lixula и Strongylocentrotus purpuratus, сходен по аминокислотному составу с общим гистоном тимуса теленка, хотя и отличается более высоким содержанием аргинина и аланина и меньшим количеством аспарагиновой и глютаминовой кислот. Электрофорез на крахмальном геле общего гистона показал наличие пяти основных фракций. Используя модифицированный метод Джонса [10, 11], они изолировали из спермы Arbacia lixula $F_1$—подобный и $F_{2a}$—подобный гистоны, а также более сложные по сравнению с тимусными фракциями $F_{2b}$ и $F_3$-гистоны. Общий гистон спермы морского ежа Astropecten aurantias и Echinaster sepositus по аминокислотному составу подобен общему гистону тимуса теленка, однако обнаруживает некоторую особенность в электрофоретической подвижности на крахмальном геле. Гистоны, выделенные из спермы морской мидии Mytilus edulis, сильно отличаются по аминокислотному составу от гистона тимуса теленка, обнаруживая очень высокое содержание лизина и аргинина (около 35%).

На том же заседании общества был заслушан доклад Крафта, который, наоборот, отрицал наличие гистонов у других низкоорганизованных организмов—ктенофор (Beroë cucumis). Из этих организмов после разрушения получали ядерные препараты обработкой 2% уксусной кислотой и высушивания в спирте и эфире, из которых в дальнейшем экстрагировали 0,2 N соляной кислотой основные белки. Было обнаружено, что из ядер, содержащих 7,7% РНК и 5,2% ДНК, выделялся белковый материал, составляющий 1,6% ядерного материала, причем лишь 0,5% белкового материала по поведению на полиакриламидном геле и карбоксиметилцеллюлозе имели основной характер. Исходя из этих данных, Крафт приходит к выводу, что в ядрах Beroë cucumis либо гистон вообще отсутствует, либо он составляет лишь 0,2% содержания ДНК. Необходимо указать на один не очень удачный методический прием, примененный Крафтом в данной работе. Это — предварительная обработка ядер уксусной кислотой. Не исключена возможность, что основная масса основных белков ядра экстрагируется в данных условиях, поэтому дальнейшая экстракция белков соляной кислотой приводит к незначительному выходу основных белков.

Исключительно важное значение имеют работы Филлипса и др. по определению аминокислотного состава, концевых аминокислот и структуры некоторых фракций гистонов. Они исследовали пять фракций гистонов тимуса теленка, совершенно различных по аминокислотному составу и концевым аминокислотам, и показали, что N-концевыми аминокислотами являются: аланин ($F_3$), пролин ($F_{2b}$) или ацетил производные остатки ($F_{2a1}$, $F_{2a2}$ и, вероятно, $F_1$). С-концевой группой являются лизин в $F_1$ [17] и в $F_{2a2}$ [7], глицин в $F_{2a1}$ и аланин и аргинин в $F_3$. При триптическом переваривании $F_1$, $F_{2a1}$ и $F_{2a2}$ на хроматограммах появ-

ляется ряд пиков, указывающих на наличие различных пептидов, строение которых и было исследовано этими учеными [27, 28, 29]. Были получены пептиды, содержащие тиоловую группу в $F_3$ и, вероятно, имеющие строение (ала, асп, цис-SH, глу$_2$, сер, тре). Были исследованы N-концевые пептиды фракции $F_{2b}$ и определено их строение: про/ала, глу, про/лиз и про/асп, глу, гли, гис, илей, сер$_2$, тре, вал/лиз. Известен состав 40 триптических пептидов и структура 20 из них $F_{2a2}$-фракции гистона тимуса теленка. Один пептид является N-ацетил-сер, глу, арг, который ответствен за ацетильную группу в этом белке. Аналогичный концевой пептид был найден в $F_{2a1}$.

