

В. С. ГУРЕВИЧ, Н. И. РАЗУМОВСКАЯ, Н. М. ХАЛАФОВА

## НЕРВНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ПРОЦЕССОВ ТРАНСКРИПЦИИ В ЯДРАХ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ

(Представлено академиком Е. М. Крепсом 29 I 1973)

За последние годы получены данные о реализации регулирующего влияния нервной импульсации на синтез ферментных белков в генетическом аппарате клетки, в частности на этапе транскрипции (<sup>1-4</sup>). По современным представлениям, матричная активность ядерной ДНК находится в прямой зависимости от функционального состояния ее комплекса с белками — хроматина. Важная роль в ограничении матричной активности приписывается хроматиновым белкам основного характера — гистонам, в связи с чем ранее нами было проведено электрофоретическое исследование фракционного состава этой гетерогенной группы белков в ядрах нормальной мышцы, мышцы, лишенной нервной импульсации (денервированной), и мышцы обездвиженной (тендотомированной). Только в денервированной мышце через 3 дня после денервации было отмечено значительное избирательное увеличение одной фракции гистонов —  $F_{2a1}$  (<sup>5</sup>). Так как эта фракция, наряду с фракцией  $F_3$ , в наибольшей степени подвергается ферментативному ацетилированию, которое, по мнению многих авторов, достоверно снижает репрессирующее действие гистонов на матричную активность хроматина (<sup>6-8</sup>), предметом настоящего исследования явилось ацетилирование гистонов и, параллельно, синтез РНК в ядрах интактной, денервированной и денервированной, подвергнутой непрямой электростимуляции, крокожих мышц.

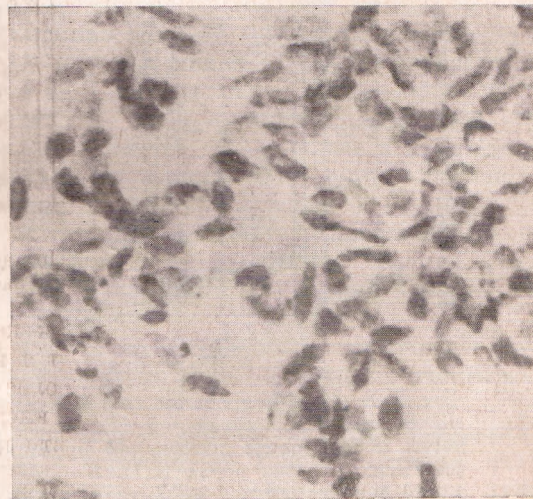


Рис. 1. Ядра, выделенные из нормальной скелетной мышцы по методу А. И. Силаковой. Толуидиновый синий. 300×

Денервацию производили путем перерезки седалищного нерва на уровне средней трети бедра. Электростимуляцию периферического отрезка нерва проводили в течение часа (при исследовании ацетилирования гистонов) или 2 час. (при исследовании синтеза РНК) через биполярные платиновые электроды с помощью генератора прямоугольных импульсов ЭС-4М с частотой 3 имп/сек, амплитудой 10 в и продолжительностью импульса 5 мсек. Затем из мышц выделяли чистые ядра по методу Силаковой (<sup>9</sup>). Чистоту ядер контролировали микроскопически (рис. 1). Ядра инкубировали с  $C^{14}$ -ацетатом натрия в течение часа по методике



(<sup>10</sup>), экстрагировали из них суммарный гистон и измеряли его радиоактивность. Синтез РНК исследовали в обычной инкубационной среде (<sup>11</sup>), но в присутствии только ионов  $Mn^{2+}$  в течение 30 мин. при 37°, измеряя интенсивность включения  $C^{14}$ -уридина в кислотонерастворимую фракцию ядер. Радиоактивность проб измеряли на газопротоочном счетчике. Содержание ДНК в ядрах определяли по (<sup>12</sup>), проводя измерения на спектрофотометре при двух длинах волн: 595 и 650 мμ (<sup>13</sup>). Количество белка во фракции гистонов определяли микробиуретовым методом.

Несмотря на увеличение одной из быстро ацетилирующихся фракций, включение меченого ацетата в общий гистон денервированной мышцы через 3 дня после денервации оказалось сниженным на 50—60%. Поэтому увеличение фракции  $F_{2a1}$ , по-видимому, можно расценивать как компенсаторную реакцию. Снижение скорости ацетилирования было выражено в такой же сильной степени уже через 18 час. после денервации, а в результате электростимуляции денервированной мышцы в течение 1 часа



Рис. 2. А — ацетилирование гистонов и синтез РНК в ядрах крокошных мышц кроликов: интактной (I); через 18 час. после денервации (II); через 18 час. после денервации проводили электростимуляцию периферического отрезка нерва (III). Б — то же, что А, но в короткие сроки после денервации. I — интактная мышца; II — через 1 час. после денервации для ацетилирования гистонов и через 2 часа для синтеза РНК; III — то же, что II, но с применением электростимуляции после указанных сроков. 1 — ацетилирование гистонов; 2 — синтез РНК

уровень ацетилирования нормализовался (рис. 2А), Изменения интенсивности включения метки в РНК полностью соответствовали изменениям ацетилирования гистонов с той, однако, разницей, что восстановление нормального уровня синтеза РНК с помощью электростимуляции достигалось не за 1 час, а за 2 часа (рис. 2А). Последнее обстоятельство соответствует данным об отставании во времени пика изменений синтеза РНК от пика изменения ацетилирования с момента воздействия модифицирующего агента приблизительно в 2 раза (<sup>6</sup>). Такое быстрое воздействие электростимуляции заставило нас предположить, что сама по себе перерезка нерва также должна привести к менее быстрым и резким изменениям исследуемых параметров в мышечных ядрах. Действительно, уже через 1 час после денервации мы смогли получить такое же значительное снижение ацетилирования гистонов, как и через 18 час., а через 2 часа — снижение синтеза РНК. Электростимуляция нерва восстанавливала исходные уровни этих величин (рис. 2Б).



