

Архив журнала

Вопросы медицинской химии

ISSN 0042-8809

1985

Внимание! Распознавание текста проведено в автоматическом режиме для облегчения работы поисковых систем. Будьте внимательны при копировании, возможны ошибки и неточности. Используйте сканированный графический вариант.

Archive of journal

Voprosy meditsinskoi khimii

ISSN 0042-8809

1985

Attention! OCR has been performed automatically for search engines only. Be careful when copying, errors are possible. Use scanned picture as standard.

<http://pbmc.ibmc.msk.ru>

ТОМ XXXI

ВЫПУСК 5

СЕНТЯБРЬ — ОКТЯБРЬ

Двухмесячный научно-теоретический журнал

Основан в 1955 г.

ВОПРОСЫ
МЕДИЦИНСКОЙ
ХИМИИ



МОСКВА. МЕДИЦИНА. 1985



РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор С. С. ДЕБОВ

В. И. МАЗУРОВ (зам. главного редактора), Т. Т. БЕРЕЗОВ, Е. Н. ГЕРАСИ-
МОВА, В. З. ГОРКИН, И. Б. ЗБАРСКИЙ, А. Н. КЛИМОВ, Б. Ф. КОРОВКИН,
Л. А. ЛОКШИНА, В. Н. ОРЕХОВИЧ, Л. Ф. ПАНЧЕНКО, М. Ш. ПРОМЫСЛОВ,
Е. Л. РОЗЕНФЕЛЬД, Ю. А. РОМАКОВ (ответственный секретарь), В. А. САКС,
С. Е. СЕВЕРИН, В. Б. СПИРИЧЕВ

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

БАЕВ А. А. (Москва)
БЕЛИЦЕР В. А. (Киев)
БЫЧКОВ С. М. (Москва)
КОНСТАНТИНОВ А. А. (Хабаровск)
КУДРЯШОВ Б. А. (Москва)
ЛЯХОВИЧ В. В. (Новосибирск)
ПАСХИНА Т. С. (Москва)

ТРОИЦКИЙ Г. В. (Симферополь)
ТАРАКУЛОВ Я. Х. (Ташкент)
ТЯХЕПЫЛЬД Л. Я. (Тарту)
УТЕВСКИЙ А. М. (Харьков)
ШАПОТ В. С. (Москва)
ЯКОВЛЕВ Н. Н. (Ленинград)
ЯСАЙТИС А. А. (Вильнюс)

Адрес редакции журнала:

Москва, Солянка, 14

АМН СССР

Тел. 297-16-44

Зав. редакцией Л. А. Фирсова

1983

1. Ашмарин Н. П., Воробьев А. А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Л., 1962.
2. Ефремович Н. В., Волк Е. С., Байков А. А., Шахов Ю. А. — Биохимия, 1980, т. 45, № 6, с. 1033—1040.
3. Иванов Л. Л., Лукосявичюс Л. Ю., Коваленко М. И. и др. — Укр. биохим. журн., 1983, т. 55, № 4, с. 368—371.
4. Прашкявичюс А. К., Тамулявичюс А.-А., Лукосявичюс Л. Ю., Коваленко М. И. — В кн.: Теоретические и практические аспекты познания биохимических процессов. Вильнюс, 1983, с. 70.
5. Тамулявичюс А.-А., Коваленко М. И., Лукосявичюс Л., Прашкявичюс А. — В кн.: Механизмы стабильности и регуляции клеток и тканей организма. Каунас, 1982, с. 169—170.
6. Шабров А. В. — Врач. дело, 1972, № 10, с. 20—21.
7. Armiger L. C., Seelye R. N., Carnell V. M. et al. — Lab. Invest., 1976, vol. 34, p. 357—362.
8. Berg B. H. — Biochim. biophys. Acta, 1977, vol. 479, p. 152—171.
9. Chua B., Elson C., Sharago E. — Ibid., vol. 478, p. 747—785.
10. Damuni Z., Caudwell F. B., Cohen P. — Europ. J. Biochem., 1982, vol. 129, p. 57—65.
11. Dang C. V., Johnson D. L., Yong D. C. H. — FEBS Letters, 1982, vol. 142, p. 1—6.
12. Dignam J. D., Deutscher M. P. — Biochemistry (Wash.), 1979, vol. 18, p. 3165—3170.
13. Fiske G. H., Subbarow Y. — J. biol. Chem., 1925, vol. 66, p. 375—400.
14. Herdson P. B., Kallenbach J. P., Jennings R. B. — Amer. J. Path., 1969, vol. 57, p. 539—557.
15. Kao R., Rannels D. E., Morgan H. E. — Acta med. scand., 1976, vol. 199, p. 117—123.
16. Klekamp M., Puhuski E., Hampel A. — Biochemistry (Wash.), 1982, vol. 2, p. 3513—3517.
17. Schimmel P. R., Söll D. — Ann. Rev. Biochem., 1979, vol. 48, p. 601—648.
18. Schwartz W. N., Bird J. W. C. — Biochem. J. 1977, vol. 167, p. 810—820.
19. Wildenthal K. — J. molec. cell. Cardiol., 1978, vol. 10, p. 595—603.
20. Wollenberger A., Onnen K., Hinterberger U. et al. — Cardiology, 1971/1972, vol. 56, p. 48—64.