Эти результаты подтверждают ранее высказанную мысль о том, что основные аминокислоты в молекуле гистона распределены неравномерно [10, 11, 18, 31], что является немаловажным фактором при специфическом взаимодействии ДНК и гистонов.

Батлер, Филлипс и др. исследовали также состав нелереваривающегося остатка всех пяти фракций гистонов, получающегося после триптического переваривания. Оказалось, что «остаток» имеет молекулярный вес порядка 5000 и содержит значительно меньше основных аминокислот, чем соответствующий гистон с отношением основных аминокислот ко всем аминокислотам 1 : 6 для $F_{2a1}$, 1:11 для $F_{2a2}$, 1:7 для $F_{2b}$ и 1 : 7 для $F_3$. Эти данные указывают на то, что молекула гистона содержит область, составляющую приблизительно 30% общей длины молекулы, которая содержит значительно меньше основных групп и более (около 40—60%) аминокислот с гидрофобными боковыми цепочками. Предполагается, что один из пептидов триптического «остатка», полученный при пептическом переваривании, имеет строение асп$_2$, глу$_2$, тре, лей, ала, цис-SH.

Сравнительная характеристика аминокислотного состава гистоновых фракций, выделенных из различных источников, не обнаружила значительных различий [8]. Однако из растительного материала (пшеница) был получен основной белок, из которого было не возможно экстрагировать богатый аргинином гистон [12].

Джонсом и Батлером [12] были также проведены исследования по получению и идентификации гистоновых фракций из различных опухолей. Было получено несколько гистоновых фракций из остеогенных саркомы крыс, которые не отличались от соответствующих фракций тимусных гистонов. То же самое относится и к пептидам, полученным из фракции $F_{2a}$. Небольшие различия были обнаружены в группе нейтральных пептидов. Фракции $F_{2a}$, $F_{2b}$ и $F_3$ гистонов тимуса теленка и остеогенной саркомы Д177 крысы обнаруживают сходство по аминокислотному составу и электрофорезу на крахмальном геле.

Дж. Макгилври (Имперский фонд по исследованию рака) исследовал гистоны, выделенные из лейкоцитов здорового и больного лейкемией человека. Им было показано, что для выделения гистонов и их отдельных фракций из различных объектов, в том числе различного типа лей-

коцитов, необходимо применять методы Джонса с различными модификациями.

Вышеприведенные работы по гетерогенности, тканевой и видовой специфичности говорят о том, что в настоящее время рано пока утверждать или, наоборот, отрицать специфичность гистонов, поскольку имеющиеся методы исследования и полученные этими методами данные не дают возможность с определенностью судить об этом весьма важном вопросе.

С вопросом специфичности гистонов и их регуляторной ролью связаны исследования ряда ученых о более тонких изменениях гистонов, чем изменения, связанные с первичной структурой молекулы. Так, например, Олфри, Фолькнер и Мирский [1] сообщили о том, что в клетках тимуса теленка синтез РНК может контролироваться ацетилированием или метилированием гистонов. Макгилври в своем докладе на заседании биохимического общества говорил об увеличении включения радиоактивной метки из Na[$C^{14}$]-ацетата и [$C^{14}$-метил]-метионина в гистоны лейкоцитов, которые находились в среде с фитогемагглютинином. Аналогичные результаты были получены также Пого, Олфри и Мирским [32].

Не менее важное значение имеют также работы Орда, Стокена и др. по фосфорилированию гистона [23, 15] в ядрах клеток печени крыс и тимуса теленка. Было показано [35], что от степени фосфорилирования $F_1$-фракции гистона тимуса теленка зависит способность этого гистона воздействовать на ДНК-зависимый синтез РНК.

Еще Олфри, Мирский и Осава [2] показали, что изолированные ядра тимоцитов могут синтезировать АТФ in vitro. Этот процесс в отличие от фосфорилирования в митохондриях сильно подвержен воздействию рентгеновых лучей [5]. Стевли и Стокен [35] и Клайншмит и др. [15] показали, что фосфорилирование $F_1$-гистоновой фракции имеет место независимо от синтеза белка.

