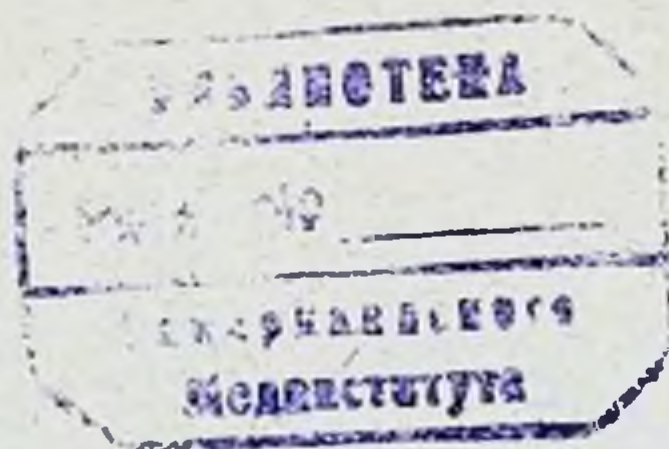


Э. А. РАПОПОРТ

**БИОСИНТЕЗ ЯДЕРНЫХ ГИСТОНОВ
ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ
СОСТОЯНИЯХ И РОСТЕ КЛЕТОК ПЕЧЕНИ**

Автореферат диссертации
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук



Москва — 1984

Э. А. РАПОПОРТ

БИОСИНТЕЗ ЯДЕРНЫХ ГИСТОНОВ
ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ
СОСТОЯНИЯХ И РОСТЕ КЛЕТОК ПЕЧЕНИ

Автореферат диссертации
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Работа выполнена в лаборатории биохимии (зав. — профессор А. С. Конилова) Института Хирургии имени А. В. Вишневского (директор — действительный член АМН СССР, профессор А. А. Вишневский) АМН СССР.

Научный руководитель: профессор А. С. КОНИКОВА.

Официальные оппоненты:

Чл.-корр. АМН СССР проф. И. Б. ЗБАРСКИЙ.

Проф. В. М. РУБЕЛЬ.

Защита диссертации состоится на заседании Межинститутского совета по физиологии и биохимии АМН СССР (Солянка, 14) «17» III 1964 г.

Автореферат разослан «1» II 1964 г.

В настоящее время имеются многочисленные сведения о химических и физико-химических свойствах гистонов — специфических белков, входящих в наиболее ответственные в функциональном отношении структуры клетки — хромосомно-ядрышковый аппарат ядра. Установлено, что эти белки играют не только структурную роль, но и принимают участие в регуляции ряда биосинтетических процессов в ядрах клеток. В связи с этим еще больше возрос интерес к исследованию гистонов. Однако вопросам о закономерностях синтеза и распада гистонов посвящено значительно меньше работ, чем анализу их статических свойств.

Отсутствие тканевой и видовой специфичности аминокислотного состава гистонов — наиболее интересный факт, установленный при исследовании статических свойств этих белков. При этом не было обнаружено различий в аминокислотном составе гистонов, выделенных из нормальных покоящихся и растущих тканей и из опухолей. Такая монотонность статических свойств гистонов как бы находится в противоречии с физиологическими и морфологическими особенностями разных тканей, из которых выделялись эти белки. В связи с этим можно было ожидать, что эти особенности отражаются в динамических свойствах гистонов.

Данная работа посвящена исследованию закономерностей биосинтеза ядерных гистонов печени крысы при различных состояниях этой ткани. С этой целью мы исследовали биосинтез гистонов в покоящейся печени (интактных, пораженных опухолью и беременных крыс), регенерирующей и эмбриональной печени, а также в трансплантированной гепатоме крыс.

Использование указанных моделей создавало возможность выявить различия в процессе биосинтеза белковых молекул одного и того же аминокислотного состава при неизменности количества белка в ткани и на фоне его валового прироста. При этом можно было обнаружить отличия биосинтеза гистонов при нормальном и патологическом росте и при изменении функционального состояния покоящихся клеток печени.

Сравнительные исследования биосинтеза гистонов в перечисленных тканях мы проводили с помощью метода меченых атомов, определяя величины включения радиоаминокислот в эти белки в целостном организме.

