

4. Шехоян В. А., Геворкян М. И., Аветикян М. Б., Товмасын В. М. и др. Тез. докл. II Всесоюзн. симп. по физиологии иммунного гомеостаза. Ростов-Дон, 177, 1977.
5. Шехоян В. А., Геворкян М. И., Товмасын В. С. Биолог. ж. Армении, 32, 5, 468, 1979.
6. Bralastewich A. A., Suppner H., Dich V., Hesch K. D. Biochem. et Biophys. acta, 584, 4, 467, 1979.
7. Edwards D. T., Mekoř T. et al. J. Endocrinol., 71, 2, 83, 1976.
8. Swierenga Sh. H., Mac Manus J. P. et al. J. Immunol., 117, 5, 1606, 1976.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXVII, № 9, 1984

## КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 577.175.522.085

### ИССЛЕДОВАНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ХРОМАТИНА КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

Р. Р. ҚАЗАРЯН, Р. В. АГУЗУМЦЯН

*Ключевые слова:* хроматин, гистоны, негистоновые белки, флуоресцентная спектрофотометрия.

В настоящей работе приводятся результаты изучения хроматина и его компонентов, полученных из крови человека с помощью разработанного нами ранее метода флуоресцентной спектроскопии [2].

*Материал и методика.* Объектом исследования являлась кровь человека. Хроматин получали без предварительного выделения ядер по методу Боннера и сотр. с некоторой нашей модификацией, описанной ранее [2]. Белок определяли по Лоурн [7], ДНК—по Дише [6], РНК—спектрофотометрически, после гидролиза 1N HClO<sub>4</sub>. Спектральные характеристики снимали на спектрофотометре СФ-16. Выделенный препарат имел следующие спектральные характеристики:  $A_{230/260}$ —0,86,  $A_{280/260}$ —0,69,  $A_{320/260}$ —0,065, отношение белок/ДНК равнялось 3,05:1,76, РНК/ДНК—0,13:1,2. Гистоны и негистоновые белки (НГБ) выделяли по описанным в литературе методам [1, 8]. Флуоресцентный анализ проводили спектрофотометром МРФ-2А фирмы «Hitachi» (Япония) в кварцевых прямоугольных кюветах при комнатной температуре с чувствительностью прибора SS-5, SS-6. Для устранения градиента температуры раствор в кювете перемешивался механической стеклянной мешалкой. Диссоциация хроматина проводилась с помощью 2M NaCl. Для изменения рН среды использовали 0,1 N HCl и 2,5 N NH<sub>4</sub>OH.

*Результаты и обсуждение.* Результаты исследований показали, что выделенный хроматин имеет максимум спектра возбуждения при 288 нм с максимумом спектра эмиссии 330 нм, т. е. выявляется, по-видимому, характерная для триптофанилов флуоресценция, при которой максимумы спектров возбуждения и эмиссии несколько сдвинуты в коротковол-

новую область [3] (рис. 1). Сравнительный анализ с основным флуоресцирующим комплексом печеночного хроматина крыс показал, что максимум спектра флуоресценции хроматина крови человека сдвинут на 10 нм в ультрафиолетовую область со снижением квантового выхода флуоресценции на 15—18%. Исследование гистоновых белков и НГБ

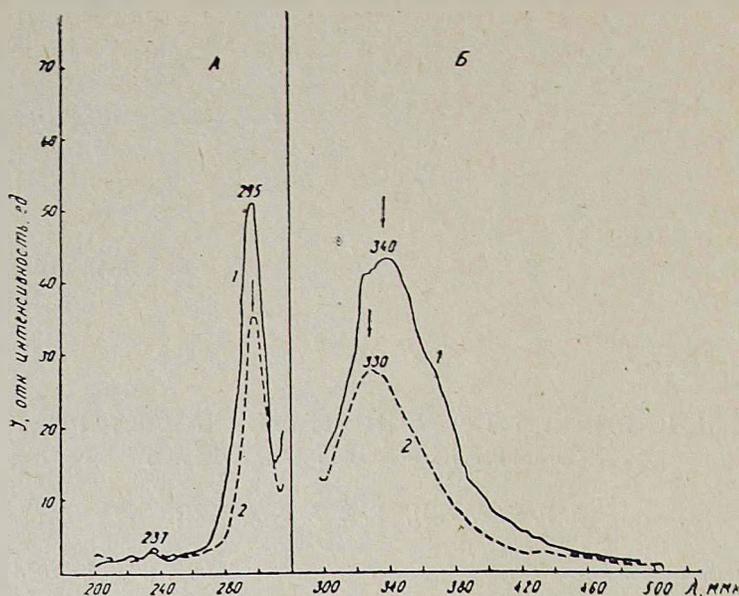


Рис. 1. Спектры возбуждения и эмиссии (А), (Б) хроматина. Концентрация белка—0,15 мг/мл. Ширина щелей монохроматоров возбуждения и эмиссии—5 нм. 1. Хроматин, полученный из печени белых крыс. 2. Хроматин, полученный из крови человека.

