

увеличения расстояния между аксиальными лигандными атомами кислорода двух симметричных карбоксильных групп по вертикальной оси Z и центральным атомом меди (II).

Такой эффект Яна-Теллера можно прямо наблюдать методом EXAFS спектроскопии [12] с использованием синхротронного излучения накопителя электронов на комплексах типа III.

ЛИТЕРАТУРА

1. Альтшулер С. А., Козырев Б. М. Электронный парамагнитный резонанс соединений элементов промежуточных групп, М., 1972.
2. Берсукер И. Б. Эффект Яна-Теллера и вибронные взаимодействия в современной химии, М., 1987.
3. Будников С. С., Дюк С. В., Чапурина Л. Ф., Берсукер И. Б., Дьяков И. А. Тез. докл. XV Всесоюзн. Чугаевск. совещ. по химии комплексных соединений, 3—5 сент., 212, Киев, 1985.
4. Кризе Е. Е., Григорьева А. С., Яцимирский К. Б. Журн. неорг. химии, 21, 175—181, 1976.
5. Кризе Е. Е., Гарницкая О. Г., Григорьева А. С., Коханович Н. Ф., Петренко Е. С., Физалко Ю. А. Хим.-фармац. журн., 17, 567—571, 1983.
6. Низова Н. А., Анюшина Г. М., Краснов В. П., Алексеева Л. В. Тез. докл. XV Всесоюзн. Чугаевск. совещ. по химии комплексных соединений, 3—5 сент., 451, Киев, 1985.
7. Трешалина Е. М., Коновалова Л. Л., Преснов М. А., Чапурина Л. Ф., Белачук Н. И., Дьяков И. А. Докл. АН СССР, 248, 1273—1275, 1979.
8. Чапурина Л. Ф., Дьяков И. А., Дюк С. В., Будников С. С. Проблемы современной биологической химии, Новосибирск, 1986.
9. Яцимирский К. Б. Теор. экпер. химии, 18, 643—647, 1982.
10. Яцимирский К. Б., Кризе Е. Е., Григорьева А. С. Докл. АН СССР, 221, 153—156, 1975.
11. Asaturian R. A. Gen. Physiol. Biophys., 5, 105—108, 1986.
12. Asaturian R. A., Avakian Ts. M., Ershov V. V., Aghev A. S., Kostov M. A. J. Physique, 47, C8—1205—1209, 1986.
13. Georgieff K. K. Science, 173, 437—439, 1971.
14. McDonald C. C., Phillip W. D. J. Amer. Chem. Soc., 85, 3736—3742, 1963.
15. McConnell H. I. Chem. Phys., 25, 709—711, 1957.
16. Rosenberg B., Camp L. V., Trovan J. E., Mansour V. N. Nature, 222, 385—386, 1969.

Поступило 22.VII 1987 г.

Биол. ж. Армения, т. 41, № 4, 1988

УДК 591.813:612.018

ИЗМЕНЕНИЯ В СОСТАВЕ БЕЛКОВ НЕКОТОРЫХ ЯДЕРНЫХ СТРУКТУР ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ГИДРОКОРТИЗОНА

Э. С. ГЕВОРКЯН, Ж. В. ЯВРОЯН, Г. А. ПАНОСЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биофизики

Изучен белковый состав ядерных мембран, фракции поровых комплексов и ядерного матрикса клеток печени крысы при воздействии гидрокортизона. Более существенные изменения в белковом составе наблюдаются во фракции поровых комплексов и ядерном матриксе. Примечательно, что гидрокортизон вызывает уменьшение содержания средней полосы ламин-

ной триады, универсальной для трех ядерных структур (А, В и С)-лампы В во всех изученных фракциях. Обсуждается возможная роль гормончувствительных белков ядерных структур в процессе гидрокортизоновой активации генома клеток печени крыс.