Однако сравнительная оценка по величинам включения меченых аминокислот интенсивности биосинтеза белков и, в частности, гистонов, в разных тканях встречает серьезные трудности из-за возможных различий в кровоснабжении, мембранной проницаемости и способности тканей к концентрированию аминокислот, различий фонда немеченых аминокислот и из-за связанного со всем этим неодинакового разведения метки. Попытки некоторых авторов (Буш и др., 1959) обойти эти трудности при оценке интенсивности биосинтеза гистонов в разных тканях путем сопоставления в каждой из них метаболической активности этих белков с таковой белков цитоплазмы (Г/Ц) Батлер (1962) подверг обоснованной критике, ибо колебания величины Г/Ц могут быть связаны с изменением метаболической активности не только гистонов, но и белков цитоплазмы.

С целью выявления особенностей биосинтеза гистонов при различных функциональных состояниях и росте клеток печени нами был применен другой прием анализа. Было проведено сравнение отношений величин включения меченых аминокислот в две основные фракции гистонов, — лизиновый и аргининовый гистон, — в каждой из исследованных тканей. Такое параллельное изучение биосинтеза двух белков, различающихся по своему аминокислотному составу, но находящихся в одной и той же субклеточной структуре, позволяло исключить неодинаковое разведение меченого предшественника в процессе биосинтеза каждого из изучаемых белков, так как в этом случае утилизация меченой аминокислоты происходит из одного и того же метаболического фонда. Такая постановка эксперимента позволяла, следовательно, установить действительные отличия в биосинтезе гистонов, поскольку сравнивались не только величины включения меченых аминокислот в одноименные гистоны, но и отношения величин включения одноименных аминокислот в лизиновый и аргининовый гистоны различных исследованных нами объектов.

При этом мы изучали включение в гистоны лизина- C^{14} , метионина- C^{14} , глицина- C^{14} и цистеина- S^{35} .

Использование нескольких меченых предшественников для сравнительного исследования биосинтеза двух белков с известным аминокислотным составом, находящихся в пределах одного и того же метаболического котла, позволяло решать ряд вопросов, касающихся механизма биосинтеза белка.

До последнего времени в работах, посвященных исследованию биосинтеза белков, редко одновременно используется, а

при исследовании биосинтеза различных гистонов вовсе не применялось несколько меченых предшественников, поскольку считается, что включение одной меченой аминокислоты достаточно отражает активность биосинтеза всей белковой молекулы. При этом допускается, что в процессе биосинтеза все структурные единицы белка синхронно переходят в его состав. Однако экспериментально это было показано в единичных работах и только для биосинтеза белков покоящихся нормальных тканей (Симпсон и Велик, 1954).

Исследование включения нескольких меченых аминокислот параллельно в два гистона ядер различных тканей давало возможность установить, одинаково ли меняется утилизация различных меченых аминокислот в процессе биосинтеза этих белков при изменении функционального состояния и росте тканей и тем самым частично осветить особенности механизма биосинтеза белка в них.

Наряду с этим мы сопоставляли различия величин включения одноименных меченых аминокислот в два гистона с различиями в содержании соответствующих аминокислотных остатков в этих белках. Такое сопоставление способствовало отражению степени корреляции между интенсивностью включения меченых аминокислот и аминокислотным составом белков.

Следует отметить, что включение меченых аминокислот в белки может быть результатом различных реакций, непосредственно связанных с биосинтезом белковых молекул. Оно может происходить: 1) при построении белковой молекулы *de novo* из аминокислот или при достройке молекул белка, 2) при образовании вначале меченых пептидов с последующим синтезом из них белков и 3) вероятно, при замещении отдельных аминокислотных остатков белка без разрушения целой белковой молекулы, т. е. при частичном ее обновлении. Во всех случаях включение меченых аминокислот в полипептидные цепи является неотъемлемым моментом процесса биосинтеза белка. Однако величины включения аминокислот в белки сами по себе еще не могут отразить, каким из возможных путей в каждом отдельном случае происходило образование белка.

Отсюда вытекает, что для выявления конкретных путей биосинтеза белка существенным моментом является сопоставление величин включения меченых аминокислот в белки с числом соответствующих аминокислотных остатков в этих белках, так как отсутствие зависимости между величинами включения аминокислот и аминокислотным составом свидетельствовало бы о процессе частичного обновления белковых молекул, а наличие такой зависимости указывало бы на построение белковых молекул *de novo* только из свободных аминокислот.