Поступила 11.06.84

AMINOACYL-TRNA SYNTHETASES AND THEIR HIGH MOLECULAR COMPLEXES IN AUTOLYSIS OF PIG HEART MUSCLE

A. J. Tamulevicius, L. L. Ivanov, L. J. Lukosevicius, A. K. Praskevicius

Chair of Biochemistry, Medical School, Kaunas

In pig myocardial extracts autolyzed within 15 min alaninyl-, glycyl-, glutamyl-, leucyl- and seryl-tRNA synthetase activities were increased as compared with controls. The enzymatic activities were decreased after autolysis for 30 min. The 15 min autolysis was shown to decrease the molecular mass of the glycyl-tRNA synthetase complex. Within both 15 min and 30 min autolysis inorganic pyrophosphatase was markedly activated either in myocardium extracts or in high molecular complexes; this phenomenon may be responsible for activation of a number of aminoacyl-tRNA synthetases.

УДК 612.352.3:612.6.051.014.46:615.256.51

Э. С. Геворкян, А. Ш. Абрамян, К. С. Матинян, Г. А. Паносян

ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА ЛАБИЛЬНО СВЯЗАННЫХ НЕГИСТОНОВЫХ БЕЛКОВ ХРОМАТИНА ПЕЧЕНИ ПЕТУШКОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЭСТРАДИОЛА

Кафедра биофизики Ереванского университета

Эстрадиоловая индукция вителлогена — предшественника специфического белка яичного желтка фосвитина — в клетках печени петушков является типичной моделью дерепрессии генов, и ее изучение может иметь важное значение для выяснения механизмов внутриклеточной регуляции и исследования молекулярных механизмов действия эстрогенов. Механизм действия эстрогенов на генетический аппарат клеток эукариотов в настоящее время интенсивно изучают [8, 13, 15]. При этом особое внимание уделяют вопросу о взаимодействии гормон-рецепторных комплексов

с акценторными участками хроматина, в структуре которых немаловажная роль принадлежит негистоновым белкам, обеспечивающим высокую специфичность взаимодействия. Однако исследование негистоновых белков хроматина затруднительно ввиду их высокой гетерогенности. В последнее время внимание многих исследователей привлекает определенная группа негистоновых белков. Так называемые лабильно связанные негистоновые белки (ЛНСБ) в отличие от прочно связанных и остаточных негистоновых белков экстрагируются из хроматина 0,1—0,4 М хлористым натри-

ем [7, 14, 16, 17]. Они содержат ряд хорошо изученных белков, в том числе белки группы высокой подвижности (БВП), по-видимому, ответственные за конформацию транскрипционно активного хроматина [5, 6], белок, стимулирующий транскрипцию ДНК, который недавно удалось очистить до гомогенности [10, 14], и др. Среди этих белков возможны также фракции, входящие в акцепторные участки хроматина, специфически взаимодействующие с рецепторами стероидных гормонов [4, 7, 18]. Есть все основания полагать, что ЛСНБ играют важную роль в поддержании структуры и функции хроматина.

В настоящей работе мы изучали состав ЛСНБ хроматина клеток печени петушков при активации генетического аппарата эстрадиолом.

