

ИССЛЕДОВАНИЕ КОМПОНЕНТОВ ХРОМАТИНА ПРИ
ВЫСОКОБЕЛКОВОЙ ДИЕТЕ И ВВЕДЕНИИ СМЕСИ
АМИНОКИСЛОТ

Р. Р. КАЗАРЯН, М. А. ДАВТЯН

Ключевые слова: гистоны, негистоновые белки, флуоресценция, спектроскопия.

Высокобелковая диета и введение смеси аминокислот вызывают индукцию аргиназы и других катаболических ферментов печени животных путем усиления белкового катаболизма [12, 16]. Ранее с помощью метода флуоресцентной спектроскопии нами были выявлены качественные конформационные изменения структуры хроматина при голодании, высокобелковой диете, введении смеси аминокислот, а также при гормональной индукции как *in vivo*, так и в модельных экспериментах *in vitro* [3—5, 6—9]. Были также исследованы компоненты хроматина (гистоны, негистоновые белки) при гормональной индукции и голодании животных. При этом было выявлено, что в обоих случаях положение максимума спектра эмиссии у гистонов сдвигается в длинноволновую область (330 против 305 нм), а у кислых белков обнаруживаются конформационные изменения в структуре с проявлением новых флуоресцирующих комплексов в пределах спектров эмиссии 318—390 и 330—470 нм [3, 4].

В настоящей работе приводятся результаты исследования флуоресцирующих свойств компонентов хроматина при высокобелковой диете и введении смеси аминокислот, вызывающие индукцию аргиназы и ряда других ферментов аминокислотного обмена, присутствующих в печени животных [12, 16].

Материал и методика. В экспериментах использовались белые крысы массой 120—150 г. Хроматин получали с предварительным выделением ядер [3], гистоны и негистоновые белки—по описанным в литературе методам [1, 10, 15]. Диету проводили по методике Шимке [16], применяемой нами ранее [7]. Аминокислоты вводили по Мясеодовой [12]. Флуоресцентный анализ компонентов хроматина проводили на флуоресцентном спектрофотометре МРФ-2А фирмы «Hitachi», Япония, в кварцевых прямоугольных кюветах при комнатной температуре, с высокой чувствительностью прибора (SS-5, SS-6). Для изменения pH среды использовали 0,1 N HCl и 2,5 N NH₄OH.

Результаты и обсуждение. Исследование компонентов хроматина, выделенного после высокобелковой диеты и введения смеси аминокис-

кислот, вновь выявило характерные для состояния индукции флуоресцентные изменения, наблюдаемые также у гистонов и негистоновых белков, полученных из индуцированного (гидрокортизоном) хроматина, а также при голодании животных, т. е. при всех вышеперечисленных факторах, при которых вызывается энзиматическая индукция генома, у гистоновых белков на всех длинах волн энергии активации наблюдается резкое смещение максимума спектра эмиссии при 305 нм, обусловленного тирозиновой флуоресценцией, в длинноволновую область с подавлением квантового выхода флуоресценции (330 нм), а у негистоновых белков обнаруживаются конформационные изменения в структуре с проявлением новых флуоресцирующих комплексов в пределах спектра эмиссии 318—390 и 330—470 нм [3, 7]. По-видимому, в механизме индукции аргиназы и других катаболических ферментов печени животных важную роль играют кислые компоненты генетического аппарата клетки.

Представляет определенный интерес отмеченная в наших экспериментах эмиссия при 330 нм у гистонов, полученных из хроматина, выделенного после гормональной (гидрокортизон) индукции, при голодании, высокобелковой диете и введении смеси аминокислот, обусловленная остатками тирозинилов или триптофанилов. Для этого нами изучалась эмиссия основного флуоресцирующего комплекса гистонов при различных значениях рН среды. При этом мы исходили из того положения, что при изменении рН среды максимум эмиссии спектра флуоресценции белков сохраняется на постоянном уровне (33 нм), если она обусловлена остатками только триптофанилов [2, 13]. Как показали исследования, постепенное изменение исходного рН в кислую сторону приводит к снижению квантового выхода флуоресценции, а положение максимума спектра флуоресценции у гистонов резко сдвигается в ультрафиолетовую область (305 против 330 нм), выявляя характерный спектр максимума эмиссии, наблюдаемого у нативных гистоновых белков (рис.). В то же время дальнейшее закисление, начиная с рН 3

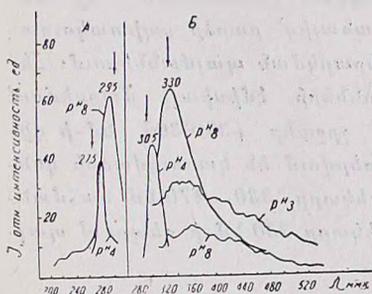


Рис. Влияние рН среды на спектры флуоресценции гистонов, полученных из хроматина, выделенного из печени животных после гормональной (гидрокортизон) индукции, при голодании, высокобелковой диете и введении смеси аминокислот. А—спектры возбуждения для максимума спектра эмиссии при 305 и 330 нм, Б—спектры эмиссии для максимума спектров возбуждения при 275 и 295 нм. Концентрация белка 0,05 мг/мл.