Орд и Стокен на заседании биохимического общества сообщили о дальнейших исследованиях в этой области. Они исследовали поглощение неорганического фосфата $P^{32}$ гистоновой фракцией $F_1$ после $\gamma$-облучения ($CO^{60}$, 1,3 Mev, 100 rad/мин, 1000 rad). Во фракции $F_1$ ( а также $F_3$), выделенной из ядер клеток тимуса теленка или печени крыс методом 1 или 2 Джонса, включение $P^{32}$ заметно уменьшается после облучения и кривая доза-эффект показывает заметное сходство с кривой, полученной ранее для включения $P^{32}$ в тимусную ДНК [22]. Отсюда авторы делают вывод о том, что в клетках тимуса одной из функций фосфорилирования в ядре является фосфорилирование гистонов, которое представляет собой одну из форм осуществления регуляции генетической активности.

Группой Батлера проводились исследования по обмену гистонов. Их интересовал вопрос о том, обнаруживают ли гистоны (или какая-либо особая фракция) большую скорость обмена, чем это необходимо для образования новых хромосом в клеточном цикле. Метаболическая активность различных гистоновых фракций определялась инъекцией меченого

лизина крысам, несущим опухоль, и последующим выделением различных гистоновых фракций и определением специфической активности лизина, входящего в их состав. Эксперименты этого типа были проведены с асцитной опухолью Кребса и с NK лимфомой крыс, растущей внутрибрюшинно. Были обнаружены лишь небольшие вариации в радиоактивности различных фракций гистонов ($F_3$, $F_{2a}$, $F_1$). В случае $F_{2b}$ фракции обнаруживалась значительно более высокая активность (30% и выше средней). Далее, было показано, что включение лизина в $F_1$ и $F_{2b}$ фракции выше, чем в другие фракции гистонов печени крыс, и что скорость включения в гистоновые фракции значительно меньше, чем в другие белки цитоплазмы, ядерного сока, ядерного остатка, откуда они предполагают, что гистоны синтезируются только для репликации хромосом

Большой интерес представляют исследования английскими учеными химических, физико-химических и физических свойств гистонов и их комплексов с нуклеиновыми кислотами.

Группа Батлера исследовала поведение различных гистоновых фракций в аналитической ультрацентрифуге в области pH 0,5—7,0. Минимальная величина S была найдена в области pH 2—3 для всех фракций, за исключением фракции $F_{2b}$. Минимальное значение $S_{2a,\omega}$ для фракции $F_1$ равно 0,4, для фракции $F_{2b}$ —1,3, для фракции $F_{2a}$ —1,9 и для фракции $F_3$—2,1. Молекулярный вес, определенный ультрацентрифугированием, равен для $F_1$—15 000, для $F_{2b}$ —37 000, а для $F_3$—50—80 000, что больше, чем молекулярный вес, рассчитанный по концевым аминокислотам.

П. Эдвардс и К. Шутер показали, что в определении молекулярного веса гистонов методом ультрацентрифугирования большое значение имеет заряд молекулы, т. е. величина молекулярного веса зависит от среды, в которой проводится ультрацентрифугирование; коэффициент седиментации гистонов увеличивается с увеличением солевой концентрации. Так, ими было показано, что в 0,01 M NaCl молекулярный вес $F_{2b}$ фракции гистона равен 4000, тогда как в 1,0 M растворе NaCl молекулярный вес этого гистона достигает 60 000, что явно указывает на процесс агрегации.