выявило флуоресценцию, характерную для тирозинилов и триптофанилов, с максимумами спектров эмиссии соответственно при 303 и 350 нм [2].

Определенный интерес представляет отмеченная в наших экспериментах эмиссия хроматина при 330 нм остатками тирозинилов или триптофанилов. Для этого нами изучалась эмиссия основного флуоресцирующего комплекса хроматина при диссоциации, когда в определенных условиях ионной среды образуются свободные участки ДНК, в результате перераспределения связанные с ДНК пистонов, а также при различных значениях рН среды. При этом мы исходили из того положения, что при диссоциации и изменении рН среды максимум эмиссии спектра флуоресценции белков сохраняется на постоянном уровне (330 нм), если она обусловлена остатками только триптофанилов [5]. Как показали исследования, диссоциация и постепенное изменение рН среды в кислую сторону приводят к снижению квантового выхода флуоресценции, не вызывая, однако, качественных перестроек в положении максимума спектра флуоресценции и выявляя основной флуоресцирующий комплекс при 330 нм (рис. 2). Однако у печеночного хроматина крыс дальнейшее закисление среды, начиная с рН 3, приводило к необратимой

кислотной денатурации структуры хроматина с дальнейшим погашением основного флуоресцирующего комплекса [3].

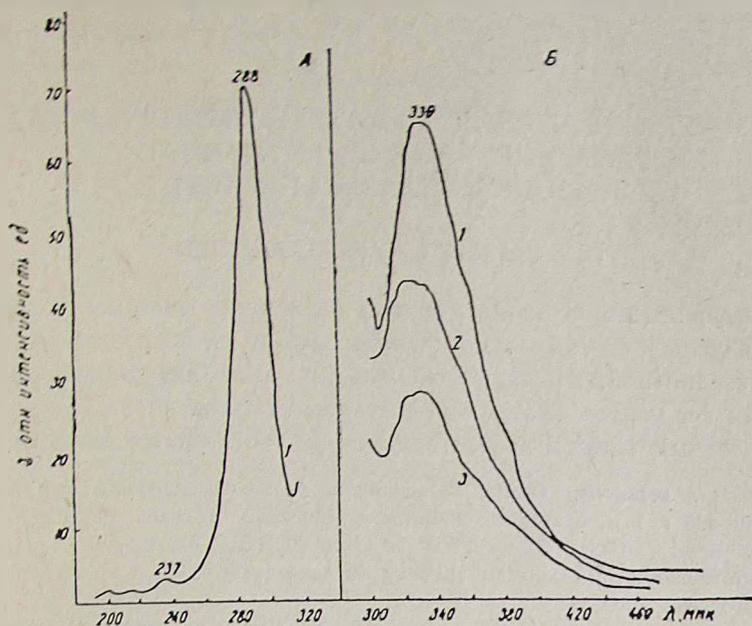


Рис. 2. Флуоресценция диссоциированного хроматина, полученного из крови человека. А—спектр возбуждения для максимума эмиссии  $E_m W=330$  нм. Б—спектры эмиссии при длине волны возбуждения  $E_x W=288$  нм. Ширина щелей монохроматоров возбуждения и эмиссии—5 нм. 1. pH 8, 2. pH 3, 3. pH 1.

Таким образом, приведенные данные не оставляют сомнения в том, что основной флуоресцирующий комплекс хроматина крови человека при 330 нм обусловлен остатками триптофанов.

Ереванский государственный университет,  
лаборатория инженерной психологии

Поступило 29.III 1984 г.

#### 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. Давтян М. А., Казарян Р. Р., Демин Ю. М. Биолог. ж. Армении, 32, 1, 1979.
3. Казарян Р. Р., Демин Ю. М., Тирацунян С. Г., Манвелян А. Г. Биолог. ж. Армении, 31, 7, 1978.
4. Скулачев В. П. В кн.: Аккумуляция энергии в клетке. М., 1969.
5. Юденфренд С. Флуоресцентный анализ в биологии и медицине, 192, М., 1965.
6. Dishe L. Microscopie, 8, 9, 1930.
7. Lowry D. U. et al. J. Biol. Chem., 193, 265, 1951.
8. Marushige K., Brutlag D., Bonner J. Biochemistry, 79, 3149, 1968.