Сопоставление величин включения аминокислот в гистоны с аминокислотным составом этих белков проводилось нами при биосинтезе гистонов в покоящихся и в растущих тканях, т. е. при различных соотношениях скоростей синтеза и распада этих белков.

Кроме того, исследовался в некоторых опытах биосинтез сывороточных альбуминов и глобулинов наряду с биосинтезом ядерных гистонов. Это позволяло нам параллельно проследить закономерности утилизации нескольких меченых аминокислот при образовании структурных и циркулирующих белков одного и того же животного.

Экспериментальная часть. Опыты проводили на 3-х сериях крыс весом 110—120 г и серии беременных крыс весом 250—300 г на 20—21 день беременности.

Интактные животные 1-й серии служили контролями. У крыс 2-й серии вызывали регенерационную гипертрофию ткани печени удалением двух третей ее по методу Хиггинса и Андэрсэна. Крысам 3-й серии прививали внутрибрюшинно штамм асцитной гепатомы Зайделя.

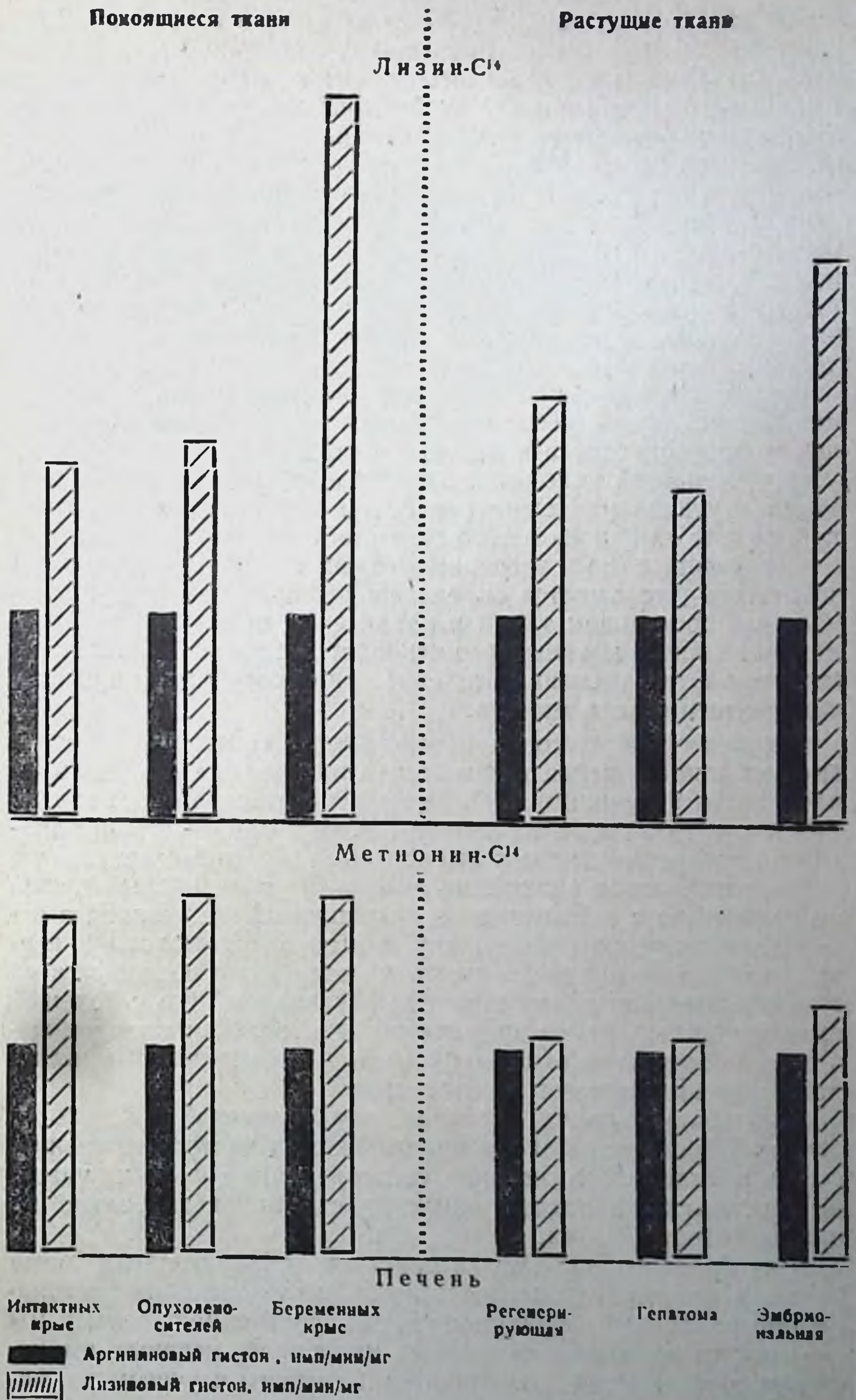
Меченые аминокислоты вводили через 72 часа после операции во 2-й серии и через 120 часов после прививки опухоли, на высоте развития асцита, в 3-й серии. Животные всех серий были разделены на 2—4 группы и крысам каждой группы внутрибрюшинно вводили одну из меченых аминокислот в эквимольных количествах и с одинаковой удельной активностью из расчета 20 μ М аминокислоты с суммарной радиоактивностью 4 000 000 имп/мин на 100 г веса.

