

3. Кузнецов В.И., Стекольников А.А. Тр. Зоол. ин-та АН СССР, 83, 46-96, 1979.
4. Фалькович М.И. Определитель насекомых Европейской части СССР, 4, 3, 430-471, 1986.
5. Belrne B.P. British Pyralid and Plume Moths. 208, London, 1954.
6. Błszynski S. Beitr. naturkundl. Forsch. SW-Deutschl, 18, 112-116, 1959.
7. Błszynski S. Crambidae. Microlepidoptera Palaearctica, 1, 553, Wien, 1965.
8. Hannemann H.J. Kleinschmetterlinge oder Microlepidoptera, 2, 401, Jena, 1964.
9. Herrich-Schaffer G.A.W. Schmett. Eur., 4, 1, 444, 1852.
10. Lederer J. Ann. Soc. ent. Belg., 13, 52, 1870.
11. Munroe E. Canad. Entomologist, 91, 7, 406-411, 1959.
12. Schawerda K. Verh. zool.-bot. Ges., 22, 55-56, 1937.

Поступила 18.IX.1992

Биол. журн. Армения, 3-4 (49), 1996

УДК 577. 214. 6

К СТРУКТУРЕ ХРОМАТИНА ГЕНА ИНСУЛИНА ЧЕЛОВЕКА

А.Р. ДЖЕРБАШЬЯН, Р.А. ЗАХАРЯН, К.Л. МАПУКЯН, К.Г. АРУՇՅՈՒՅԱՆ, Ս.Ս. ԿԱԶԱՐՅԱՆ

Институт молекулярной биологии ИАН Армении, 375014, Ереван

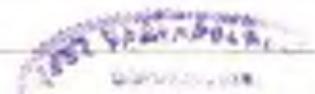
Проводили микрококково-нуклеазное переваривание очищенных ядер клеток HeLa. Полученные фрагменты ДНК хроматина анализировали методом блот-гибридизации с геном инсулина. Дискретных нуклеосомных частиц в хроматине инсулинового гена не обнаружено. Структурные изменения хроматина гена инсулина при высокой степени транскрипции протекают путем разрушения нуклеосомных частиц.

Վատարվել է մաքրված HeLa բջիջիների կորիպների միկրոկոկային նուկլեազով մշակում: Քրոմատինի ստացված ԴՆԹ-ի հատվածները եետազոտել ենք բլոտ-հիբրիտիզացիայով ինսուլինի գենի հետ: Ինսուլինի գենի քրոմատինում չի բացահայտվել նուկլեոսոմային մասնիկների սանդղակը: Տառադարչման բարձր արագությունների ժամանակ ինսուլինի գենի քրոմատինի կառուցվածքային փոփոխությունները տեղի են ունենում նուկլեոսոմային մասնիկների քանդման միջոցով:

Micrococcal nuclease treatment of HeLa cells nuclei were done as a probe for chromatin structure. DNA chromatin fragments were analysed by blot-hybridization with insulin gene. No discrete nucleosomal patterns were obtained in insulin gene chromatin of HeLa cells. The structural changes of chromatin insulin gene take place under high level of transcription by destruction of nucleosome particles.

Инсулиновый ген - хроматин - нуклеосома.

При регуляции транскрипции хроматин претерпевает структурно-качественные изменения, обеспечивая доступ хроматина молекуле РНК-полимераз и регуляторных факторов. Результаты изучения структуры хроматина рибосомного гена *Drosophila melanogaster* выявили ослабление ДНК-гистоновых взаимодействий в регуляторных и активно транскрибируемых участках без разрушения нуклеосом [1, 2, 14]. Было также показано, что регуляция транскрипции рибосомных генов *D. melanogaster* происходит и за счет структурных изменений хроматина рибосомного гена более высокого порядка. Эти результаты были получены с использованием метода ковалентной *in situ* пришивки ядерных белков к ДНК. Этот метод предложен в работе [15], разработан и в дальнейшем развит нами [1,14].



Результаты наших недавних исследований обнаружили полное разрушение нуклеосом в промоторе и кодирующей области человеческого протоонкогена рецептора эпидермального фактора роста при высоком уровне транскрипции [3]. Полное разрушение нуклеосом при активной транскрипции наблюдали для рибосомных генов амфибий, генов теплового шока и других генов [9, 20]. Описаны также следующие типы структурно-качественных изменений хроматина, нуклеосом при активной транскрипции: образование необычных по размеру нуклеосом [21], деление нуклеосом на две половинки [7], перераспределение нуклеосом [5], структурные изменения хроматина высокого порядка [1,8].

