

КРАТКИЕ НАУЧНЫЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 576.3.636

Г. Г. БАТИКЯН, Ю. А. МАГАКЯН, ЧАН ВАН МИН

ДИНАМИКА КОНЦЕНТРАЦИИ БЕЛКОВЫХ SH-ГРУПП
В СТИМУЛИРОВАННОЙ К ПРОЛИФЕРАЦИИ КУЛЬТУРЕ
ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА В НОРМЕ И ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ
МУТАГЕНА И ПРОТЕКТОРА

Белковые сульфгидрильные группы, играют, как известно, важную роль в поддержании определенной структуры белковых молекул, в их биологической активности и в сохранении окислительно-восстановительного баланса клеток [5, 7]. Со времени работ Баррона с соотр. [8] и Эд-жарна и Пила [9] за сульфгидрильными группами признается важная роль в механизме повреждающего действия ионизирующего излучения на живые клетки. За последние десять лет были проведены детальные исследования, показавшие большое значение SH-групп в процессе повреждения и модификации генетического материала клеток при облучении [3, 11]. Вместе с тем до настоящего времени слабо изучены вопросы, касающиеся участия SH-групп в процессе химического мутагенеза. Поэтому представлялось интересным исследовать динамику изменений в концентрации белковых SH-групп, составляющих подавляющее большинство тиолов в клетках [10], при действии химического мутагена и протектора.

Материал и методика. Эксперименты были выполнены на культуре лимфоцитов периферической крови человека (использованной в качестве модели), представляющей собою относительно синхронную популяцию клеток. Стабилизированная культура лимфоцитов (1 мл цельной крови человека в 6,5 мл среды Игла+1 мл бычьей сыворотки) стимулировалась к пролиферации добавлением в среду митогена (0,002 мл/1 мл фитогемагглютина, ФРА). Клетки фиксировались в смеси Карнуа через 22, 28, 34, 40, 46 и 52 час. после стимуляции к пролиферации. Мутаген—тиофосфамид (тиоТЭФ) в чистом виде либо в комплексе с протектором—аминопропиламиноэтиофосфорной кислотой (АПАЭТФ)—вводился в концентрации 10^{-4} М/1 мл за 1 час до фиксации клеток. Выявление белковых SH-групп проводилось с помощью обработки препаратов 2,2'-диокси-6,6'-динафтилдисульфидом (ДДД) с последующим докрасиванием диазониевой солью прочного черного К по Бару [2]. Определение оптической плотности (концентрации) красителя, связавшегося с открытыми белковыми SH-группами, проводилось на зондовом цитосенстрофотометре одноволновым методом [4] при длине волны, равной 555 нм. В каждом случае измерения проводились в 50-и клетках (не менее трех измерений на клетку). Полученные данные обрабатывались статистически и выражались в условных сравнимых единицах.

Результаты и обсуждение. Наши исследования выявили характерную динамику концентрации белковых SH-групп (рис., а), четко коррелирующую с продолжением клетками синхронизированной культуры различных фаз митотического цикла. Высокий в начале культивирова-