Пауэр и Батлер провели противоточное распределение цельного гистона и отдельных его фракций в растворителе вода-бутан-2-ол, содержащем различные концентрации трихлоруксусной кислоты. Ими показано, что растворимость гистона в органической фазе зависит как от количества гистонов, так и от концентрации трихлоруксусной кислоты. Они получили следующие коэффициенты распределения для различных фракций гистонов при использовании 0,5% трихлоруксусной кислоты и гистона в количестве 1 мг/мл: $F_{2a1}$— 4,6; $F_{2a2}$ — 3,5; $F_3$ — 3,5; $F_{2b}$—0,7; $F_1$—0,24. Интересно отметить, что противоточное распределение гистонов дает возможность проводить более дробное разделение гистоновых фракций. Так, богатый аргинином гистон $F_3$ получается более очищенным, так как от него полностью отделяется примесь другой фракции—

$F_{2a}$. Кроме того, этот метод позволил разделить фракцию $F_{2a}$ на две подфракции $F_{2a1}$ и $F_{2a2}$.

С. Левин из физико-химической лаборатории Технического колледжа Юго-Западного Эссекса поделился своими соображениями о гидрировании гистонов и роли его в конформационных изменениях гистоновой молекулы.

Чрезвычайно интересны и важны исследования по взаимодействию гистонов и ДНК. Специфичность взаимодействия и характер взаимодействия гистонов и ДНК — это те два основных вопроса, которые необходимо исследовать для понимания роли гистонов в клеточном ядре.

Известно, что гистоны взаимодействуют с ДНК и вызывают при этом торможение синтеза РНК на матрице ДНК. В связи с этим в раковом институте Честер Битти были проведены исследования по влиянию гистонов на синтез РНК в изолированном ядерном материале B. megaterium и ДНК тимуса теленка. В обоих случаях использовались гистоны из печени крысы и тимуса теленка (Батлер и др.). В опытах с B. megaterium было показано, что добавление гистонов, даже в количествах, эквивалентных ДНК, вызывает лишь частичное торможение синтеза РНК, что объясняется неспособностью гистона замещать белок, уже присутствующий в препаратах ДНК бактерий.

В опытах с нативной ДНК, используемой в качестве матрицы, было замечено сильное торможение синтеза РНК как нефракционированным гистоном, так и его различными фракциями. $F_{2a}$, $F_{2b}$ и $F_3$ равно эффективны, тогда как $F_1$ более эффективен. Когда эти фракции добавлялись в количествах больших, чем они присутствуют в нативном нуклеопротеиде, то наблюдалась большая степень торможения, чем это можно было ожидать, если бы они действовали лишь на специфические участки молекулы ДНК, с которыми они связаны in vivo. Это значит, что они способны вызывать торможение не только той части ДНК, с которыми они связаны в нативном состоянии, но также и других участков. Ими было найдено также, что поли-L-лизин является очень эффективным в качестве ингибитора. Отсюда авторы выводят, что в условиях in vitro торможение синтеза РНК не является высоко специфическим.

Батлер и Джонс [4, 13] исследовали взаимодействие различных гистоновых фракций с ДНК методом преципитации и диализа из 2 M NaCl (в котором этот комплекс диссоциирован) до 0,1 M NaCl. При этом ими специфического взаимодействия между какой-либо фракцией гистона и специфическим участком ДНК не было найдено. Однако в этих экспериментах имеется значительное различие в способах, которыми различные гистоновые фракции соединяются с молекулой ДНК. Например, для осаждения ДНК требуется намного меньше $F_1$ (0,6—0,8 мг/мл ДНК), чем для других фракций; в этом отношении наименее эффективны $F_{2a}$ и смесь $F_{2a1}$ и $F_{2a2}$ (2,6 мг/мл ДНК). По мнению авторов, эти различия не могут быть отнесены просто за счет различия в положительном

заряде различных гистонов, а что более вероятно, зависят от числа основных аминокислот, стерически ответственных за присоединение к фосфатным группам ДНК, зависящего также от величины гистоновой молекулы. Они предполагают, что $F_1$-гистон обвивается вокруг молекулы ДНК, покрывая полностью бóльший участок молекулы ДНК на грамм белка, чем другие фракции и что $F_{2a}$, которая наименее эффективна в этом отношении, имеет боковые петли, расположенные снаружи двойной спирали и способные образовывать гидрофобные связи с другими соединениями.