В некоторых активно транскрибирующихся генах не было обнаружено структурных изменений нуклеосом [10, 11]. Эти результаты, полученные методом микрококково-нуклеазного анализа, не исключают наличия структурных изменений нуклеосом. Наши исследования обнаружили, что метод микрококково-нуклеазного анализа не улавливает структурных изменений хроматина, вызванных ослаблением ДНК-гистоновых взаимодействий [1, 2, 14].

В данной работе представлены результаты изучения структуры хроматина, нуклеосом кодирующей области гена инсулина в клетках HeLa с использованием метода микрококково-нуклеазного анализа структуры хроматина и блот-гибридизации.

Материал и методика. Клетки HeLa выращивали во флаконах Карреля в среде Игла, с добавлением 10%-ной телячьей эмбриональной сыворотки в логарифмической фазе роста.

Использовали плазмиду Р007 - ген инсулина, прокьюпированный в РВR 322 [17].

Выделение ядер, обработку стифилококковой нуклеазой и выделение ДНК проводили как описано ранее [3]. Электрофорез проводили в 1,5%-ной азрозе в системе 0,089 М три-борат, рН 8,0. Введение метки Р³² в состав плазмид осуществляли методом "инк-трансляции" [12]. Саутерн блот - по методу [19], гибридизацию - как описано [4].

Результаты и обсуждение. Для изучения структуры хроматина гена инсулина при активной транскрипции проводили микрококково-нуклеазный анализ очищенных ядер клеток HeLa и блот-гибридизацию.



Рис. 1. Микрококково-нуклеазное переваривание очищенных ядер клеток HeLa. Фрагменты ДНК разделяли в 1,5%-ном агарозном геле и окрашивали бромистым этидием. а - инкубация ядер без фермента 60 мин, б, в, г - инкубация ядер с ферментом (100 ед. на 1 мг ДНК) 10, 30, 60 мин соответственно.

На рис. 1 приведена электрофореграмма образовавшейся лесенки нуклеосомных частиц после переваривания очищенных ядер клеток HeLa микрококковой нуклеазой в дипамике: инкубация ядер без фермента 60 мин (1а), инкубация с ферментом 10 (1б), 30 (1в), 60 мин (1г). Материал того же агарозного геля перенесли на нитроцеллюлозную мембрану и гибридизовали с геном инсулина. Для контрольной гибридизации параллельно электрофоретически разделяли и переносили на нитроцеллюлозную мембрану ДНК плазмиды РЕ7 [22], состоящую из кодирующего участка ДНК человеческого гена эпидермального фактора роста и ДНК вектора РВR 322. На рис. 2 приведена автордиограмма гибридизации с геном инсулина. Как видно, гибридизация не обнаруживает наличия нуклеосомной лесенки (рис. 2 б, в, г, д). Контрольная гибридизация выявила полоски (рис. 2а, полоски, указанные точками), комбинированные РВR 322 в плазмиде РЕ7, так как ген инсулина прокьюпирован в плазмиде РВR 322.

Приведенные результаты показывают, что активация транскрипции гена инсулина сопровождается

полным разрушением нуклеосомных частиц.

Структурно-качественные изменения хроматина, нуклеосом бывают разных типов при высоком уровне транскрипции в разных генах, что, по-видимому, зависит от особенностей регуляции транскрипции данного гена.

Важную роль в регуляции транскрипции играют специфические белки, узнающие регуляторные (промоторные, усилительные) участки генов [8]. Такие белковые факторы обнаружены для гена инсулина [18]. Описаны случаи фосфорилирования [13], ацетилирования [6], рибонизирования [16] гистонов, приводящие к структурно-качественным изменениям хроматина при высоких уровнях транскрипции.



Рис. 2. Микрококково-нуклеазное переваривание очищенных ядер клеток HeLa и блот-гибридизация с геном инсулина. а - плазмида РЕ7, б - инкубация ядер без фермента 60 мин, в, г, д - инкубация ядер с ферментом 10, 30, 60 мин соответственно.

