

STUDII ASUPRA PROTEINELOR BAZICE NUCLEARE (HISTONE)

I. Distribuția cantitativă a fracțiunilor de histone din timusul de vițel separate prin cromatografia pe CM-celuloză

V. A. Blazsek

Corelația strînsă a histonelor cu ADN ne sugerează ideea rolului important al acestei proteine în procesele genetice ale celulelor. *Stedman* și *Stedman* (1) au emis ipoteza rolului de represant genetic al histonelor. Funcțiunea genetică a histonelor presupune o specificitate de specie și de rasă a acestor proteine. O asemenea specificitate calitativă nu s-a pus însă în evidență pînă acum (2) la histonele de origine diferită, cu excepția histonei din eritrocitele de găină (3). De asemenea o diferență calitativă nu s-a putut evidenția nici chiar între histonele de origine animală și cele din plante (2).

Nu este exclus însă că specificitatea histonelor prezintă un caracter cantitativ. De aceea ni se pare interesantă urmărirea repartizării cantitative a fracțiunilor de histonă din diferitele celule.

Se știe că histonele de origine animală se pot separa în trei fracțiuni principale, și anume: fracțiunea F1 (bogată în lizină), fracțiunea F2 (cu con-

ținut intermediar de lizină și arginină) și fracțiunea F3 (bogată în arginină). Repartizarea cantitativă a fracțiunilor principale ale histonelor obținute prin cromatografiere pe CM-celuloză nu a fost determinată cantitativ, din acest motiv ne-am propus să urmărim în prezenta lucrare distribuția cantitativă a fracțiunilor de histone obținute din timusul de vițel prin cromatografiere pe CM-celuloză și să comparăm rezultatele cu cele din literatură care au fost obținute prin metodele de separare prin precipitare cu solvenți organici și prin electroforeză.

Material și metodă

Izolarea histonei totale din timusul de vițel. S-a utilizat metoda III de izolare prezentată într-o lucrare anterioară (4).

Cromatografierea cantitativă pe coloană. Cromatografia pe CM-celuloză s-a efectuat folosind o coloană de 1,2×5,0 cm, echilibrată cu tampon de acid acetic-acetat de sodiu 0,05 M, pH 4.2. Cantitatea de proteină introdusă în coloană a fost de 1,0 mg dizolvată în același tampon. Eluția fracțiunilor proteice s-a făcut la temperatura camerei (22°C) în acid acetic-acetat de sodiu 0,05 M+NaCl 0,42 M, pH 4,2 (fracțiunea F1), în HCl 0,012 M (fracțiunea F2), în HCl 0,015 M (fracțiunea F3a) și în HCl 0,02 M (fracțiunea F3b). S-au colectat probe de cite 1,0 ml per un minut. Determinarea cantității de proteină s-a făcut prin metoda Lowry (5). Pentru soluția etalon am utilizat histone totale din timusul de vițel, după o dozare prealabilă a azotului prin metoda Kjeldahl (6). Rezultatele obținute au fost prelucrate statistic.

Rezultate și discuții

Repartizarea relativă a cantităților de fracțiuni histonice din timusul de vițel este prezentată în tabelul nr. 1. Din rezultate reiese că din cele patru

Tabelul nr. 1

Repartizarea cantitativă a fracțiunilor de histonă din timusul de vițel obținute prin diferite metode de separare

Metoda	Fracțiuni de histonă			
	F1	F2	F3a	F3b
Cromatografia \bar{x} : pe CM-celuloză E.S.: n:	17.2 ±2.5 11	57.5 ±4.6	14.8 ±2.6	10.2 ±3.0
Precipitarea cu solvenți organici (7)	18.1	60.6	21.2*	
Electroforeză în gel de amidon (8)	20.8	65.0	14.7*	
Electroforeza în gel de poli- acrilamidă (9)	17.0	83.0**		

* Fracțiunea F3

** Fracțiunea F2+F3

fracțiuni de histone cantitativ predomină fracțiunea F2, alcătuind în acest fel mai mult de jumătate din cantitatea totală de histone. Fracțiunile F3 (3a și 3b) și F1 reprezintă valori mai mici (25 % și 17,2 %).

Comparind distribuția cantitativă a fracțiunilor de histone obținute pe CM-celuloză, cu cele obținute prin precipitare cu solvenți organici (7) și prin electroforeză în gel de amidon (8) și de poliacrilamidă (9), reiese că valorile obținute de noi sînt într-o strînsă concordanță cu aceste date. Deosebirile ivite între valorile obținute prin electroforeză în gel de amidon și cele obținute cu celelalte metode, pot fi atribuite fie adsorbției nespecifice moleculelor de proteină, pe gel de amidon, fie greutăților de ordin tehnic întîmpinate la evaluarea electroforegramelor în gel de amidon.

Datele noastre par să indice că fracțiunile principale ale histonelor din timusul de vitel sînt componenți bine definiți într-o cantitate constantă și existența lor nu depinde de metoda folosită pentru izolarea acestor proteine.

Se deduce de asemenea că aceste fracțiuni sînt componenți reali ai cromosomilor nativi și astfel se poate presupune că aceste trei fracțiuni au roluri diferite în mecanismele cromosomiale.

Pentru elucidarea problemei sînt necesare noi cercetări.*

Sosit la redacție: 23 martie 1971.

Bibliografie

1. STEDMAN E., STEDMAN E.: Nature (1950), 160, 780; 2. DICK C., JOHNS E. W.: Biochim. Biophys. Acta (1969), 175, 414; 3. SMITH E. L., DeLANGE R. J., BONNER J.: Physiol. Rev. (1970), 50, 158; 4. BLAZSEK V. A.: Rev. Roum. Biochim. (1972) (sub tipar); 5. BAILEY J. L.: Techniques in Protein Chemistry, Elsevier, Amsterdam, 1962, 293; 6. Idem 299; 7. JOHNS E. W.: Biochem. J. (1964), 92, 8; 8. JOHNS E. W.: Biochem. J. (1967), 104, 78; 9. HNILICA L. S., EDWARDS L. J., HAY A. E.: Biochim. Biophys. Acta (1966), 124, 109.