Ուսումնասիրվել է առնվազն յոթը բջիջների կորիզաբաղաձեռն անջրային կոմպլեքսներով ևարուստ ֆրակցիաներ և կորիզային մատրիքի սպիտակուցային կազմը ֆորոկորտիկոնի տզդեցության ժամանակ: Առավել էական շոգիտություններ սպիտակուցային կազմում եկազվել են կորիզային մատրիքի և անջրային կոմպլեքսներով ևարուստ ֆրակցիայում: Հետաքրքրական է, որ ֆորոկորտիկոնը առաջացրել է նրի կորիզային ստրուկտուրաների համար բնդհանուր լամինային (А, В և С) եռյակի միջին շերտի՝ В լամինի քանցում ուսումնասիրված բոլոր ֆրակցիաներում: Քննարկվել է կորիզային ստրուկտուրաների ֆորմոնզգայուն սպիտակուցների նարավոր զերր առնվազն յոթը բջիջներ ղենամի ֆորոկորտիկոնային ակտիվացման պրոցեսում:

The protein content of nuclear membranes, nuclear pore complexes and nuclear matrix fractions of rat liver cells during the hydrocortisone action has been investigated. More essential changes of protein content may be observed in nuclear pore complexes and nuclear matrix fractions. It is noteworthy that hydrocortisone causes decrease in the content of the middle band of lamines A, B, C — lamine B in all observed nuclear structures. The possible role of hormone-sensitive nuclear proteins in the processes of hydrocortisone activation of rat liver cell genome has been discussed.

Гидрокортизон—ламине—ядерная мембрана—ядерный матрикс—нижнее поровое комплекс.

Согласно классической модели механизма действия стероидных гормонов, стероид-рецепторные комплексы, образуясь в цитоплазме, трансформируются, активируются и проникают в ядро, где специфически и высокоаффинно взаимодействуют с его акценторными участками. В литературе имеются данные о наличии акценторных для стероидных рецепторов сайтов в хроматине и его фракциях [12], во фракции ДНК [4], ядерной мембране [9], рибонуклеопротеидной фракции ядра [13], ядерном матриксе [7]. Разноречивость этих данных объясняется как различиями в методических подходах, возможной межфракционной ковалентной связью белков при выделении, так и универсальностью определенных белковых фракций в различных ядерных структурах.

В настоящем сообщении сделана попытка выявить и сравнить изменения в белковом составе ядерной мембраны, фракции поровых комплексов и ядерного матрикса клеток печени крыс при гидрокортизоновой активации генома.

Материал и методика. Эксперименты проводили на беспородных белых крысах обоих пола. Гидрокортизон фирмы «Sigma» (США) вводили внутривенно в количестве 5 мг на 100 г массы животного. Животных забивали через 4 ч после введения гормона. Ядро и ядерные мембраны клеток печени крыс выделяли по описанному ранее методу [1], фракцию ядерных мембран, обогащенную поровыми комплексами, — методом [6]. Препараты ядерного матрикса получали по Березин и др. [5]. Содержание белка в полученных препаратах определяли методом Лоури и др. Электрофоретическое разделение белков указанных фракций проводили в системе додецилсульфат натрия—полиакриламидный гель [11]. Молекулярную массу белков определяли по методу Вебба и Осборна [15].

Результаты и обсуждение. На рис 1 представлены электрофореграммы фракционирования белков трех изученных ядерных структур печени крыс. В препаратах ядерных мембран обнаруживается 36 белковых зон, имеющих молекулярную массу в диапазоне 15—260 кД. Среди них можно выделить высокомолекулярные полипептиды, белки со средними значениями молекулярной массы и электрофоретической подвижност и низкомолекулярные, высокоподвижные полипептиды. Известно, что малоподвижные высокомолекулярные полипептиды ядерных мембран представлены в основном гликопротеидами, присущими данной мембранной структуре, а низкомолекулярные полипептиды—гистонподобными белками. Истинными ядерномембранными белками счи-