Во всех опытах животных забивали через 2 часа после введения меченой аминокислоты.

Ядра клеток из всех исследованных тканей выделяли по методу Шнейдера с последующей отмывкой их в градиенте плотности по Хогебуму. Фракционирование ядерных белков проводили, как это описано у Эрнст и Хагена (1960). Суммарные гистоны разделяли на аргининовый и лизиновый методом Дэли и Мирского (1955). Отношение лизин/аргинин в них равно соответственно 1,0 и 11,0. Альбумин и глобулины сыворотки крови получали методом Корнера и Дебро (1956).

В выделенных белках после отмывания их до постоянной радиоактивности и высушивания определялись с помощью торцового счетчика величины включения радиоактивных аминокислот.

На сводной диаграмме представлены соотношения величин включения лизина- C^{14} и метионина- C^{14} в два гистона во всех исследованных тканях. При этом величины включения аминокислот в аргининовый гистон приняты за единицу.



Из диаграммы видно, что только в печени интактных крыс и крыс-опухоленосителей наблюдаются постоянные соотношения величин включения лизина- C^{14} и метионина- C^{14} в гистоны. Аналогичная картина наблюдалась нами в печени интактных крыс при включении глицина- C^{14} и цистеина- S^{35} .

В печени беременных крыс и во всех растущих тканях это постоянство нарушается. В печени беременных наблюдается относительное повышение утилизации лизина- C^{14} при биосинтезе лизинового гистона. Для всех растущих тканей характерно относительное понижение утилизации метионина- C^{14} при биосинтезе лизинового гистона, при этом в регенерирующей и эмбриальной печени в отличие от гепатомы оно сопровождается относительным повышением утилизации лизина- C^{14} .

Таким образом, при изменении функционального состояния клеток печени неодинаково изменяется утилизация каждой из аминокислот в процессе биосинтеза двух гистонов, хотя оба гистона находятся в одних и тех же ядерных структурах, и утилизация аминокислот при биосинтезе этих белков происходит из одного и того же метаболического фонда.

Полученные нами экспериментальные данные позволяют заключить, что имеется определенная связь между функциональным состоянием ткани и характером изменений утилизации различных меченых аминокислот в процессе биосинтеза гистонов. Эти изменения особенно ярко проявляются при биосинтезе лизинового гистона.

Относительно высокая интенсивность синтеза лизинового гистона в покоящейся ткани печени при расчете его удельной активности на единицу веса белка обнаруживается не только при изучении включения лизина- C^{14} , но и при включении других использованных нами аминокислот. Из этого следует, что более интенсивное включение лизина- C^{14} в лизиновый гистон по сравнению с включением в аргининовый, не связано с относительно высоким содержанием этой аминокислоты в первом белке, ибо и другие аминокислоты, даже содержащиеся в нем в меньших количествах, включаются в него с большей интенсивностью, чем в аргининовый гистон. При этом наблюдается постоянство отношений величин включения 4-х исследованных аминокислот в оба гистона.

При сравнительном анализе метаболической активности белков различного молекулярного веса, в частности, лизинового и аргининового гистонов, сопоставление только их удельных активностей, рассчитанных на единицу веса белка, является недостаточным.