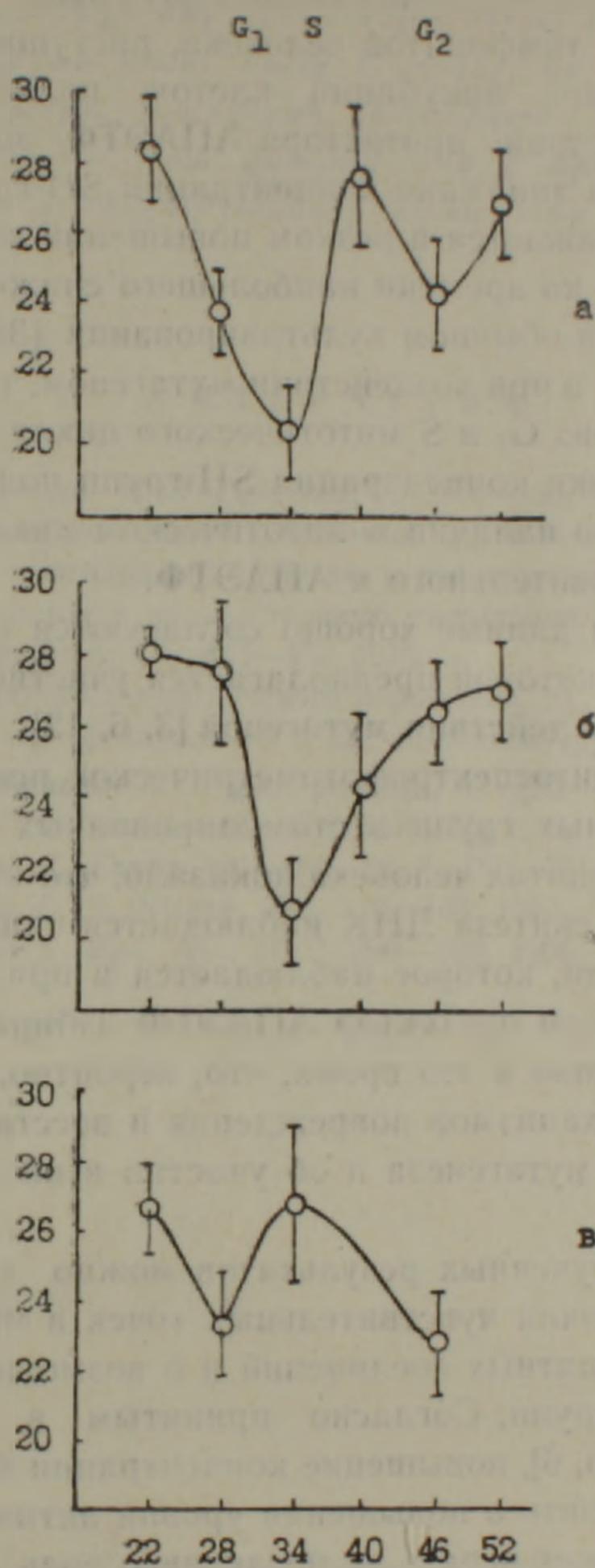


Рис. Динамика концентрации белковых SH-групп в стимулированных к пролиферации лимфоцитах человека на 22—52 час. роста в культуре. а—контроль, б—введение мутагена тиоТЭФ, в—введение мутагена и протектора АПАЭТФ; G₁-, S- и G₂-фазы митотического цикла. По осям абсцисс—время культивирования после стимуляции, в часах, по осям ординат—оптическая плотность красителя, связавшегося с белковыми SH-группами, в условных сравнимых единицах.

ния уровень концентрации SH-групп резко падает к 34-му часу роста культуры, а затем снова повышается до исходных значений. Таким образом, наши данные подтверждают ранее известные сведения о динамике концентрации белковых SH-групп в процессе митотического цикла [5, 10].

Введение мутагена тиоТЭФ, вызывающего, как было показано ранее [1], большое число хромосомных aberrаций, практически не оказы-

вает влияния на динамику концентрации SH-групп, характерную для митотического цикла лимфоцитов человека, растущих в культуре (рис., б). В то же время при инкубации клеток, подвергшихся действию мутагена, в присутствии протектора АПАЭТФ наблюдаются существенные изменения в динамике концентрации SH-групп (рис., в). Действие протектора выражается в резком повышении концентрации белковых SH-групп именно ко времени наибольшего снижения ее в митотическом цикле клеток при обычном культивировании (34 часа после стимуляции пролиферации) и при воздействии мутагеном, т. е. ко времени прохождения клетками фаз G_1 и S митотического цикла (рис., в). Изменение характера динамики концентрации SH-групп под действием протектора свидетельствует о наличии в митотическом цикле лимфоцитов человека периода, чувствительного к АПАЭТФ.

Полученные нами данные хорошо согласуются с теорией эндогенных тиолов, согласно которой предполагается участие белковых групп в процессе модификации действия мутагенов [3, 6, 12].