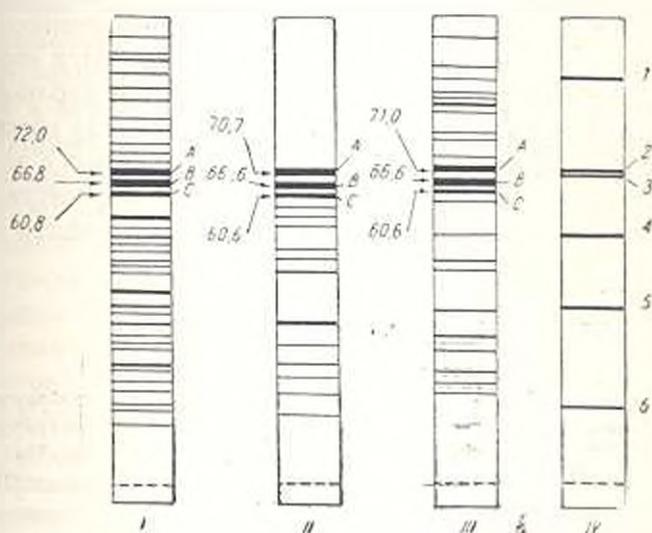


Рис. 1 Схематическое изображение электрофореграмм белков препаратов ядерных мембран (I), фракции поровых комплексов (II) и ядерного матрикса (III) клеток печени крыс. Стрелками указаны молекулярные массы (в кД) главных полипептидов ламинарной фракции—ламининов А, В, С. Справа приводится схематическое изображение электрофореграммы разделения стандартных белков для определения молекулярной массы: 1—эргиназа (м. м. = 140 кД), 2—бичий сывороточный альбумин (м. м. = 68 кД), 3—гемоглобин (м. м. = 67 кД), 4—яичный альбумин (м. м. = 45 кД), 5—трипси (м. м. = 23 кД), 6—РНКаз а (м. м. = 13 кД).

таются полипептиды со средней электрофоретической подвижностью, среди которых выделяются три полипептида с молекулярной массой 60—80 кД, называемые ламининами А, В и С [2]. Интерес к этим белкам обусловлен тем, что они входят в ламинарную фракцию, которая, с одной стороны, контактирует с хроматином, а с другой—с внутренней ядерной мембраной, в то же время представляет периферический участок ядерного матрикса. Вместе с тем ламинины А, В и С сильно гидрофобны и локализованы именно в поровых комплексах [8]. Наличие этих полипептидов как в составе фракции порового комплекса, так и в ядерном матриксе продемонстрировано также на рис. 1. Примечательно, что для препаратов ядерного матрикса, где обнаруживаются более 20 белковых зон, и для фракции поровых комплексов (16 зон) характерны

также полипептиды с молекулярной массой 60–70 кД [2, 8]. Ламинны А, В и С универсальны для трех исследованных ядерных структур, и их изменение при воздействии гидрокортизона может отражать структурно-функциональную перестройку ядра в процессе стероидной активации генома. Показано, что гидрокортизонавое воздействие приводит к заметным изменениям белкового состава всех трех изученных фракций (рис. 2). В наиболее гетерогенном белковом составе ядерных мембран достоверному изменению подвергается средняя полоса ламинной триады—ламин В с молекулярной массой 66,8 кД, количество которого резко уменьшается, в то время как ламинны А и С остаются неизменными. Незначительные изменения наблюдаются также в количестве некоторых других полипептидов, однако из-за высокой гетерогенности белков ядерномембранной фракции и возможностей примененного методического подхода, эти небольшие сдвиги не представляются достоверными. Более существенные изменения в белковом составе наблюдаются во фракциях порового комплекса и ядерного матрикса, где после воздействия стероида подвергаются достоверному изменению в количестве (или же появляются на электрофореграммах) 4–5 полипептидных зон (рис. 2). Примечательно, что среди них—ламин В, количество которого,

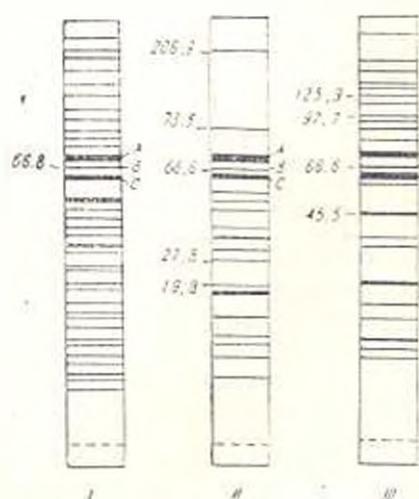


Рис. 2 Схематичное изображение электрофореграмм белков препаратов ядерных мембран (I), фракции порового комплекса (II) и ядерного матрикса (III) клеток печени крысы после воздействия гидрокортизона. Стрелками указаны молекулярные массы полипептидов, претерпевших количественные изменения после воздействия стероида.

