

УДК 547.612.018+543.963.3

ИЗУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ГИСТОНОВ И ХРОМАТИНА ГОЛОВНОГО МОЗГА БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ОДНОСТОРОННЕЙ ГАНГЛИОСИМПАТЭКТОМИИ

Карагезян К.Г., *Овсепян Г.А.,

*Кочарян К.М.

*Институт экспериментальной биологии АН АрмССР, Ереван
Ереванский государственный медицинский институт

Многочисленными исследованиями установлено адаптационно-трофическое действие симпатической нервной системы на ЦНС. Об этом свидетельствуют изменения в условно-рефлекторной деятельности организма после повреждения различных отделов симпатической нервной системы. Однако биохимические и молекулярно-биологические механизмы этого действия в литературе освещены недостаточно. Общеизвестно, что в формировании структуры хроматина, содержащего ДНК, гистоны, негистоновые белки, небольшое количество хромосомной РНК и липидов [1], в его пространственной организации важная роль принадлежит гистонам и липидам. Ранее были показаны сдвиги в количественном и фракционном составе гистонов мозга крыс при односторонней ганглиосимпатэктомии [2]. Предполагалось, что изменения во фракционном составе гистонов связаны с конформационными изменениями гистоновой молекулы.

Целью настоящего исследования явилось изучение на фоне ганглиосимпатэктомии флуоресцентных характеристик суммарных гистонов, а также структурной организации хроматина методом инфракрасной спектроскопии.

Эксперименты проводили на белых беспородных крысах обоего пола массой 180—200 г, содержащихся на обычном пищевом рационе. Правый верхний шейный симпатический узел удаляли под легким эфирным наркозом. О достоверности произведенной операции судили по развивающемуся синдрому Клода-Бернара-Горнера (четко выраженный энтофтальм, сужение глазной щели и зрачка). Животных декапитировали под легким эфирным наркозом через 7 суток после экстирпации узла. Ядра выделяли по методу Dingman, Sporn [3]. Хроматин получали по методу Shaw, Huang [4]. Выделение тотальных гистонов проводили по методу Bonner и соавт. [5]. Флуоресценцию гистонов изучали в 0,1 М трис-НСl буфере, pH 8,0, в концентрации 25 мкг/мл в прямоугольных кварцевых кюветах 1×1 см

при комнатной температуре на флуоресцентном спектрофотометре MPF-2A («Hitachi», Япония) при максимальной чувствительности прибора и минимальной ширине щелей 7 обоих монохроматоров (не выше 6 ммк). Инфракрасные спектры хроматина изучали на спектрофотометре «Specord» 75 JR (ГДР). Содержание белка в пробах определяли по методу Lowry и соавт. [6]

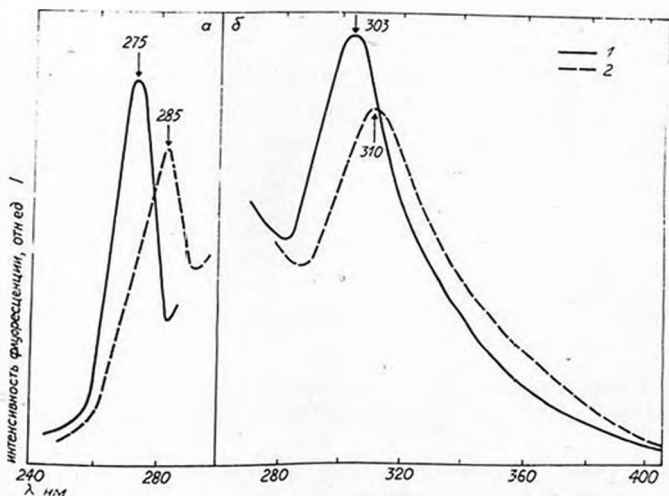


Рис.1. Спектры экстинкции (а) при $E_m W$ - 303 нм и эмиссии (б) при $E_x W$ - 275 нм гистонов, полученных из хроматина: 1 - контрольного, 2 - ганглий эктомированного полушария мозга белых крыс. Ширина щелей монохроматоров экстинкции и эмиссии - 6 нм

Результаты проведенных исследований в виде средних данных представлены на рис.1,2. Гистоны (рис.1,а,б), выделенные из хроматина головного мозга контрольных животных, имеют следующие флуоресцентные характеристики: максимум спектра экстинкции при 275 нм и максимум спектра эмиссии при 303 нм. Максимум спектра эмиссии при 303 нм, соответствующий свечению тирозинилов, обусловлен флуоресценцией тирозина. Флуоресцентный анализ гистонов хроматина мозга после ганглиосимпатэктомии показал (рис.1, б), что максимумы спек λ_{Ex} — 310 нм) с подавлением квантового выхода флуоресценции, более выраженные у гистонов хроматина эктомированного полушария мозга. Описанный эффект ранее был отмечен в исследованиях Давтяна и соавт. [7] при индуцировании хроматина печени гидрокортизоном, а также на фоне голодания, высокобелковой диеты и введения смеси аминокислот. На наш взгляд, сдвиг во флуоресцентных характеристиках гистонов при ганглиосимпатэктомии происходит только за счет конформационных перестроек тирозиновых комплексов, а не проявления флуоресценции триптофана, который в гистонах отсутству-

ет. Это предположение основано на литературных данных, указывающих на типичное триптофановое свечение в белках, не содержащих триптофана [8,9]. На основании полученных результатов можно прийти к заключению, что подавление фосфорилируемости гистонов, показанное нами ранее [10], является следствием изменения конформации гистоновой молекулы, что в свою очередь может привести к изменению структурной организации хроматина.