Для более полной характеристики обнаруженных нами расхождений в утилизации аминокислот указанными гистонами при различных функциональных состояниях клеток мы сравнивали величины включения каждой из меченых аминокислот в лизиновый и аргининовый гистоны с учетом их мо-

лекулярных весов и молярного содержания соответствующих аминокислотных остатков в составе этих белков. При этом величины включения аминокислот в гистоны выражались не только в имп/мин/мг белка, но и в имп/мин на микромоляр белка и на микромоляр соответствующих аминокислотных остатков, содержащихся в каждом из гистонов. Для этого, принимая молекулярный вес лизинового гистона равным 8 000, а аргининового гистона — 17 000 (Уи, 1957), удельную активность гистонов, рассчитанную на единицу веса, пересчитывали на микромоляр этих белков. Величина радиоактивности микромоля каждого из гистонов делилась затем на количество микромолей аминокислотных остатков, входящих в состав соответствующего белка. Аналогичные расчеты проводили Лофт-филд и Ейгнер (1958) при исследовании биосинтеза ферритина в печени крысы.

В таблице I приведены сравнительные данные по включению метионина- C^{14} в оба гистона с учетом молекулярного веса этих белков и содержания данной аминокислоты в них.

Таблица I

Величины включения метионина — C^{14} , выражение в	Лизиновый гистон Л	Аргининовый гистон А	Л/А
1. Имп/мин/мг белка	316	190	1,68
2. Имп/мин/микромоляр белка	1011	1292	0,77
3. Имп/мин/микромоляр аминокислотного остатка	3370	626	5,3

Так, удельная активность лизинового гистона, рассчитанная на единицу веса, выше таковой аргининового гистона. Однако, учитывая то, что в одинаковой навеске двух белков различного молекулярного веса содержится неодинаковое количество белковых молекул, мы сравнивали величины включения данной аминокислоты в микромоляр двух гистонов. При этом оказывается, что радиоактивность эквимольных количеств этих белков мало различается. Почти одинаковая радиоактивность микромолей двух гистонов, содержащих различные количества метионина, обусловлена неодинаковой удельной активностью метионинового остатка в этих белках. При этом удельная активность, рассчитанная на микромоляр метионинового остатка, в лизиновом гистоне резко превышает таковую в аргининовом гистоне.

Иная картина наблюдается при включении лизина- C^{14} в гистоны. Хотя удельная активность лизинового гистона, рас-

считанная на единицу веса в той же мере, как и при включении метионина, выше удельной активности аргининового гистона, удельная активность, рассчитанная на микромоляр лизинового остатка, в лизиновом гистоне ниже, чем в аргининовом. Буш и др. (1962), Хнилика, Тэйлор, Буш (1962) тоже обнаружили, что при включении лизина удельная активность лизинового гистона, рассчитанная на микромоляр лизинового остатка, ниже таковой аргининового гистона.

Соотношения удельных активностей одноименных аминокислотных остатков в двух гистонах в отличие от соотношения удельных активностей гистонов, рассчитанных на единицу веса, отражают действительные различия в утилизации каждой меченой аминокислоты при биосинтезе двух белков. Интересно, что в то время как соотношения величин включения 4-х исследованных аминокислот в два гистона печени интактных крыс при расчете удельных активностей на единицу веса белка имеют постоянную величину, соотношения удельных активностей аналогичных аминокислотных остатков, как видно из таблицы 2, отличаются.

Таблица 2

Величины включения 4-х меченых аминокислот в гистоны покоящейся печени крысы, выраженные в удельной активности белка и удельной активности аминокислотных остатков

Аминокислота	Удельная активность белка (имп/мин/мг)		Б/А	Удельная активность аминокислотных остатков (имп/мин/μM)		
	аргининовый гистон А	лизиновый гистон Б		аргининовый гистон А	лизиновый гистон Б	Б/А
Глицин — C ¹⁴	110	203	1,84	55	135	2,45
Лизин — C ¹⁴	130	232	1,76	52	33	0,63
Метионин — C ¹⁴	190	316	1,68	626	3370	5,3
Цистеин — S ³⁵	38	62	1,63	370	—	—

Особенно значительны различия удельных активностей метиониновых остатков двух гистонов, меньше выражено различие удельных активностей глициновых и еще меньше лизиновых остатков этих белков, хотя в каждом случае меченые аминокислоты утилизировались при биосинтезе обоих гистонов из одного метаболического фонда. Отсюда следует, что различия в интенсивности биосинтеза двух гистонов покоя-

щейся печени интактных крыс неодинаково проявляются при утилизации разных аминокислот, — в противоположность тому, что получается при сравнении удельных активностей двух гистонов, рассчитанных на единицу веса или микромоля белка.

