

ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ ГИСТОНОВ МОЗГА БЕЛЫХ КРЫС
ПОСЛЕ ОДНОСТОРОННЕГО УДАЛЕНИЯ ВЕРХНЕГО
ШЕЙНОГО СИМПАТИЧЕСКОГО УЗЛА

Э. Е. МХЕЯН, К. М. КОЧАРЯН, А. С. КИРАКОСОВА

В последние годы выявлена роль изменения структуры гистонов (фосфорилирования, ацетилирования, метилирования) в регуляции процессов транскрипции [2, 4, 5, 8]. Фосфорилирование гистонов, как известно, осуществляется в клетке протеинкиназами, которые являются ключевыми звеньями на путях биологической регуляции. Каталитическая активность протеинкиназ осуществляется при переносе фосфатного остатка с АТФ на гидроксильную группу серина или треонина различных белковых субстратов, в том числе и гистонов. Исключительную важность приобретает процесс фосфорилирования гистонов в свете новейших достижений в изучении роли ц-АМФ в функции организма и клетки [1, 7]. Большинство эффектов, вызываемых ц-АМФ, согласно Грингарду и др., связано со стимуляцией ц-АМФ-зависимых протеинкиназ [13].

В настоящее время накоплен большой фактический материал относительно фосфорилирования отдельных фракций гистонов в клетке [15]. По способности фосфорилироваться гистоны клеток разделяются на две основные группы— F_1 и все остальные [11]. Исследованиями ряда авторов установлено [15], что увеличение фосфорилирования F_1 -гистона на 50% значительно стимулирует матричную активность комплекса ДНК— F_1 в РНК-полимеразной системе, что говорит о том, что фосфорилирование гистонов приводит к уменьшению их способности тормозить матричную активность ДНК.

Нами установлено, что в разные сроки после удаления верхнего шейного симпатического (ВШС) узла имеет место заметное изменение как общего количества, так и фракционного состава гистонов, а также включение ^{14}C -лизина в тотальные гистоны [3].

В данной работе мы задались целью исследовать, имеются ли какие-либо изменения в фосфорилировании гистонов, выделенных из мозга крыс в разные сроки после удаления ВШС узла.

Материал и методика. Опыты ставились на белых крысах обоего пола массой 150—200 г, которые содержались на обычном пищевом рационе. ВШС узел справа

удаляли под легким эфирным наркозом. О достоверности удаления узла судили по проявлению энтофтальма и сужению глазной щели. Ядра и гистоны выделяли и экстрагировали по методам, описанным ранее [3, 10]. ц-АМФ-зависимая протеинкиназа была получена нами из мозга быка по методу Грингарда и соавт. [13]. Инкубационная смесь общим объемом 0,2 мл содержала следующие компоненты (мкмоль): трис-НСI-буфер (рН 7,4)—10, хлористый магний—2, дитиотрейтол—0,2, теofilлин—0,4, ЭГТА—0,06, ц-АМФ—0,5, 50 мкг гистонов мозга крыс, соответствующее количество фермента и 5 мкмольей (γ -P³²)—АТФ (от 1 до 5·10⁵ имп/мин). Смесь инкубировали на водяной бане при 20° в течение 5 мин. Для подсчета радиоактивности белок окончательно растворяли в 0,1 N NaOH. Подсчет проводили в жидкостном сцинтилляционном счетчике марки «Интертекник», Франция, типа LS 40. За единицу ферментативной активности принимали такое количество фермента, которое переносит 1 пикомоль P³² от (γ -P³²)—АТФ на белок за 5 мин при 30° в стандартной системе. Белок определяли по методу Лоури и соавт. [14].

Результаты и обсуждение. Изучение фосфорилирования тотальных гистонов головного мозга белых крыс после правостороннего удаления ВНС узла протеинкиназой из бычьего мозга показало, что степень фосфорилирования гистонов в обеих половинах закономерно снижается и на 7-е сутки составляет 26% от исходного уровня, причем не наблюдается разницы между десимпатизированной и симпатизированной половинами (табл.).

Таблица

Фосфорилирование тотальных гистонов мозга белых крыс в разные сроки после одностороннего удаления ВНС узла, пикомоли включенного P³²

Группы	Контроль	1 сутки		3 суток		7 суток	
		правая половина	левая половина	правая половина	левая половина	правая половина	левая половина
		Протеинкиназа					
+ц-АМФ	136±4,8	105±6,2	112±3,2	101±5,2	100±1,7	99±4,5	101±5,6
-ц-АМФ	49±1,8	47±1,9	45±1,7	49±2,4	44±2,0	49±2,6	49±0,5
-ц-АМФ	0,36	0,46	0,4	0,49	0,43	0,5	0,49
+ц-АМФ							

Интересно то, что падение активности происходит за счет подавления протеинкиназы, активированной ц-АМФ, что дает основание полагать, что десимпатизация не влияет на каталитический центр фермента, а изменяет ц-АМФ-зависимый центр, т. е. регуляторный. Приведенные данные, как нам кажется, могут в определенной мере рассмагиваться в качестве прямого доказательства адаптационного действия симпатической нервной системы, так как регуляторная роль ц-АМФ как вторичного внутриклеточного мессенджера не вызывает сомнения. Вычисленные индекс $\frac{-\text{ц-АМФ}}{+\text{ц-АМФ}}$ подтверждает аналогичное заключение—индекс достоверно повышается за счет уменьшения ц-АМФ-зависимой протеинкиназы.