Методика

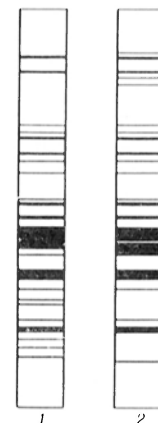
Исследования проводили на неполовозрелых петушках породы «Белый леггорн». Эстрадиол-17 β («Sigma», США) вводили внутримышечно в концентрации 20 мг на 1 кг массы тела. Петушков декапировали через 4 ч после введения гормона. Ядра из клеток печени выделяли как описано Шоу и соавт. [3], а хроматин из очищенных ядер — как указано Уманским и соавт. [17]. Чистоту полученных препаратов проверяли путем измерения оптических параметров хроматина при разных длинах волн и определения соотношения его основных компонентов (при этом средние значения соотношений равнялись: белок/ДНК=1,67—1,60, а гистон/ДНК=0,80—1,00). О достаточной чистоте препаратов свидетельствовал также УФ-спектр хроматина. СНБ выделяли как описано ранее [17], белок определяли по Лоури и соавт. [12], ДНК — по Бартону [2].

Фракционирование ЛСНБ проводили на колонке с ДЭАЭ-целлюлозой. Белки элюировали ступенчатым градиентом хлористого натрия в концентрациях 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 и 1,0 М в 5 мМ трис-фосфатном буфере pH 8,2. Элюаты диализовали против 0,06 М трис-фосфатного буфера pH 6,7 и концентрировали против сухой сахарозы. Диск-электрофорез тотальных ЛСНБ и их отдельных фракций проводили как описано ранее [11]. Определение молекулярных масс гормончувствительных фракций ЛСНБ проводили по Веберу и Осборну [19] с использованием в качестве стандартных белков яичного альбумина, трипсина, гемоглобина, гексокиназы и аргиназы («Reanal», ВНР).

Результаты и обсуждение

На рис. 1 представлены результаты экспериментов по электрофоретическому разделению тотальных ЛСНБ, выделенных солевой экстракцией препаратов хроматина печени контрольных и под-

Рис. 1. Электрофоретическое разделение препаратов тотальных ЛСНБ хроматина печени петушков в контроле (1) и при воздействии эстрадиола (2).



опытных животных. Известно, что одномерный электрофорез негистоновых белков в системе додецилсульфат натрия — полиакриламидный гель позволяет обнаружить от 15 до 30 фракций полипептидов с молекулярными массами от 5 до 180 кД [11]. Результаты экспериментов показали, что препараты тотальных ЛСНБ хроматина в той же электрофоретической системе содержат 22 фракции, причем введение гормона животным приводит к заметным изменениям белкового состава — появлению одних и исчезновению других фракций. Такой результат, безусловно, свидетельствует об эстрадиол-чувствительности препаратов тотальных ЛСНБ хроматина печени петушков. Однако их высокая гетерогенность (фракция ЛСНБ составляет примерно $\frac{1}{3}$ всех кислых белков хроматина) не дает возможности для более точной идентификации и характеристики этих гормончувствительных фракций. В целях более детального исследования изменений в составе ЛСНБ проводили фракционирование препаратов на колонке с ДЭАЭ-целлюлозой (рис. 2). Фракционирование на ионнообменнике контрольных препаратов выявило 6 групп белков, разделяющихся при ступенчатом элюировании хлористым натрием. Аналогичную картину наблюдали и при хроматографическом разделении ЛСНБ хроматина печени подопытных петушков (см. рис. 2).

При получении ЛСНБ из хроматина [17] возможно выделение среди кислых фракций и незначительного количества некислых белков хроматина так называемых гистоноподобных негистоновых белков, имеющих высокие значения изоэлектрических точек. Эти белковые фракции при фракционировании на колонке с ДЭАЭ-целлюлозой могут, не

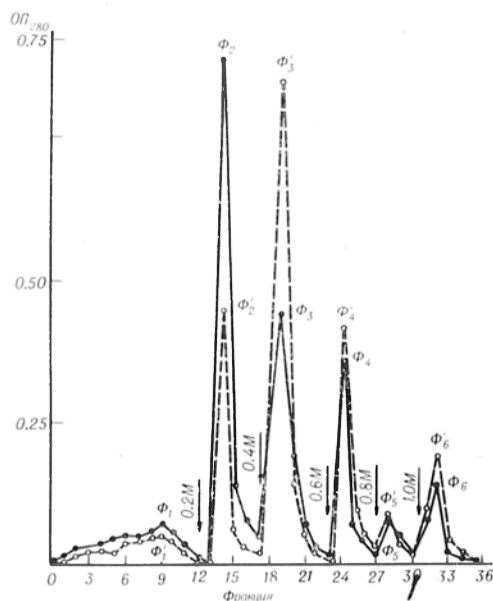


Рис. 2. Хроматограммы препаратов тотальных ЛСНБ хроматина печени контрольных (сплошная линия) и подопытных (штрихпунктирная) петушков.