Своеобразные изменения утилизации различных аминокислот при биосинтезе гистонов в исследованных тканях могут быть охарактеризованы при анализе изменений отношений удельных активностей одноименных аминокислотных остатков в двух гистонах этих тканей.

Таблица 3

Величины включения меченых аминокислот в гистоны различных тканей, выраженные в удельной активности аминокислотных остатков

Ткань печени в различных функциональных состояниях	Лизин — C ¹⁴			Метионин — C ¹⁴		
	аргининовый гистон А.	лизиновый гистон Б	Б/А	аргининовый гистон А	лизиновый гистон Б	Б/А
Покоящаяся интактных крыс	52	33	0,63	626	3370	5,3
Покоящаяся беременных крыс	73	99	1,35	921	5520	5,6
Регенерирующая	87	68	0,78	1040	3707	3,4
Эмбриональная	333	330	1,00	1690	7077	4,1
Гепатома	369	221	0,6	2378	8088	3,4

При изменении функционального состояния покоящейся ткани печени, в частности, в печени беременных, при биосинтезе гистонов наблюдается относительное повышение удельной активности лизинового остатка лизинового гистона по сравнению с удельной активностью этого остатка в аргининовом гистоне. Однако соотношение удельных активностей метиониновых остатков двух гистонов при этом не изменяется.

В эмбриональной и регенерирующей печени биосинтез лизинового гистона сопровождается изменением соотношения удельных активностей лизиновых и метиониновых остатков гистонов. При биосинтезе лизинового гистона этих тканей относительно снижается удельная активность метионинового остатка этого белка, но относительно возрастает удельная активность лизинового остатка.

Однако биосинтез лизинового гистона в гепатоме сопровождается только относительным понижением удельной ак-

тивности метионинового остатка. Этим биосинтез лизинового гистона в гепатоме отличается от биосинтеза этого белка в других растущих тканях.

Из полученных нами данных видно, что относительное понижение удельной активности метионинового остатка лизинового гистона закономерно для биосинтеза этого белка во всех растущих тканях.

Таким образом, при сравнении в каждой ткани удельных активностей гистонов, рассчитанных на микромолярные аминокислотные остатки, видно, что уже в печени интактных крыс имеет место неодинаковое увеличение утилизации лизина- C^{14} , глицина- C^{14} и метионина- C^{14} при биосинтезе лизинового гистона по сравнению с утилизацией их при биосинтезе аргининового гистона. В печени беременных крыс и в растущих тканях наблюдаются также неодинаковые изменения утилизации лизина- C^{14} и метионина- C^{14} при биосинтезе гистонов.

Эти факты находятся в противоречии с данными Симпсона и Велика (1954), которые показали, что при включении пяти меченых аминокислот в два белка скелетных мышц, находящихся в пределах одного и того же метаболического котла, удельные активности всех аминокислотных остатков в одном белке были на одну и ту же величину больше, чем в другом. Возможно, что такие результаты, полученные авторами через 38 часов после введения животным меченых аминокислот, связаны с выравниванием удельных активностей аминокислотных остатков в белках на поздних сроках.

При исследовании метаболизма двух гистонов с учетом молекулярного веса и аминокислотного состава этих белков нам удалось установить непропорциональность величин включения различных меченых аминокислот в эти белки известному аминокислотному составу последних (см. табл. 4 на стр. 13).

Из таблицы видно, что несмотря на то, что в одном микромоле лизинового гистона втрое меньше глицина и вшестеро меньше метионина, чем в микромоле аргининового гистона, величины включения каждой из этих аминокислот в гистоны мало различались. Включение лизина- 14 в микромолярных количествах обоих гистонов происходило приблизительно в одинаковых количествах, хотя в лизиновом гистоне на 6 остатков больше лизина, чем в аргининовом гистоне.

Эта непропорциональность особенно отчетливо проявляется при исследовании скоростей включения аминокислот в гистоны. Метионин- C^{14} и цистеин- S^{35} включаются в лизиновый гистон с большей скоростью, чем в аргининовый, хотя содержится их в первом белке меньше, чем во втором.