как и в препаратах ядерных мембран, резко уменьшается, и ни одна обнаруживается на электрофореграммах. В составе белков фракции ядерного порового комплекса появляются высокомолекулярные полипептиды (206,9 и 78,5 кД) и высокоподвижные полосы (27,5 и 19,8 кД), а в ядерном матриксе обнаруживается новый полипептид (97,7 кД) и изменяется количество еще двух полипептидов (125,9 и 45,5 кД) (рис. 2). Обнаруженные статистически достоверные (приведена усредненная картина 8–10 серий экспериментов) сдвиги в белковом составе этих внутриядерных структур отражают структурно-функциональные изменения, видимо, имеющие место при транслокации гидрокортизон-рецепторного комплекса из цитоплазмы в ядро и взаимодействии там с его акцепторными участками. Разумеется, представленные результаты не позволяют идентифицировать полипептиды, ответственные за непосред-

ственные специфическое связывание с рецепторами стероида. Однако, основываясь на литературных данных об идентификации основных полипептидов ядерных мембран и ядерного матрикса [2, 10], можно предположить, что заметное уменьшение содержания ламин В в трех изученных структурах ответственно скорее всего за неспецифические структурно-функциональные изменения, происходящие в ядрах при активации транскрипции стероидным гормоном, механизм которых пока не ясен. Имеется предположение, что ламинарная фракция, где в основном локализован ламин В, являясь компонентом внутренней ядерной мембраны, опосредует ее связывание с хроматином [12]. Более существенными нам представляются сдвиги в составе белков ядерного матрикса, тем более что в последние годы были получены данные о специфическом связывании стероидов с матриксом [3], ассоциации транскрипционно активных генов с матриксом [14], о локализации рецепторов стероидов в нем [7]. Хотя ламинарная область ядерного матрикса также содержит акценторы стероидных рецепторов, однако высокоаффинное и специфическое связывание имеет место во внутриядерном матриксе—в рибонуклеопротеиновой сети [3]. С этой точки зрения примечательно появление на электрофореграммах после воздействия гидрокортизона полипептида с молекулярной массой 97,7 кД (рис. 2).

Приведенные результаты свидетельствуют о возможном участии определенных белка немембранных структур ядерной оболочки (ламинного слоя), поровых комплексов и внутриядерного матрикса в процессе гидрокортизоновой активации генома клеток печени крыс. Их вклад в этот процесс может быть неодинаков: одни могут опосредованно способствовать проникновению и взаимодействию стероид-рецепторного комплекса в ядро, другие могут непосредственно принимать в нем участие.

ЛИТЕРАТУРА

1. Геворкян Э. С., Тайбовская Ю. В., Яворич Ж. В., Геворкян Г. А. Биохимия, 51, 1630—1633, 1986.
2. Збарский И. Б. Биополимеры и клетка, 1, 26—31, М., 1985.
3. Barrack E. R., Coffey D. S. J. Biol. Chem., 255, 7265—7277, 1980.
4. Baxter J. D., Rousseau G. G., Benson M. C., Garcea R. L., Ho J., Tomkins G. M. Proc. Natl. Acad. Sci., 69, 1892—1896, 1972.
5. Berezney R., Coffey D. S. Adv. Enzyme Regul., 14, 63—100, 1976.
6. Dwyer N., Blobel G. J. Cell Biol., 70, 5—1—91, 1976.
7. Epperly M., Donofrio J., Barham S. S., Venziale C. M. J. Ste. Biochem., 20, 691—697, 1981.
8. Gerace L., Blum A., Blobel G. J. Cell Biol., 79, 536—566, 1978.
9. Jackson V., Chalkley R. J. Biol. Chem., 249, 1617—1626, 1974.
10. Kaufmann S. H., Gibson W., Shaper J. H. J. Biol. Chem., 258, 2710—2719, 1983.
11. Laemmli U. K. Nature, 227, 680—685, 1970.
12. Lan N. C., Karin M., Thas N., Weiss A., Birnbaum M. J., Eberhardt N. L. Baxter J. D. J. Steroid Biochem., 29, 77—88, 1981.
13. Liao S., Liang T., Tymoczko J. L. Nature New Biol., 211, 211—213, 1973.
14. Robinson S. L., Nelkin M. D., Vogelstein B. Cell, 28, 99—106, 1982.
15. Weber K., Osburn M. J. Biol. Chem., 244, 4466—4472, 1969.

Получено 15.IX 1987 г.