Обращают на себя внимание исследования Мюррей и др. из Института молекулярной биологии в Кэмбридже. Как было ранее показано Дели и Мирским [6], гистоновые фракции могут быть удалены из нативного нуклеопротеида обработкой хлористым натрием данной молярности. Используя это свойство, а также титрацию кислотой до соответствующего pH [19], Мюррей, Видали и Неелин провели исследование по ступенчатому удалению различных гистонов из нативного нуклеопротеида эритроцитов курицы. Как известно по данным Неелина [20], ядра эритроцитов курицы имеют фракцию гистонов с необычным аминокислотным составом, который, очевидно, является уникальным. Используя ступенчатый титрационный метод [19], Мюррей смог получить эту фракцию в высоко очищенном виде. Этим методом вышеназванные авторы получили четыре фракции гистонов из нуклеопротеида при следующих значениях pH: 1) 2,8—2,15; 2) 1,95—1,90; 3) 1,78—1,38; 4) 1,38—1,02. Ни один гистон не удалялся при pH выше 2,8 или ниже 1,02. Они провели сравнение аминокислотного состава, поведения при электрофорезе на крахмальном геле и хроматографических свойств на Амберлите SRC 50, полученных фракций гистонов и хроматографических фракций гистонов, полученных ранее описанным методом [21]. Фракция 1, отделяемая при pH 2,15, содержала хроматографические фракции 1 и 5; фракция 2, выделенная при pH 1,9, содержала только хроматографическую фракцию 5, т. е. фракцию, уникальную для эритроцитов; фракция 3, выделяемая при pH 1,38, содержала хроматографическую фракцию 4 и второй компонент, который ранее не наблюдался. Фракция 4, отделяемая от нуклеопротеида при pH 1,02, является в основном этим вторым компонентом фракции 3 и по аминокислотному составу и по хроматографическим свойствам соответствует гистону III и IV ядер тимуса теленка по Расмуссену и др. [33], но отличается от этих фракций пептидами, образуемыми при триптическом переваривании.

Этот метод ступенчатого удаления гистонов интересен тем, что может быть с успехом применен для исследования специфической связи различных гистонов с ДНК в нативном дезоксирибонуклеопротеиде.

Группа, возглавляемая Брэдбри [3] в Портсмутском технологическом институте, исследовала оптические свойства различных фракций гистонов. Были использованы гистоны, полученные в лаборатории Филлипса и Джонса, а также в Стенфордском университете в Калифорнии.

Оптическое вращение общего гистона и гистоновых фракций было измерено в области 5780—2967 А спектрополяриметром, вращение анализировали согласно уравнению Моффита. Исследование величины $b_0$ показало, что в водных растворах, в растворе NaCl и в 2-хлорэтаноле спирализация гистонов разная. Показано, что в 2-хлорэтаноле гистоны имеют 46% спирализацию для $F_1$, 65—75%—для $F_{2a}F_{,2b}$ и $F_3$. Однако в водных растворах гистоновые фракции находятся в довольно беспорядочной конфигурации.

На совещании в Портсмуте Крейн-Робинсон, Брэдбри и Рэттл сообщили о дальнейших исследованиях физических свойств гистонов. Они исследовали дисперсию оптического вращения растворов общего гистона, отдельных его фракций и протаминов согласно уравнению Моффита и вращения при 233 mμ. Они показали, что, за исключением фракции $F_1$, гистоны спирализованы приблизительно на 10% в воде, на 25—30% в 1 M NaCl, а в 2-хлорэтаноле и трифторэтаноле на 65 и 80% соответственно. Спирализация фракции $F_1$ ниже 10% во всех использованных растворах, а в воде данная фракция вовсе не спирализуется. Изменение pH при низких ионных силах увеличивает содержание спиральных участков гистонов приблизительно на 20%, за исключением фракции $F_1$, где наблюдается незначительный эффект. Протамины в водных системах не спирализованы, а в 2-хлорэтаноле спирализованы на 40%.