Около стрелок указаны концентрации хлористого натрия при ступенчатом элюировании препаратов ЛСНБ. $\Phi_1 - \Phi_6$ — фракции ЛСНБ в контроле, $\Phi'_1 - \Phi'_6$ — то же при воздействии эстрадиола.

связываясь с нонитом, выходить в свободном объеме колонки. По-видимому, фракции Φ_1 и Φ'_1 , составляющие приблизительно 4—5% от количества тотальных ЛСНБ, имеют такую природу. Остальные 5 фракций кислых белков по-разному реагируют на введение гормона (см. рис. 2). Так, если фракции Φ_1 , Φ_5 и Φ_6 количественно почти не изменяются при воздействии гормона, то фракции Φ_2 и Φ_5 обнаруживают высокую чувствительность к эстрадиолу, так как содержание белка в них достоверно изменяется. Введение эстрадиола приводит к резкому снижению содержания белка во фракции Φ_2 с одновременным заметным повышением его во фракции Φ_3 , что свидетельствует о возможном перераспределении отдельных белков при гормональной активации генома.

Для выяснения этого вопроса и определения молекулярной массы гормончувствительных белков проводили электрофоретическое разделение фракций Φ_2 , Φ'_2 , Φ_3 , Φ'_3 в системе додецилсульфат натрия — полиакриламидный гель. Результаты экспериментов показали, что белковый спектр фракций Φ_2 и Φ_3 содержит 9—13 полипептидов, различающихся по молекулярной массе (рис. 3).

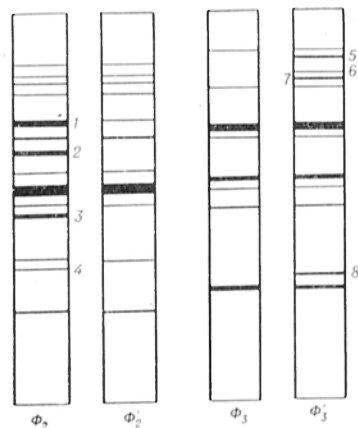


Рис. 3. Картина электрофоретического разделения фракций ЛСНБ, элюированных 0,2 М и 0,4 М хлористым натрием в контроле (Φ_2 , Φ_3) и при воздействии эстрадиола (Φ'_2 , Φ'_3). Здесь и на рис. 4 цифрами обозначены эстрадиол-чувствительные полипептиды.

Воздействие эстрадиола приводит к уменьшению содержания или исчезновению 4 полипептидов во фракции Φ_2 и соответственно появлению 4 полипептидов во фракции Φ'_2 (см. рис. 3). Определение молекулярных масс гормончувствительных полипептидов позволило установить, что введение эстрадиола в основном приводит к исчезновению относительно низкомолекулярных фракций в Φ_2 (рис. 4; полипептиды 2, 3 и 4, мол. м. 30,2, 20,4 и 18,0 кД соответственно) и появлению более высокомолекулярных белков во фракции Φ'_3 (см. рис. 4, полипептиды 5, 6, 7; мол. м. 65,3, 57,5 и 52,5 кД соответственно). Во фракции Φ'_3 обнаруживается также полипептид с низким значением молекулярной массы (15,1 кД; см. рис. 4, полипептид 8), также отсутствующий в контроле. Наблюдаемое перераспределение, воз-

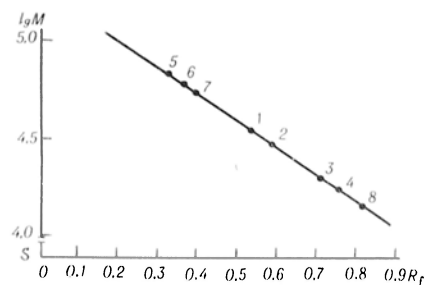


Рис. 4. Определение молекулярных масс гормончувствительных полипептидов во фракциях Φ'_2 и Φ'_3 ЛСНБ хроматина печени петушков.

По оси абсцисс — относительная подвижность, по оси ординат — логарифм молекулярной массы.

