

ИССЛЕДОВАНИЕ ХРОМАТИНА И ЕГО КОМПОНЕНТОВ  
ПРИ ГОЛОДАНИИ

М. А. ДАВТЯН, Р. Р. КАЗАРЯН

Изучение механизмов регуляции катаболических ферментов является одной из кардинальных проблем современной биохимии. Ранее нами [4, 6] были подробно исследованы флуоресцирующие свойства хроматина и его компонентов как в норме, так и при гормональной индукции. При этом было показано, что при индукции (гидрокортизоном) аргиназы и ряда других катаболических ферментов [5, 14, 15, 18] изменяется максимум спектра эмиссии хроматина при 340 нм, обусловленный триптофановой флуоресценцией [6] (сдвиг в ультрафиолетовую область с подавлением квантового выхода флуоресценции), а в области волны возбуждения 230—270 нм обнаруживаются новые флуоресцирующие комплексы в пределах спектра эмиссии 330—485 нм [4].

В настоящей работе мы задались целью исследовать флуоресцентные свойства хроматина и его компонентов, выделенных из печени белых крыс при голодании, вызывающем в печени животных индукцию ферментов синтеза мочевины и других катаболических ферментов [2, 3, 10, 12, 19].

*Материал и методика.* В экспериментах использовались белые крысы массой 130—150 г. Хроматин из печени получали после предварительного выделения ядер и последующей очистки ядерной фракции через слой 2.2М сахарозы, описанной в работе Шово и др. [11]. Гистоны получали по известному в литературе методу [1, 7] — гистоновые белки — по методу Маруинге и др. [17]. Все этапы получения хроматина и его компонентов описаны ранее [4]. В экспериментах использовался также хроматин, выделенный из печени крыс после 5-дневного голодания без ограничения воды. Спектры возбуждения и эмиссии регистрировались на флуоресцентном спектрофотометре MRF-2A фирмы «Hitachi» (Япония), в кварцевых прямоугольных высокочувствительных кюветках, при комнатной температуре (SS-5, SS-6).

*Результаты и обсуждение.* Известно, что при голодании крыс (5—7 дней) ферменты орнитинового цикла в печени активируются (примерно на 300%) и соответственно усиливается экскреция мочевины. Длительное голодание усиливает белковый катаболизм, в частности, в печени на 30—40% снижается содержание общего белка. Происходящая в данном случае индукция как аргиназы, так и других ферментов орни-

тинового цикла, очевидно, обусловлена влиянием продуктов белкового распада [2, 3, 10, 12, 19].

Исследование хроматина, выделенного из печени крыс после 5-дневного голодания, показало, что он имеет один максимум спектра возбуждения при 295 нм и один максимум спектра эмиссии при 330 нм (рис. 1). По спектру возбуждения он аналогичен нативному хроматину, с той лишь разницей, что основной флуоресцирующий комплекс хроматина, обусловленный триптофанильными остатками [6], несколько сдвигается в ультрафиолетовую область после голодания животных. При этом незначительно подавляется квантовый выход флуоресценции. Аналогичный сдвиг в ультрафиолетовую область максимума спектра эмиссии хроматина наблюдался также при гормональной индукции [4].

В последующих сериях экспериментов мы подвергали более детальному флуоресцентному анализу препарат хроматина, полученного после голодания животных, на всех длинах волн энергии активации. Как показали исследования, в области длин волн возбуждения 230—270 нм обнаруживаются аналогичные наблюдаемым при гормональной индукции качественные конформационные изменения в структуре хроматина с проявлением новых флуоресцирующих комплексов в пределах спектра эмиссии 330—485 [4].

Как при гормональной индукции [4], так и при голодании животных обнаруживается аналогичный сигнал в флуоресцентных характеристиках хроматина, свидетельствующий об улавливании тонких изменений в структуре генетического аппарата клетки, претерпеваемых при индукции аргиназы и ряда других катаболических ферментов.