Полученные данные позволяют заключить, что изменения ацетилирования гистонов предшествуют дальнейшим биохимическим сдвигам в депривированной мышце. Не менее важен тот факт, что электростимуляция практически сразу восстанавливает исходный уровень ацетилирования, независимо от того, насколько давно (1 час или 18 час. назад) была произведена перерезка нерва. В отличие от большого ряда относительно медленно развивающихся ферментативных изменений, ацетилирование гистонов, очевидно, занимает особое место по своей оперативности.

В настоящее время существуют представления о том, что изменения в скорости и степени ацетилирования гистонов происходят в результате или, по крайней мере, одновременно с конформационной перестройкой нуклеопротеидного комплекса ядра (<sup>6</sup>, <sup>14</sup>). Согласно современным моделям организации хромосом, этот комплекс специфически связан с ядерной мембраной (<sup>15</sup>), а через нее со всей мембранной системой клетки. Поэтому при интерпретации полученных результатов мы исходили из представлений Нахманзона, Тасаки, Конева и др. о роли конформационных изменений мембранных белков в образовании и проведении нервного импульса (<sup>16-18</sup>). Основываясь на существовании непрерывной мембранной системы клетки, можно предположить, что возникающие в связи с генерацией нервного импульса конформационные изменения в возбужденных мембранах могут быть функционально связаны со структурными перестройками дезоксирибонуклеопротеидных комплексов ядра; иначе говоря, речь идет о проведении конформационного сигнала по специфическим каналам до биохимической мишени. Тогда определенному (например, по своим частотным или амплитудным характеристикам) типу нервных сигналов соответствовало бы избирательно определенное структурное состояние хроматинового комплекса, изменяющее в каких-то конкретных участках связь матрицы с гистоном (или группой гистонов) и увеличивающее или уменьшающее их доступность для действия ацетилтрансферазы. В этом случае степень специфичности репрессии — дерепрессии генома могла бы определяться как специфичность самого первого импульса, так и конформационным состоянием хроматина в момент приятия сигнала.

Представления о нервной регуляции активности генетического материала не противоречат схеме Жакоба и Моно, а также существованию гормонального уровня регуляции. Занимая в иерархии регуляторных уровней наиболее высокое положение, созданное эволюцией, нервная система, по-видимому, направляет и регулирует действие других регуляторных факторов и может затрагивать более обширные области генома, участвуя, например, в процессах дифференцировки.

Институт экспериментальной медицины  
Академии медицинских наук СССР  
Ленинград

Поступило  
10 I 1973

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> В. С. Ильин, А. М. Емельянов и др., Журн. эволюцион. биохим. и физиол., 8, № 3, 240 (1972).
- <sup>2</sup> Н. И. Разумовская, Биохимия, 36, № 4, 702 (1971).
- <sup>3</sup> W. Grampp, J. B. Harris, S. H. Thesleff, J. Physiol. (Gr. Brit), 221, № 3, 743 (1972).
- <sup>4</sup> F. J. Samaha, L. Guth, R. W. Albers, Exp. Neurol., 27, № 2, 276 (1970).
- <sup>5</sup> В. С. Гуревич, Н. И. Разумовская, Биохимия, 38, № 4 (1973).
- <sup>6</sup> V. G. Allfrey, Federat. Proc., 29, № 4, 1447 (1970).
- <sup>7</sup> S. C. Bondy, S. Roberts, R. C. Morelos, Biochem. J., 119, № 4, 665 (1970).
- <sup>8</sup> L. Berlowitz, D. Palloia, Exp. Cell Res., 71, № 1, 45 (1972).
- <sup>9</sup> А. И. Силакова, С. Н. Полищук, К. Л. Коноплицкая, ДАН, 198, № 6, 1468 (1971).
- <sup>10</sup> L. C. Boffa, G. Vidali, Biochim. et biophys. acta, 236, № 1, 259 (1971).
- <sup>11</sup> D. Baieve, J. R. Florini, Arch. Biochem. and Biophys., 139, № 2, 393 (1970).
- <sup>12</sup> K. Burton, Biochem. J., 62, 315 (1956).
- <sup>13</sup> З. Диге, В кн. Нуклеиновые кислоты, М., 1957, стр. 425.
- <sup>14</sup> D. Kilander, R. Rigler, Exp. Cell Res., 54, № 2, 163 (1969).
- <sup>15</sup> А. Н. Мосолов, В кн. Успехи современной генетики, М., 1971, стр. 122.
- <sup>16</sup> D. Nachmansohn, Science, 168, № 3935, 1059 (1970).
- <sup>17</sup> И. Тасаки, В кн. Нервное возбуждение, М., 1971.
- <sup>18</sup> С. В. Конев, С. Л. Аксенов, Е. А. Черницкий, В кн. Кооперативные переходы белков в клетке, Минск, 1970.