Общий вывод из полученных результатов заключается в том, что десимпатизация угнетает фосфорилирование гистонов.

Как уже отмечалось, фосфорилирование гистонов является одним из важных механизмов регулирования процессов, протекающих в хрома-

тине. Исследования ряда авторов показали важную роль фосфорилирования отдельных фракций гистонов во всех фазах клеточного цикла как делящихся, так и дифференцированных клеток [12]. Максимальное фосфорилирование гистона, в частности—F₁, обнаруживается во время митоза. Авторы считают, что фосфорилирование F₁-гистона имеет большее значение для поддержания структуры митотических хромосом. Фосфорилирование богатых аргинином гистонов может иметь непосредственное отношение к конденсированию хромосом.

Исключительно важное значение приобретают исследования ряда авторов, в которых показано, что фосфорилирование гистонов приводит к изменению заряда лизинбогатых гистонов, конформационным изменениям в ДНК и тем самым регуляции биосинтеза белка [9].

Несмотря на то, что наши данные относятся только к фосфорилированию тотальных гистонов, однонаправленность этих данных свидетельствует о том, что десимпатизация приводит к нарушению ДНК-гистон взаимодействия [6], что не может не оставить свой след на синтезе РНК и белков нервных клеток.

Таким образом, трофическое действие симпатической нервной системы, по-видимому, реализуется через регуляцию фосфорилирования ядерных белков.

Ереванский медицинский институт,
кафедра общей и клинической химии

Поступило 12.III 1980 г.

**ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ՈՒՂԵՂԻ ՀԻՍՏՈՆՆԵՐԻ ՖՈՍՓՈՐԻԼԱՑՈՒՄԸ
ՎԵՐԻՆ ՍԻՄՓԱԹԻԿ ՀԱՆԳՈՒՅՅԻ ՄԻԱԿՈՂՄԱՆԻ
ՀԵՌԱՑՈՒՄԻՅ ՀԵՏՈ՝ ՏԱՐԲԵՐ ԺԱՄԿԵՏՆԵՐՈՒՄ**

Է. Ե. ՄԻՅՅԱՆ, Կ. Մ. ՔՈՉԱՐՅԱՆ, Ա. Ս. ԿԻՐԱՍՈՒՎԱ

Ուսումնասիրվել է առնետների ուղեղի բջիջների տոտալ հիստոնների ֆոսֆորիլացումը վերին սիմպաթիկ հանգույցի հեռացումից հետո՝ տարբեր ժամկետներում:

Հաստատվել է, որ ուղեղի երկու կիսագնդերում տոտալ հիստոնների ֆոսֆորիլացման աստիճանը օրինաչափ և հավասարապես իջնում է: Ֆոսֆորիլացման իջեցումը 7-րդ օրը կազմում է սկզբնական մակարդակի 26% -ը:

— ցիկլ ԱՄՑ
Նկատվել է $\frac{-\text{ցիկլ ԱՄՑ}}{+\text{ցիկլ ԱՄՑ}}$ ինդեքսի բարձրացումը՝ առաջին իսկ օրից սկսած:

Այս փաստերը վկայում են սիմպաթիկ ներվային սիստեմի ուղեղի վրա ունեցած ադապտացիոն ազդեցության մասին:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Дорофеев Г. И., Кожемякин Л. А., Ивашкина В. Т. Циклические нуклеотиды и адаптация организма. Л., 1978.
2. Клименко А. И., Мальшев А. Б., Никитин В. Н., Смиренко Л. А. Биохимия, 40, 5, 1087, 1975.
3. Мхоян Э. Е., Кочарян К. М. Вопросы биохимии мозга, 13, 133, 1978.
4. Паносян Г. А. Биолог. ж. Армении, 20, 8, 1967.

5. Паносян Г. А. Структура и функция гистонов. Ереван, 1978.
6. Паносян Г. А. Биолог. ж. Армении, 30, 10, 62, 1977.
7. Циклические нуклеотиды. Под ред. Северина С. Е., М., 1979.
8. *Allfrey V. G., Faulkner R., Mirsky A. F.* Proc. Natl. Acad. Sci. US., 51, 786, 1964
9. *Adler A. J., Fasman G. D.* J. Phys. chem., 75, 1516, 1971.
10. *Diugmau G., Sporn B.* J. Biol. chem., 239, 3483, 1964.
11. *Gurley L. R., Walter R. A.* Biochemistry, 14, 364, 1966.
12. *Gurley L. R., Walter R. A.* J. Cell., Biol., 60, 356, 1974.
13. *Kuo J. E., Grogard P. J.* J. Biol. chem., 245, 4067, 1970.
14. *Lowry O. H., Rosebrough N. J.* J. Biol. chem., 193, 265. 1951.
15. *Ord M. G., Stocken J. A.* Biochem. J., 11, 81, 1969.