Исследование соотношения скоростей включения аминокислот и утилизация их в процессе биосинтеза двух гистонов из одного и того же метаболического фонда позволяют счи-

Величины включения меченых аминокислот в микромолярные гистоны и число соответствующих аминокислотных остатков в этих белках

Аминокислоты	Удельная активность (имп/мин/μМ) белка		Отношение	Содержится μМ аминокислоты в μМ белка		Отношение
	аргининовый гистон А	лизиновый гистон Б		аргининовый гистон В	лизиновый гистон Г	
Цистеин — S ³⁵	258	198	0,77	0,7	следы	
Глицин — C ¹⁴	748	649	0,86	14	5	0,35
Лизин — C ¹⁴	884	742	0,83	17	23	1,35
Метионин — C ¹⁴	1292	1011	0,77	2	0,3	0,15

тать, что обнаруженное несоответствие между величинами включения аминокислот и содержанием их в исследованных белках не является результатом влияния фактора разведения метки.

Аналогичное явление наблюдали и другие авторы в опытах *in vivo* (Ротерхам и др., 1957; Дэвис и др., 1959), на изолированных ядрах (Олфри и др., 1957) и в более простых системах (Кирш, Сикевич, Палад, 1960; Рабинович и Олсон, 1959; Крицман, Левитова, Сухарева, 1961).

При включении лизина-C¹⁴, метионина-C¹⁴ и аспарагиновой кислоты-C¹⁴ в сывороточный альбумин и глобулин мы обнаружили постоянство соотношений удельных активностей, рассчитанных на единицу веса этих белков, хотя они отличаются по степени физико-химической гетерогенности и аминокислотному составу.

При биосинтезе альбумина и глобулина радиолизин и радиометионин утилизируются приблизительно с одинаковой скоростью, хотя содержание этих аминокислот в каждом из белков значительно различается.

Указанные факты свидетельствуют о том, что включение аминокислот в белки сыворотки тоже происходит непропорционально аминокислотному составу этих белков.

Таким образом, отсутствие корреляции между величинами включения меченых аминокислот и содержанием соответствующих аминокислотных остатков в белках характерно не только для биосинтеза ядерных гистонов, но и для биосинтеза белков сыворотки.

Отмеченные нами своеобразные изменения утилизации разных аминокислот в процессе биосинтеза гистонов при различных функциональных состояниях клеток печени, видимо, не связаны с изменением аминокислотного состава этих белков, ибо не было выявлено заметных различий в аминокислотном составе гистонов, выделенных из различных растущих и покоящихся тканей (Хнилика и др., 1962; Лауренс и др., 1963; Батлер и Кои, 1963). Наоборот, изменения в соотношении скоростей утилизации различных аминокислот на фоне постоянства аминокислотного состава гистонов показывают, что отсутствует пропорциональность между величинами включения аминокислот и содержанием их в белках.

При интенсивном новообразовании белков в регенерирующей и эмбриональной печени и гепатоме соотношение величин включения лизина- C^{14} и метионина- C^{14} в гистоны, так же как в покоящихся клетках печени, не соответствует соотношению указанных аминокислотных остатков в составе этих белков. Следовательно, утилизация различных меченых аминокислот в процессе биосинтеза гистонов, сопряженная с валовым приростом этих белков, происходит также несоответственно их аминокислотному составу.

Создается впечатление, что несоответствие величин включения меченых аминокислот содержанию идентичных аминокислотных остатков в белках имеет место при различных соотношениях скоростей процессов синтеза и распада белка.

Ряд установленных нами фактов показывает, что синтез гистонов, видимо, проходит через стадию образования пептидов, различающихся по своей метаболической активности. Обнаруженные нами расхождения величин и скоростей включения меченых аминокислот в оба гистона не определяются, следовательно, различиями аминокислотного состава двух гистонов или фактором неодинакового разведения метки, а, видимо, отражают специфические для каждого из этих белков особенности процесса их биосинтеза. При этом появление меченого аминокислотного остатка в белках может быть результатом двух, протекающих с различной скоростью, процессов: образования вначале меченых пептидов, обновляющих свой аминокислотный состав, и последующего формирования из них специфических молекул белка.

Ряд литературных данных свидетельствует о том, что пептиды играют роль промежуточных продуктов при биосинтезе белка.

