

А. И. КЛИМЕНКО, А. Б. МАЛЫШЕВ, академик АН УССР В. Н. НИКИТИН,
И. Ф. ПАСКЕВИЧ, Л. Л. СИМИРЕНКО

АЦЕТИЛИРОВАНИЕ БЕЛКОВ ЯДЕР КЛЕТОК ПЕЧЕНИ БЕЛЫХ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

В регуляции процесса транскрипции большую роль играют ядерные белки (¹, ²). Однако интимные механизмы их воздействия на этот процесс в настоящее время широко дискутируются. Известно, что роль щелочных белков гистонов и негистоновых белков (в основном кислых) в генетическом выражении ДНК различна: гистоны оказывают главным образом репрессорное влияние на этот процесс, в то время как негистоновые белки, выступая в роли дерепрессоров, стимулируют этим транскрипцию и, вероятно, определяют ее специфичность. В последнее время усилия исследователей были направлены на выяснение роли различных химических модификаций молекул гистонов в выполнении этими белками функции репрессора ДНК. Как было впервые показано в лаборатории Олффри (³), ацетилирование гистонов существенно инактивирует их ингибирующий эффект на ДНК. В ряде исследований высказывается предположение, что модификации молекул гистонов могут быть одним из тонких механизмов управления этими белками активностью генома. Имеются данные о том, что в процессе возрастного развития организма темп транскрипции генома затухает (⁴). Однако причины, вызывающие это понижение, во многом не ясны. Вероятно, увеличение в геноме с возрастом животных соотношения гистоны/ДНК (⁴, ⁵) или же усиление (⁶) или ослабление прочности комплексообразования отдельных фракций гистонов с ДНК или негистоновыми белками в значительной степени могут изменять транскрипцию. В этом аспекте представляется важным выяснить динамику ацетилирования ядерных гистонов и негистоновых белков у животных разного возраста.

В настоящем исследовании изучалось включение C^{14} -ацетата натрия в гистоны, кислые и глобулиновые белки ядер клеток печени белых крыс линии Вистар 1-, 3-, 12- и 24-месячного возраста.

Через 90 мин. после внутрибрюшинного введения животным изотопной метки из клеток печени в сахарозной среде выделяли ядра (⁵), из которых с помощью 0,14M NaCl, 0,25N HCl и 0,1N раствора NaOH извлекали соответственно глобулиновые белки, гистоны и кислые белки. Оптическую плотность препаратов белков определяли на спектрофотометре «Хитачи», их радиоактивность измеряли на счетчике «Нуклеар Чикаго Изокап 300» в жидком диоксановом сцинтилляторе ЖС-7.

Проведенные исследования показали заметные возрастные различия во включении C^{14} -ацетата в гистоны и кислые белки (табл. 1). Как видно из табл. 1, интенсивность ацетилирования гистонов наиболее высока у 1-месячных животных, к 12-месячному возрасту она достоверно понижается. Следует отметить, что некоторыми авторами также показано уменьшение ацетилирования гистонов с увеличением возраста людей (⁷) или же возраста культуры клеток тканей (⁸). Однако результаты наших экспериментов показывают, что у очень старых животных интенсивность ацетилирования гистонов повышается до уровня молодых. Если принять во внимание, что в печени старых животных транскрипция ДНК более низка, чем у молодых (⁶, ⁹⁻¹¹), то повышение ацетилирования гистонов у старых животных не согласуется с представлением о дерепрессорном воздействии этого про-

песса на активность генома. Вероятно, устранение или ослабление блокирующего воздействия гистонов на ДНК посредством ацетилирования (или других модификаций) молекул этих белков может быть лишь одним из многообразных звеньев в сложном механизме регуляции активности генома в клетках эукариотов ⁽¹²⁾. Имеющиеся данные ⁽¹³⁾ показывают, в частности, что параллелизм между ацетилированием гистонов и стимуляцией