можно, связано с конформационными перестройками в хроматине при его взаимодействии с эстрогенрецепторными комплексами. Хотя заметные количественные и качественные сдвиги обнаруживаются во фракциях Φ_2 и Φ_3 , не исключена возможность наличия эстрогенчувствительных белков и во фракциях Φ_4 , Φ_5 и Φ_6 , изучение которых позволит дать более полную характеристику этих сдвигов.

Обнаруженные перестройки в составе ЛСНБ хроматина печени петушков при воздействии эстрадиола, по-видимому, способствуют усилению депрессирующего влияния женского полового гормона в клетках неполовозрелых самцов, у которых индукции вителлогена в норме не происходит.

ЛИТЕРАТУРА

1. Уманский С. Р. — Успехи биол. химии, 1977, т. 17, с. 27.
2. Burlon K. — Biochem. J., 1956, v. 62, p. 315.
3. Chauveau J., Moule Y., Rouiller C. R. — Exp. Cell Res., 1956, v. 11, p. 317.
4. Clark J. H., Markaverich B., Upchurch S. et al. — Advanc. exp. Med. Biol., 1979, v. 117, p. 17.
5. Gazit B., Panet A., Cedar H. — Proc. nat. Acad. Sci. USA, 1980, v. 77, p. 1787.
6. Goodwin G. H., Johns E. W. — Europ. J. Biochem., 1973, v. 41, p. 214.
7. Hiremath S. T., Maciewicz R. Y., Wang T. Y. — Biochim. biophys. Acta, 1981, v. 653, p. 130.
8. Horwitz K. B., McGuire W. L. — J. biol. Chem., 1980, v. 255, p. 9699.
9. Kostraba N. C., Montagna R. A., Wang T. Y. — J. biol. Chem., 1975, v. 250, p. 1548.

10. Laemmli S. — Nature, 1970, v. 227, p. 680.
11. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L. et al. — J. biol. Chem., 1951, v. 193, p. 265.
12. Mairesse N., Galand P. — J. Steroid Biochem., 1980, v. 12, p. 299.
13. Montagna R. A., Becker F. F. — Biochim. biophys. Acta, 1980, v. 606, p. 148.
14. Pasqualini J. R., Cosquer-Clavreul Ch., Videli G. et al. — Biol. Reprod., 1981, v. 25, p. 1035.
15. Sanders C. — Biochem. biophys. Res. Commun., 1977, v. 78, p. 1034.
16. Umansky S. R., Kovalev Y. I., Tokarskaya V. I. — Biochim. biophys. Acta, 1975, v. 383, p. 242.
17. Wang T. Y. — Biochem. J., 1967, v. 242, p. 1220.
18. Wang T. Y. — Biochem. biophys. Acta, 1978, v. 518, p. 81.
19. Weber K., Osborn M. — J. biol. Chem., 1969, v. 244, p. 4406.

Поступила 14.06.84

COMPOSITION OF LABILE-BOUND NON-HISTONE PROTEINS IN CHROMATIN OF COCKEREL LIVER TISSUE AFTER TREATMENT WITH ESTRADIOL

E. S. Gevorgyan, A. Sh. Abramyan, K. S. Malinyan, G. A. Panosyan

Chair of Biophysics, State University, Yerevan

Preparations of chromatin and labile-bound nonhistone proteins were isolated from cockerel liver cells after treatment of birds with estradiol as well as from controls. Six protein fractions were obtained by means of column chromatography on DEAE cellulose; two of these fractions were quantitatively altered due to the hormonal effect. Electrophoretic separation of both total labile-bound nonhistone proteins and their hormone-dependent fractions showed that protein composition was altered after the estradiol treatment as compared with controls.

УДК 618.19-006.6-085.277.3-036.8-07:616.155.3-008.3:577.212.3

М. А. Нишанова, Н. А. Митряева, Л. А. Гайсенюк

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В ПРОЦЕССЕ ЦИТОСТАТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

НИИ медицинской радиологии Минздрава УССР, Харьков

Использование в системе комплексного лечения опухолевых заболеваний цитостатической терапии дает определенный противоопухолевый эффект, но при этом неизбежно имеет место поражение активно пролиферирующих нормальных тканей организма, к которым относится костный мозг. Возникающая миелодепрессия является препятствием для даль-

нейшего лечения онкологических больных и может сопровождаться развитием угрожающих жизни осложнений.

Поскольку разрушающее действие химиопрепаратов связано прежде всего с повреждением ядерной ДНК клетки [1, 2, 5], восстановление структурной целостности и функциональной активности генетического аппарата клетки может