Флуоресцентный анализ гистонов, полученных из хроматина, выделенного после голодания крыс, показал, что они имеют один максимум спектра возбуждения при 295 нм и один максимум спектра эмиссии при 330 нм. Как видно из рис. 2, оба максимума спектров флуоресценции нативных гистоновых белков значительно сдвигаются в длинноволновую область, при этом квантовый выход флуоресценции снижается. Представляет определенный интерес обусловленность максимума спектра эмиссии гистонов при 330 нм остатками тирозинилов и триптофанилов. Для объяснения основного флуоресцирующего комплекса гистоновых белков, образующегося как при гормональной индукции [4], так и при голодании крыс, необходимы новые исследования, что выходит за пределы задач данной работы.

Итак, при гормональной индукции [4], как и при голодании крыс, гистоновые белки претерпевают определенные изменения в максимумах спектров возбуждения и эмиссии, на остальных же длинах волн энергии активации других изменений у гистонов, полученных из хроматина печени крыс после голодания, не обнаруживалось.

Исследование негистоновых белков, полученных из хроматина после голодания животных, показало, что оба максимума спектров эмиссии их, обусловленные триптофановой и тирозиновой флуоресценцией, претерпевают такие же качественные изменения с проявлением новых флу-

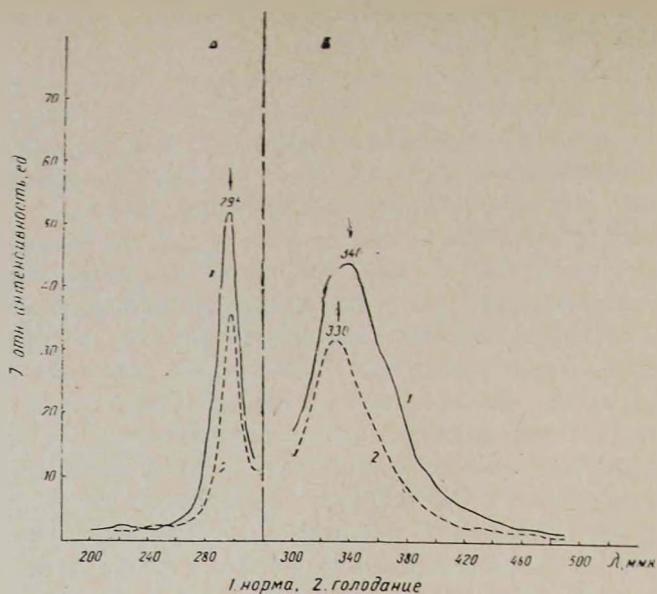


Рис. 1. Спектры возбуждения (А) и эмиссии (Б) хроматина, выделенного из печени белых крыс. Ширина щелей монохроматоров возбуждения и эмиссии—4 нм. 1. Нативный хроматин, разбавленный  $\times 20$  в  $1 \times 10^{-3}$  М трис-НСl буфере, рН 8; 2. Хроматин, полученный при голодании, разбавленный  $\times 20$  в  $1 \times 10^{-3}$  М трис-НСl буфере, рН 8.

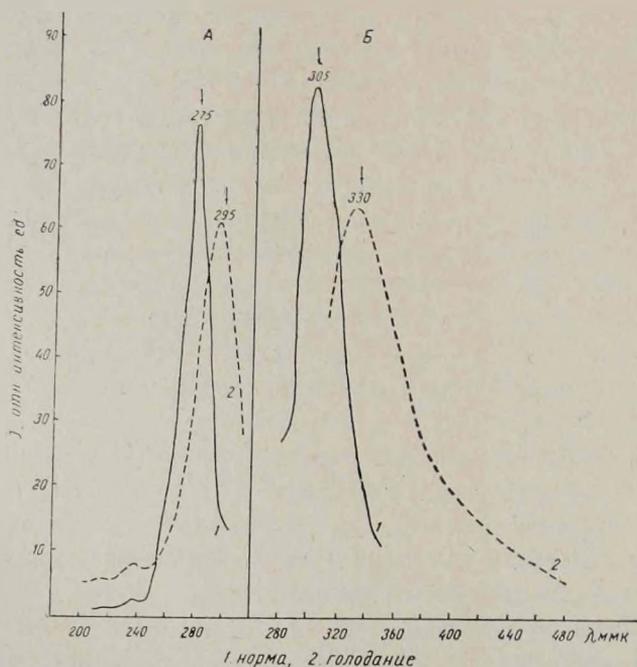


Рис. 2. Спектры возбуждения (А) и эмиссии (Б) гистонов. Ширина щелей монохроматоров возбуждения и эмиссии—5 нм. 1. Нативный гистоновый белок; 2. Гистон, полученный из хроматина при голодании.