Инфракрасный спектр гистоновых пленок, полученных из 2-хлорэтанола, указывает на отсутствие β-конфигурации во всех фракциях, за исключением фракции $F_1$. Эти авторы провели также исследования по определению спектров ядерного магнитного резонанса высокого разрешения различных гистоновых фракций, которые также показывают увеличение спирализации в солевых растворах и в трифторэтаноле. Резонанс при 9τ, зависящий от концевых метильных групп лейцинового и меньшего числа валинового и изолейцинового остатков боковой углеводородной цепочки, в сильной степени уменьшается в области увеличения спирализации, что указывает на наличие этих аминокислотных остатков в спирализованных участках.

Брэдбри, Крейн-Робинсон и Стефенс сообщили также о спектроскопических исследованиях нуклеогистонов, полученных у Мюррея из Кэмбриджа. Они проводили спектроскопию и дейтерирование нуклеогистонов с селективно удаленными гистоновыми фракциями. Опыты по дейтеризации указывают на наличие α-спиральной конфигурации. Ими была измерена интенсивность N—H полосы при 330 $см^{-1}$, указывающая на количество белка, находящегося в спиральной форме. Оказалось, что интенсивность этой полосы не уменьшается вплоть до удаления 20—25% гистона из нуклеопротеидного комплекса, т. е. не уменьшается при удалении богатой лизином фракции гистона. Отсюда заключается, что эта фракция не состоит из спиральных молекул и участвует в поперечных связях нуклеогистонового комплекса.

Исследование поляризованным инфракрасным светом ориентиро-

ванных пленок нуклеогистонов с частично удаленными гистонами показало, что остаточная N—H полоса слабо дейтерированных белковых компонентов почти не дихроична. Она обладает очень низким параллельным дихроизмом. Эти данные указывают на то, что если спиральные компоненты гистона укладываются относительно оси молекулы ДНК, то они должны лежать под углом в 54° по отношению к этой оси. А если это имеет место, то, очевидно, спиральные участки лежат в одной из желобков молекулы ДНК.

Хейдон и Пикок из Оксфордского университета сообщили об исследованиях по определению молекулярного веса и гетерогенности богатой лизином гистоновой фракции тимуса теленка. Они использовали метод равновесного центрифугирования различных концентраций гистонов в 0,1 M NaCl. При этом оказалось, что молекулярный вес гистонов варьирует от 11 000 при концентрации 5 мг/мл до 20 000 при нулевой концентрации белка. В 0,5 M NaCl эффект заряда уменьшается, и молекулярный вес меняется от 14 000 до 20 000 в тех же пределах концентрации белка.

Р. Итзаки из Кэмбриджского университета исследовала двойное лучепреломление гелей и разбавленных растворов дезоксирибонуклеопротеидов, выделенных различными методами из тимуса крысы. Ею показано, что гель и растворы дезоксирибонуклеопротеида ориентированы одинаково и измерения двойного лучепреломления не зависят от характера рассеивания ДНП. Как молекула ДНК, так и белковый компонент ДНП ориентированы в электрическом поле. В ходе выделения ДНП главным фактором, воздействующим на свойства полученного продукта, является концентрация ДНП и степень диализа.