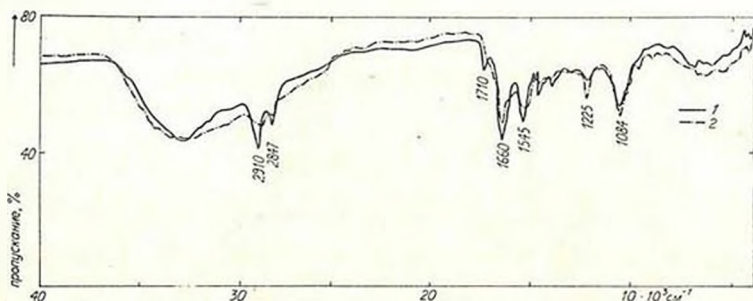


Рис.2. Инфракрасные спектры неориентированных пленок хроматина, полученного из: 1 - контрольного, 2 - ганглий эктомированного полушария мозга белых крыс

Инфракрасные спектры неориентированных пленок нативного хроматина правого полушария мозга крыс (рис.2) показали, что характерные для дезоксиноклеопептидов полосы с частотами 1710, 1225 и 1084 см^{-1} претерпевают изменения на 7-е сутки после ганглиосимпатэктомии [11]. Это, в частности, касается полосы с частотой 1710 см^{-1} (показывающей сильно выраженный перпендикулярный дихроизм), которая исчезает. Такое наблюдается при высушивании или обработке дезоксиноклеопептидов дезоксирибонуклеазой [11]. Полосы со частотами 1225 и 1084 см^{-1} (в меньшей степени) становятся интенсивными. Это свидетельствует об изменении водородных связей фосфатных групп [11,12]. А полосы Амид 1 при 1660 см^{-1} (валентные колебания $\text{C}=\text{O}$ групп) и Амид 2 при 1545 см^{-1} (деформационные колебания N-H групп) становятся менее интенсивными. Сказанное свидетельствует об изменении ДНК-белок взаимодействия [13]. Показаны также изменения в интенсивности полос 2910 и 2847 см^{-1} (рис.2), которые, как и исчезновение полосы с частотой 1710 см^{-1} , по-видимому, вызваны изменением ДНК-липид взаимодействия [13—15]. Хроматин интактного полушария мозга таких выраженных изменений не претерпевает.

Таким образом, полученные данные показали, что конформация гистоновой молекулы, ДНК-белок, ДНК-липид, белок-липид взаимодействий хроматина сопровождается изменениями структурной организации хроматина.

PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF HISTONES AND CHROMATIN FROM RAT BRAIN AFTER UNILATERAL GANGLIOSYMPATHECTOMY

Karagezian K.G.,* Hoveyan G.A.,

*Kocharyan K.M.

*Institute of Experimental Biology,
Armenian SSR Academy of Sciences, State
Medical Institute, Yerevan*

Fluorescent characteristics of histones and infrared spectra of chromatin were studied after unilateral gangliosympathectomy (removal of the upper cervical sympathetic ganglion). Changes in the physico-chemical properties of E histones and chromatin after the procedure were observed. Unilateral gangliosympathectomy led to an altered conformation of histone molecules and modified structural organization of chromatin.

ЛИТЕРАТУРА

1. Хесин Р.Б., Лейбович Б.А. Молекуляр. биология, т.10, N1, с.3 — 33, 1976.
2. Мхехян Э.Е., Кочарян К.М. *Вопр. биохимии мозга*, т.13, с.138 — 143, Ереван, 1978.
3. Dingman C.W., Sporn M.B. *J. Biol. Chem.*, v.239, p.3483 — 3488, 1964.
4. Shaw L.M., Huang R.C. *Biol. Chem.*, v.9, p.4530 — 4538, 1970.
5. Bonner J., Chalkley G.R., Dahmus M., Fambrough D., Fujumura F., Huang R.C., Huberman J., Jensen R., Marushige K., Ohlenbusch H., Olivera B., Widholm J. *Methods in Enzymology*, v.12, p.3 — 10, 1968.
6. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. *J. Biol. Chem.*, v.193, p.265 — 275, 1951.
7. Давтян М.А., Казарян Р.Р. *Биол. журн. Армении*, т.34, N5, с.498 — 501, 1981.
8. Kunita T., Ting J. J. *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, v.45, p.1227 — 1230, 1971.
9. Марджанян С.С., Демин Ю.М. *Биохимия*, т.42, с.1024 — 1029, 1977.
10. Мхехян Э.Е., Кочарян К.М., Киракосова А.С. *Биол. журн. Армении*, т.33, N6, с.660 — 663, 1980.
11. Tsuboi M.J. *Applied Spectroscopy Reviews*, v.3, N1, p.45 — 90, 1969.
12. Верболович В.П. — В кн.: *Инфракрасная спектроскопия биологических мембран*. Алма-Ата, Наука, 1977.
13. Жижина Г.П., Олейник Э.Ф. *Успехи химии*, т.41, N3, с.474—511, 1972.
14. Шабаршина Л.И., Сухоруков Б.И., Кувичкин В.В. *Биофизика*, т.24, N6 с.990—997, 1979.
15. Shabarshina L.J., Sukhorukov B.J. *J. Stud. biophys.*, v.79, p.33—34, 1980.

Поступила 10.10.1988.