Таким образом, цитоспектрофотометрическое исследование концентрации сульфгидрильных групп в стимулированных к пролиферации введением ФГА лимфоцитах человека показало, что при переходе клеток от периода G_1 к фазе синтеза ДНК наблюдается снижение концентрации белковых SH-групп, которое наблюдается и при воздействии мутагеном тиоТЭФ. При этом протектор АПАЭТФ избирательно повышает уровень SH-групп именно в это время, что, вероятно, свидетельствует о взаимосвязанности механизмов повреждения и восстановления клеток в процессе химического мутагенеза и об участии в них белковых сульфгидрильных групп.

На основании полученных результатов можно сделать предварительный вывод о наличии чувствительных точек в митотическом цикле клеток к введению защитных соединений и о возможной активации при этом эндогенных SH-групп. Согласно принятым в настоящее время представлениям [2, 3, 5, 6], повышение концентрации белковых SH-групп должно свидетельствовать о повышении уровня активности ферментных систем клетки, что может играть не последнюю роль в возрастании устойчивости клеток к различного рода вредящим воздействиям.

Ереванский государственный университет,
кафедра генетики и цитологии

Поступило 20.V 1975 г.

Հ. Գ. ԲԱՏԻԿՅԱՆ, ՅՈՒ. Ա. ՄԱԳԱԿՅԱՆ, ՉԱՆ ՎԱՆ ՄԻՆ

ՍՊԻՏԱԿՈՒՑԱՅԻՆ ՏԻ ԽՄԲԵՐԻ ԽՏՈՒԹՅԱՆ ԴԻՆԱՄԻԿԱՆ ՊՐՈՒԻՖԵՐԱՑԻՍՅԻ
ՀԱՆԴԵՊ ԽԹԱՆՎԱԾ ՄԱՐԴՈՒ ԼԻՄՖՈՑԻՏՆԵՐԻ ԿՈՒԼՏՈՒՐԱՅԻ ՄԵՋ ՆՈՐՄԱՅՈՒՄ
ԵՎ ՄՈՒՏԱԳԵՆԻ ՈՒ ՊՐՈՏԵԿՏՈՐԻ ԱՋԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ՏԱԿ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Կատարվել է համակենտրոնացած սպիտակուցային սուլֆհիդրիլային խմբի դինամիկայի ցիտոսպեկտրոֆոտոմետրիկ հետազոտություն՝ մարդու

լիմֆոցիտների կուլտուրայի մեջ ներմուծելով ՖԳԱ, նորմալում և տիոՏէՖ-ի ԱՊԱէՏՖ-ի ազդեցության տակ: Ցույց է տրվել, որ պոլիֆերային կուլտուրային հատուկ SH խմբի խտության դինամիկան փոփոխվում է ԱՊԱէՏՖ պրոտեկտոր ներմուծելիս: Դրա վկայությունն է միթոտիկ ցիկլում պաշտպանական նյութերի գործողությունների նկատմամբ զգայուն կետերի առկայությունը:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Арутюнян Р. М., Кулеиов Н. П. Генетика, 8, 4:148—153, 1972.
2. Бар Г. Введение в количественную цитохимию. М., 373—387, 1969.
3. Граевский Э. Я. Сульфгидрильные группы и радиочувствительность. М., 1969.
4. Мендельсон М. Введение в количественную цитохимию. М., 167—195, 1969.
5. Смирнова И. Б. Онтогенез. 4, 5, 443—452, 1973.
6. Сумаруков Г. В. Физико-химия лучевого поражения. М., 115—123, 1969.
7. Торчинский Ю. М. Сульфгидрильные и дисульфидные группы белков. М., 1971.
8. Barron E. S. G., Dickman S. J. gen. physiol., 32:595—605, 1949.
9. Eldjarn L., Pihl A. In: Mechanisms in radiobiology. N. Y.: 231—296; 1960.
10. Ohara H., Terasima T. Exper. cell res., 58, 1:182—185, 1969.
11. Ord M. G., Stocken L. A. Nature, 200, 136—138, 1963.
12. Watanabe J., Okada S. Rad. res., 27, 2:290—306, 1966.