Большой интерес вызвало сообщение Пардона, Уилкинса и Ричардса из Лондонского биофизического исследовательского центра о надспиральной модели нуклеогистона. Используя метод дифракции рентгеновых лучей, они показали, что образцы волокон нативного нуклеогистона включают целый ряд малоугловых диффракционных колец, за появление которых ответственны не молекулы ДНК и не отдельно гистоновые молекулы, а их комплекс. Отсюда заключается, что нуклеогистон обладает третичной структурой, наиболее вероятной формой которой является надспиральная форма. Проделаны предварительные расчеты для спиральной модели с винтовым шагом в 120 Å и радиусом в 50 Å, которая дает ряд диффракционных колец, сходных с наблюдаемыми. Они показали также, что после натяжения малоугловые кольца исчезают и рефлексы ДНК показывают большую ориентацию; эти изменения обратимы и исчезают после расслабления. Эксперименты с частично диссоциированными (с помощью солей) нуклеогистонами показали, что надспиральная структура теряется после обработки 1,2 M раствором.

Показано также, что диффракционные кольца при 75 Å и 38 Å, полученные из очень концентрированных образцов нативного нуклеогистона и нуклеогистона в 1,4 M и более концентрированном растворе

NaCl, возникают из структуры, спирализованной иначе, чем это имеет место в вышеуказанной надспиральной структуре.

В конце коллоквиума по «Биохимии гистонов» Дж. Хиндлей из Бристольского университета привел ряд известных в литературе данных о регуляторной роли гистонов в клетке. Хотя в докладе Хиндлея и замечался некоторый скепсис по отношению к регуляторной роли гистонов, тем не менее имеются довольно веские основания утверждать, что гистоны прямо или косвенно принимают участие в регуляции генетической активности наследственного аппарата клетки. Поэтому в настоящее время перед нами стоят следующие крайне интересные вопросы: какова роль гистонов в ядре, каким образом может осуществляться регуляторная функция гистонов, являются ли гистоны регуляторами типа регуляторов Жакоба и Моно, или они являются дополнительными факторами в осуществлении регуляции генетической, связанными с процессами дифференциации клетки или морфогенеза.

Дальнейшие исследования структуры, гетерогенности, специфичности, химических, физико-химических и физических свойств, характера и условий их взаимодействия с ДНК и РНК, биологической активности различных типов гистонов помогут ответить на вышеперечисленные чрезвычайно интересные и важные вопросы.

Ереванский государственный университет,
Раковый институт в Лондоне,
Честер Битти

Поступило 3.III 1967 г.

Գ. Հ. ՓԱՆՈՍՅԱՆ

## ՀԻՍՏՈՆՆԵՐԻ ԿԱՌՈՒՑՎԱԾՔԸ ԵՎ ՖՈՒՆԿՑԻԱՆ

### Ամփոփում

*Հոդվածում քննարկվում են այն տվյալները, որոնք ամփոփվել են Բրիտանական բիոֆիզիկական քիմիայի խմբի 1966 թ. հոկտեմբերի 4-ին Պորտսմուտում տեղի ունեցած և բիոքիմական ընկերության հոկտեմբերի 21-ին Լոնդոնում կայացած նիստերում, ինչպես նաև «Հիստոնների բիոքիմիա» հատուկ կոլոքվիումում։ Այդ տվյալները ամփոփում են հիստոնների — բջջի միջուկի հիմնական սպիտակուցների, կառուցվածքի, հատկությունների և դերի հարցերի շուրջը վերջին 2—3 տարում անգլիական գիտնականների կատարած աշխատանքների արդյունքները։*

*Քննարկվում են անգլիական գիտնականների մշակած՝ հիստոնների տարբեր ֆրակցիաների անջատման եղանակները, նրանց կոտորակային բաժանումը, տեսակավորումը։*

*Բերվում են հիստոնների տարբեր ֆրակցիաների ամինաթթվային կազմությունը, տրիպսինային ճեղքումից ստացվող հիստոնների պեպտիդների կառուցվածքի վերաբերյալ տվյալները։ Քննարկվում են նաև հիստոնների տարբեր ֆրակցիաների քիմիական, ֆիզիկա-քիմիական և ֆիզիկական հատկությունները, հիստոնների ու ԴՆԹ-ի մոլեկուլի փոխազդման բնույթը և էությունը, ինչպես նաև հիստոնների դերը բջջի ֆունկցիաներում։*