ЛИТЕРАТУРА

1. Джербашьян А.Р., Вашакидзе Р.П., Карпов В.Л., Колгинский А.М., Мирзабеков А.Д. Мол. биол., 22, 231 - 241, 1988.
2. Джербашьян А.Р. Канд. дисс., М., 1989.
3. Джербашьян А.Р., Захарян Р.А., Арутюнян К.Г., Манукян К.Л., Казарян М.П. Биолог. журн. Армении (в печати).
4. Маниатис Т., Фич Э., Сембрук Дж. Молекулярное клонирование. Методы генетической инженерии. М., 1984.
5. Alwer A., Rudolph H., Hinnen A. and Horz W. EMBO Y., 5, 2689 - 2697, 1986.
6. Bertarand E., Erard M., Goncer-Lizu M. and Bode Y. Arch. Biochem. Biophys., 229, 395 - 398, 1984.
7. Dudet P., Spadafora C. and Chambon P., Cold Spring Harbor Sympos. Quant. Biol., 42, 301 - 312, 1977.
8. Felsenfeld G. Nature 355, 219 - 224, 1992.
9. Franke W.W., Soheer U., Trendelenburg M.F., Spring H. and Zantgrof H. Cytobiologie, 13, 401 - 434, 1976.
10. Gottesfeld Y.M., Melton D.A. Nature, 273, 317 - 319, 1978.
11. Kirov N., Tsaneva T. and Tsanev R. Biophys. Biochem. Res. Comm., 130, 364 - 371, 1985.
12. Makiatis Y., Jeffery A., Kleid O. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 72, 1184 - 1189, 1975.
13. Masen A., Haques M.-F., Marton C. J. Mol. Biol. 194, 741 - 746, 1987.
14. Mirzabekov A.D., Karpov V.L., Preobrazhenskaya O.V., Dzherbashian A.R., Shick V.V., Belyavsky A.V. Current Trends in Life Sciences, 12, 1 - 7, 1983.
15. Mirzabekov A.D., Bavykin S.G., Karpov V.L., Preobrazhenskaya O.V., Ebralidze K.K., Tuneev V.M., Melnikova A.F., Gogvadze E.C., Chenchick A.A. and Beabekashvili R.S. Cold Spring Harbor Symposia Quantitative Biology, 27, 503 - 509, 1983.
16. Murcia G., Haletsky A., Iamarre D., Gaudrean A., Pouyet J., Daune M. and Poirier G. J. Biol. Chem., 261, 7011 - 7017, 1986.
17. Nicolau C., Le-Pape A., Soriano P., Fargette F., Juhel M.F. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 80, 1068 - 1072, 1983.
18. Ohlsson A., Karlsson O., Edlund T. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85, 4228 - 4231, 1988.
19. Southern E.M. J. Mol. Biol., 98, 503 - 517, 1975.

20. W.C., Wokp Y. Ch. and Elgin S.C.R. Cell 16, 807 - 814, 1979.
21. Xu M., Barnard M.B., Roso S.M., Cockerill P.M., Huang S.Y., Garrard W.T. J. Biol. Chem., 261, 3838 - 3846, 1986.
22. Xu Y. H., Ishii S., Clark J.L., Sullivan M., Wilson R.K., Ma D.F., Rose B.A., Merlino G.T. and Pastan I. Nature, 309, 806 - 809, 1984.

Поступила 28 II.1996

Биолог. журн. Армении, 3-4 (49), 1996

УДК 612. 821

ГЕНОТИПИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЗРИТЕЛЬНОГО ВОСПРИЯТИЯ

В.Г. ГРИГОРЯН, А.Р. АГАБАБЯН, А.П. АРАКЕЛЯН

Ереванский государственный университет, кафедра физиологии человека, 375049

Нейрофизиологический анализ функционального состояния зрительной коры по показателям компонента P70 вызванных потенциалов выявил корреляты зрительного утомления. Обнаружена межгрупповая разница в преодолении зрительного дискомфорта при сосредоточении внимания, который у представителей I группы с высокой активностью коры приводит к облегчению, а у испытуемых II группы с низкой корковой активностью - к дезактивации зрительной коры.

Տեսողական կեղևի գործառական վիճակի նյարդաֆիզիոլոգիական վերլուծությունը, ըստ հրահրված պոտենցիալների P70 կոմպոնենտի ցուցանիշների, ի հայտ բերեց տեսողական հոգնածության կորելիատները: Հայտնաբերված է միջխմբային տարբերություն տեսողական դիսկոմֆորտի հաղթահարման մեջ ուշադրության կենտրոնացման դեպքում, որը կեղևի բարձր ակտիվությանը փոխարկվողների մոտ բերում է թեթևացման, իսկ կեղևի սածր ակտիվությամբ անհատների մոտ՝ տեսողական կեղևի դեզակտիվացման:

On a base of neurophysiological analysis of visual cortex active state, by the evoked potentials of P70 component indices, the correlates of visual weariness were revealed. The difference in groups, overcoming the visual discomfort for concentrating attention, was detected, which brought lightness for persons with high activity of cortex and disactivation of visual cortex for persons with low activity of cortex.

Активность коры - зрительное восприятие - механизмы адаптации

Груд оператора дисплея оказывает нежелательное воздействие прежде всего на состояние зрительного анализатора. Исследования показали, что зрительное утомление у операторов дисплея связано как с развитием гипофункции периферического аппарата, так и со сниженной активностью центральных мозговых структур. На ухудшение функционального состояния (ФС) ЦНС при развитии зрительного дискомфорта указывают характерные изменения параметров зрительных вызванных потенциалов (ВП), простой зрительно-моторной реакции (ПЗМР) и других показателей, тесно связанных с уровнем и продолжительностью зрительной нагрузки [5, 7, 17].