(рис.), приводит к необратимой кислотной денатурации структуры гистоновых белков. Таким образом, приведенные данные свидетельствуют о том, что основной флуоресцирующий комплекс гистонов при 330 нм, полученных из хроматина, выделенного при всех перечисленных факторах, вызывающих индукцию аргиназы, обусловлен остатками тирозинилов.

Следует отметить, что наблюдаемое в наших экспериментах смещение тирозинового комплекса в длинноволновую область (330 нм), т. е. в область, характерную для триптофанилов, обнаружили Кимура и Тинга [14] при изучении флуоресценции ферредоксина из коры надпочечников, а также Мардяня и др. [11] при исследовании различных ферредоксинов типа «в» животного и растительного происхождения.

Анализируя полученные данные, можно заключить, что наблюдаемое при индукции (гормональной, а также при голодании, высокобелковой диете или введении смеси аминокислот) смещение обоих максимумов спектров флуоресценции хроматина отражает изменение гистоновых белков, а проявление нового флуоресцирующего комплекса в пределах спектра эмиссии 330—485 нм отражает изменение кислых компонентов хроматина [3—5, 6—9]. Полученные данные свидетельствуют также о том, что при высокобелковой диете, а также введении смеси аминокислот, как хроматин, так и его компоненты индуцируются почти в такой же степени, что и при введении гидрокортизона или голодании [3—5, 7, 9]. Очевидно, утверждение Шимке [16] о том, что адаптация аргиназы при голодании или высокобелковой диете обусловлена стабилизацией четвертичной структуры, а не истинной индукцией фермента, неправомерно.

Ереванский государственный университет,
кафедра биохимии

Поступило 15.VIII 1980 г.

**ՔՐՈՄԱՏԻՆԻ ԿՈՄՊՈՆԵՆՏՆԵՐԻ ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅՈՒՆԸ ԲԱՐՁՐ
ՍՊԻՏԱԿՈՒՑԱՅԱՅԻՆ ԴԻԵՏԱՅԻ ԵՎ ԱՄԻՆԱԹՔՈՒՆԵՐԻ ԽԱՌՆՈՒՐԴԻ
ՆԵՐԱՐԿՄԱՆ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ**

Բ. Բ. ՂԱԶԱՐՅԱՆ, Մ. Ա. ԴԱՎԹՅԱՆ

Կատարված է կենդանիների լյարդից ստացված հիստոնների և ոչ հիստոնային սպիտակուցների ֆլուորեսցենսային անալիզ՝ բարձր սպիտակուցային դիետայի և ամինաթթուների խառնուրդի ներարկման պայմաններում: Հետազոտությունները ցույց են տվել, որ հիստոնների էմիսիայի մաքսիմում սպեկտրը թեքվում է ուլտրամանուշակագույն շրջանը (330-305 նմ-ի դիմաց), իսկ թթու սպիտակուցների մեջ հայտնաբերվում են կառուցվածքի կոնֆորմացիոն փոփոխություններ էմիսիայի սպեկտրի 330—470 նմ սահմաններում: Հիստոնների էմիսիայի մաքսիմում սպեկտրը 330 նմ-ի ղեպքում պայմանավորված է թիրոզինի ֆլուորեսցենցիայով:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Арбузова Г. С., Грязнова И. М., Морозова Т. М., Салганик Р. И. Молекулярная биология, 2, 3, 1968.
2. Веденкина Н. С., Бурштейн Э. А., Готберг Ш. И. Механизмы мышечного сокращения, 4, М., 1972.
3. Давтян М. А., Казарян Р. Р., Демин Ю. М. Биолог. ж. Армения, 32, 1, 1979.

4. Давтян М. А., Казарян Р. Р. Биолог. ж. Армении, 33, 8, 1980.
5. Давтян М. А., Казарян Р. Р. Биолог. ж. Армении, 33, 11, 1980.
6. Казарян Р. Р., Демин Ю. М., Тирацунян С. Г., Манвелян А. Г. Биолог. ж. Армении, 31, 7, 1978.
7. Казарян Р. Р., Давтян М. А. Биолог. ж. Армении, 32, 8, 1979.
8. Казарян Р. Р., Демин Ю. М., Давтян М. А. Биолог. ж. Армении, 32, 12, 1979.
9. Казарян Р. Р., Давтян М. А. Биолог. ж. Армении, 32, 12, 1979.
10. Лавриненко И. А., Морозова Т. М., Юшкова Л. Ф. Молекулярная биология, 5, 1, 1971.
11. Марданян С. С., Демин Ю. М., Налбандян Р. М. Биохимия, 6, 1024, 1977.
12. Мясоедова К. Н. Биохимия, 31, 182, 1966.
13. Юденфренд С. Флуоресцентный анализ в биологии и медицине, 192, М., 1965.
14. Kimura T., Ting J. Biochem. and Biophys. Res. Commun., 45, 1227, 1971.
15. Marushige K., Brutlag D., Bonner J. J. Biochemistry, 79, 3149, 1968.
16. Schlmke R. T. J. Biological Chem., 237, 1921, 1962; 238, 1012, 1963.