## ЛИТЕРАТУРА


1. Allfrey V. G., Faulkner R., Nirsky A. E. Proc. Nat. Acad. Sci., Wash., 51, 7, 786, 1964.
2. Allfrey V. G., Mirsky A. E., Osawa S. Nature, L., 176, 1042, 1955.
3. Bradbury E. M., Cran-Robinson C., Phillips D. M. P., Johns E. W. Murrey K. Nature, L., 205, 1315, 1965.
4. Butler J. A. V., Johns E. W. Biochem. J., 91, 15C, 1964.
5. Creasy W. A., Stoken L. A. Biochem. J., 72, 519, 1959.
6. Daly M. M., Mirsky A. E. J. Gen. Physiol., 38, 405, 1955.
7. Hnilica L. S. Biochem. Biophys. Acta, 117, 163, 1966.
8. Hnilica L. S., Johns E. W., Butler J. A. V. Biochem. J., 82, 123, 1962.
9. Itzaki R. F. Biochem. J., 100, 211, 1966.
10. Johns E. W. Biochem. J., 92, 55, 1964.
11. Johns E. W., Biochem. J., 93, 161, 1964.
12. Johns E. W., Butler J. A. V. Biochem. J., 84, 436, 1962.
13. Johns E. W., Butler J. A. V. Nature, L., 204, 853, 1964.
14. Johns E. W., Phillips D. M. P., Simson P., Butler J. A. V. Biochem. J., 80, 189, 1961.
15. Kleinsmith L. J., Allfrey V. G., Mirsky A. E. Proc. Nat. Acad. Sci., Wash., 55, 1182, 1966.
16. Laurence D. J. R., Phillips D. M. P., Butler J. A. V. Arch. Biochem., Biophis., 113, 738, 1966.
17. Luck J. M., Rasmussen R. S., Satake K., Tsvetikov A. N. J. Biol. Chem., 233, 1407, 1958.
18. Murrey K. In „The Nucleohistones", p. 21. Ed. by Bonner J. & Ts'o P. O. P., 1964.
19. Murrey K. J. Mol. Biol., 15, 409, 1966.
20. Neelin J. M. In „The Nucleohistones", p. 66. Ed. by Bonner J. & Ts'o P. O. P., 1964.
21. Neelin J. M., Callahan P. X., Lamb D. C., Murrey K. Canad. J. Biochem., 42, 1743, 1964.
22. Ord M. G., Stocken L. A. Nature, L., 182, 1787, 1958.
23. Ord M. G., Stocken L. A. Biochem. J. Boichem. J., Boichem. J., 98, 5P, 1965.
24. Ord M. G., Stocken L. A. Biochem. J. (в печати), 1967.
25. Palau J., Butler J. A. V. Biochem. J., 98, 5P, 1966.
26. Palau J., Butler J. A. V. Biochem. J. (в печати), 1966.
27. Phillips D. M. P. Biochem. J., 87, 258, 1963.
28. Phillips D. M. P. In „The Nucleohistones", p. 46, Ed. by Bonner J. & Ts'o P. O. P., 1964.
29. Phillips D. M. P. Biochem. J., 97, 669, 1965.
30. Phillips D. M. P., Johns E. W., Biochem. J., 94, 127, 1965.
31. Phillips D. M. P., Simson P. Biochem. J., 82, 236, 1962.
32. Pogo B. G. T., Allfrey V. G., Mirsky A. E. Proc. Nat. Acad. Sci., Wash., 55, 805, 1966.
33. Rasmussen P. S., Murrey K., Luck J. M. Biochemistry. N. Y., 1, 79, 1962.
34. Stedman E., Stedman E. Phil. Trans, Roy. Soc., Ser B, 235, 565, 1951.
35. Strevely V. S., Stocken L. A. Biochem. J., 100, 20C, 1966.