Различия удельной активности одноименной аминокислоты в разных полипептидных участках одного и того же белка обнаружены при исследовании биосинтеза яичного альбумина, инсулина, рибонуклеазы (Воган и Анфинсен, 1954), гемоглобина (Кру, Шапира, Дрейфус, 1957, 1960), а также других

белков и рассматриваются как доказательство ступенчатого пути синтеза белка, проходящего через стадии различных олигопептидов, кинетика образования которых, по мнению Штейнберга, Вогана и Анфинсена (1956), может быть различна. Гейл (1953) и Борсук (1956) для объяснения неравномерности метки в белках допускают также возможность неодинакового по скорости обновления аминокислотных остатков в различных участках полипептидной цепи.

Возможно, что своеобразные по сравнению с контролем изменения утилизации различных меченых предшественников в процессе биосинтеза гистонов как в различных растущих тканях, так и в функционально измененных покоящихся тканях, связаны с иным течением промежуточных этапов синтеза гистонов при этих состояниях или с неодинаковым изменением скорости биосинтеза отдельных участков этих белковых молекул.

Таким образом, синтез гистонов в целостном организме представляет собой сложный неодноэтапный процесс. Вариабельность этого процесса при различных функциональных состояниях и при росте клеток печени может проявляться не только изменением скорости образования всей белковой молекулы в целом, но и изменением соотношения скоростей утилизации отдельных ее структурных единиц.

ВЫВОДЫ

1. Проведено исследование биосинтеза ядерных гистонов при различных функциональных состояниях и росте клеток печени.

2. В печени интактных крыс биосинтез лизинового и аргининового гистонов протекает с различной интенсивностью. Это различие неодинаково проявляется при включении разных аминокислот, что выражается в неодинаковой величине отношения удельных активностей одноименных аминокислотных остатков двух гистонов.

4. При изменении функционального состояния клеток печени в связи с беременностью крыс относительно возрастает утилизация меченого лизина в процессе биосинтеза лизинового гистона по сравнению с таковой при биосинтезе аргининового гистона. При этом величина отношения удельных активностей лизиновых остатков двух гистонов возрастает, а аналогичная величина для метиониновых остатков не меняется.

5. В регенерирующей и эмбриональной печени относительно возрастает утилизация лизина и падает утилизация метионина в процессе биосинтеза лизинового гистона по сравнению с таковой при биосинтезе аргининового гистона. При этом величина отношения удельных активностей лизиновых

остатков двух гистонов возрастает, а аналогичная величина для метиониновых остатков падает.

6. В злокачественной гепатоме в отличие от нормально растущих тканей относительно снижается утилизация метионина без одновременного повышения утилизации лизина в процессе биосинтеза лизинового гистона по сравнению с таковой при биосинтезе аргининового гистона. При этом отношение удельных активностей метиониновых остатков двух гистонов падает, а отношение удельных активностей лизиновых остатков не меняется.

7. Как в покоящихся, так и в растущих тканях не было обнаружено пропорциональности между величинами включения меченых аминокислот в гистоны и числом соответствующих аминокислотных остатков в этих белках. Отмечены неоднозначные изменения утилизации различных меченых аминокислот в процессе биосинтеза гистонов при исследованных функциональных состояниях клеток печени, хотя аминокислотный состав этих белков, по имеющимся литературным данным, остается постоянным.

8. Отношение величин включения различных меченых аминокислот в сывороточный альбумин и глобулин не соответствует отношению идентичных аминокислотных остатков в этих белках.

9. Указанные факты могут свидетельствовать о ступенчатом пути биосинтеза исследованных белков.

Материалы диссертации опубликованы в следующих статьях:

1. К вопросу о новообразовании специфического белка. Докл. АН СССР, 1962, т. 146, № 2, 460—463. Совместно с Ю. Е. Бабской, А. С. Кониковой, А. В. Погосовой, М. Г. Крицман.

2. Independence of the amounts of incorporation of labelled amino acids into histones on the amino acid composition of these proteins, Nature, 193, 157—159 1963

Совместно с А. С. Кониковой, А. В. Погосовой, Т. Д. Гулямовым и М. Г. Крицман.

3. Особенности метаболической активности гистонов в покоящихся и делящихся клетках печени. Биохимия, т. 29, в. 1, стр. 72, 1964.

4. Биосинтез белков органов и тканей при наличии в организме очага активного роста. Докл. АН СССР, т. 154, № 5, 1964.

Совместно с А. В. Погосовой и В. П. Зеленной.