оресцентных комплексов в пределах спектра эмиссии 330—470 и 318—390 нм, какие наблюдались у негистоновых белков, полученных из индуцированного хроматина [4].

Таким образом, структура негистоновых белков претерпевает определенные конформационные изменения, что, несомненно, свидетельствует об огромной роли кислых компонентов генетического материала клетки в механизмах ферментативной индукции.

На основании полученных данных можно заключить, что как при гормональной индукции гидрокортизоном [4], так и при голодании крыс, когда продукты белкового распада вызывают индукцию аргиназы и ряда других катаболических ферментов [2, 3, 10, 12, 19], наблюдаемые качественные изменения флуоресцентной характеристики хроматина (изменение интенсивности, сдвиги в коротковолновую область, появление новых флуоресцирующих комплексов) отражают претерпеваемое при этом изменение как гистонов, так и кислых компонентов хроматина.

Треванский государственный университет,  
кафедра биохимии

Поступило 22.VI 1979 г.

### ՔՐՈՄԱՏԻՆԻ ԵՎ ՆՐԱ ԿՈՄՊՈՆԵՆՏՆԵՐԻ ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅՈՒՆԸ ՔԱՂՅԻ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ

Մ. Ա. ԴԱՎԹՅԱՆ, Ռ. Ռ. ՂԱԶԱՐՅԱՆ

Կատարված է քրոմատինի և նրա կոմպոնենտների հետազոտությունը՝ էներգիայի տարբեր ալիքների երկարության ակտիվացման պայմաններում: Վաղից հետո առնետների լյարդից ստացված քրոմատինի ֆլուորեսցենտային ցուցանիշներում հայտնաբերվել են որակական փոփոխություններ՝ ֆլուորեսցենտային նոր կոմպլեքսների ձևով, գրգռման ալիքների 230—270 նմ շրջանում, էմիսիայի սպեկտրի 330—485 նմ սահմաններում: Նույնանման կոմպլեքսներ առաջանում են և ոչ հիստոնային սպիրտակուցների մեջ:

### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Арбузова Г. С., Грязнова Н. И., Морозова Т. М., Салганчик Р. Н. Молекулярная биология, 2, 3, 1968.
2. Бацурова Я., Шорм Ф. Биохимия, 21, 397, 1956.
3. Давтян М. А. Докт. дисс., Ереван, 1970.
4. Давтян М. А., Казарян Р. Р., Демин Ю. М. Биолог. ж. Армении, 32, 1, 1979.
5. Давтян М. А., Петросян Л. А. Биолог. ж., Армении, 23, 5, 1970.
6. Казарян Р. Р., Демин Ю. М., Тираццян С. Г., Манвелян А. Г. Биолог. ж. Армении, 21, 7, 1978.
7. Лавриенко И. А., Морозова Т. М., Юшкова Л. Ф. Молекулярная биология, 5, 1, 1971.
8. Agreel J. P. S., Christensson E. G. Nature, 207, 638, 1965.
9. Agreel J. P. S., Christensson E. G. Nature, 191, 284, 1961.
10. Baldwin E. H. F. Dynamic aspects of biochemistry. 313, 3rd ed., Cambridge, 1957.
11. Chauveau J., Moule Y., Roujilier C. Exptl. Cell Res., 11, 317, 1956.
12. Cortina P. and Pestana A. Rev. Exp. Fisiol., 22, 11, 1966.
13. Dishe Z. Microchimie, 8, 9, 1930.

14. Grillo M. A. *Clinica Chimica Acta*, 10, 259, 1964.
15. Kochakian C. D. *Mechanisms of hormone action*. 256, Edit. by P. Karlson. Academic Press, N. Y. and London, 1955.
16. Lowry D. U., Rosenbrough N. S. *et al.* *J. Biol. Chem.*, 193, 265, 1951.
17. Marushige K., Brutlag D. *Bonner J. Biochemistry*, 7, 9, 3149, 1968.
18. Schimke R. T. *J. Biol. Chem.*, 138, 1012, 1963.
19. Schimke R. T. *J. Biol. Chem.*, 237, 1921, 1962a.