Таблица 1
Возрастные особенности включения
C¹⁴-ацетата натрия в белки ядер клеток
печени белых крыс (имп/мин
на 1 мг белка)

Возраст животных, мес.	Суммарные гистоны	Глобулино- вые белки	Кислые белки
1	3164±302	1848±232	664±48
3	2160±258 <i>P</i> <0,01	1594±94 <i>P</i> >0,05	1487±176 <i>P</i> <0,001
12	1952±224 <i>P</i> <0,01	1478±184 <i>P</i> >0,05	1082±209 <i>P</i> <0,001
24	2892±209 <i>P</i> >0,05	1982±142 <i>P</i> >0,05	1150±91 <i>P</i> <0,01

синтеза РНК наблюдается не всегда. В некоторых случаях отмечается даже торможение синтеза РНК при высоком уровне ацетилирования гистонов ⁽¹⁴⁾. Неожиданно высокий уровень ацетилирования гистонов в ядрах клеток печени старых животных, так же как и другие наблюдения ⁽¹⁵⁾, позволяют поставить вопрос о том, что геном в старости, возможно, не только (и не столько) репрессирован, но при его работе по синтезу РНК могут накапливаться черты дисгармонии.

Проведенные эксперименты показали, что ацетилирование глобулиновых белков существенно не

изменяется с возрастом животных. Вместе с тем включение C¹⁴-ацетата в кислые белки ядер в процессе постнатального онтогенеза животных заметно нарастает. При этом наиболее интенсивно увеличение происходит в первой половине постнатального онтогенеза, в период от 1- до 3-месячного возраста и в дальнейшем этот уровень сохраняется без значительных колебаний до старости. Весьма вероятно, что интенсивное ацетилирование кислых белков в постнатальном онтогенезе может существенно отражаться на взаимодействии этих белков с гистонами, влияя в конечном итоге на специфическую дерепрессию генома в процессе развития животных. Дальнейшие эксперименты в этом аспекте представляются перспективными.

Харьковский государственный университет
им. А. М. Горького

Поступило
11 I 1974

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ J. A. Wilhelm, T. C. Spelsberg, L. S. Hnilica, Sub-Cell Biochem., v. 1, 39 (1971).
- ² T. C. Spelsberg, J. A. Wilhelm, L. S. Hnilica, Sub-Cell Biochem., v. 1, 107 (1972).
- ³ V. G. Allfrey, R. Faulkner, A. E. Mirsky, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A., v. 51, 786 (1964).
- ⁴ В. Н. Никитин, Журн. эволюцион. биохим. и физиол., т. 8, 3, 233 (1972). ⁵ А. И. Клименко, Биохимия, т. 25, 5, 820 (1964). ⁶ С. М. Желябовская, Г. Д. Бердышев, Цитология и генетика, Киев, № 3930—3931, 72-Деп., 1972. ⁷ Y. H. Oh, R. A. Conard, Life Sci., Part 2, v. 11, 13, 677 (1972). ⁸ J. M. Ryan, V. J. Cristofalo, Biochem. and Biophys. Res. Commun., v. 48, 4, 735 (1972). ⁹ А. И. Клименко, Г. С. Тупчиенко, Онтогенез, т. 4, 1, 80 (1973). ¹⁰ Ц. М. Шерешевская, Цитология, т. 9, 547 (1967). ¹¹ W. J. Mainwaring, Biochem. J., v. 110, 79 (1968). ¹² А. А. Мюльберг, Л. И. Тищенко и др., Молекулярная биология, т. 6, 3, 457 (1972). ¹³ A. J. McGillivray, P. P. V. Monjardino, Biochem. J., v. 108, 22P (1968). ¹⁴ T. Ono, H. Terajama et al., Biochim. et biophys. acta, v. 179, 214 (1969). ¹⁵ J. M. Clarke, L. Maynard, Nature, London, v. 209, 627 (1966).