

STUDIAREA CONȚINUTULUI TIOLIC TOTAL AL COMPONENTELOR F3A ȘI F3B DIN HISTONELE TUMORII ASCITICE EHRlich

V. A. Blazsek

În celulele animale s-au găsit cinci fracțiuni principale de histone (F1, F2a1, F2a2, F2b și F3), dintre care fracțiunile cu conținut bogat în glicină-arginină (F2a1) și în alanină-arginină (F3) nu au prezentat nici o modificare în structura lor primară în cursul evoluției biologice, fapt demonstrat prin metode directe (1) și indirecte (2).

Cercetările privind compoziția amoniacidică (3), capătul N-terminal (3) și amprentele peptidice (4) ale histonei F2a1 au demonstrat o asemănare între fracțiunile izolate din celulele tumorale și cele normale. Aceste constatări au fost coroborate și prin descifrarea secvenței fracțiunii F2a1, izolată din timusul de vițel și din hepatomul Novikoff (5, 6), prin care s-a relevat identitatea acestor două structuri primare proteice.

Într-o lucrare anterioară (7) am arătat că numai fracțiunea F3 a histonelor din eritrocitele de găină conține grupări tiolice. La concluzii similare s-a ajuns mai târziu și în cazul histonelor din timusul de vițel (8, 9, 10, 11), din splina de vițel (10), din ficatul de șoarece (10), din timusul de sobolan (12), din celulele Hela (13) și din tumoarea ascitică Ehrlich (10). Recent, în laboratorul nostru am reușit să separăm fracțiunea F3 din histonele timusului de vițel în două componente (F3 a și F3 b), cu un conținut echivalent de tiol total (14), dar cu proprietăți electroforetice și cromatografice diferite. Deci, fracțiunea F3 are un caracter unic față de celelalte histone: *conținutul ei tiolic*.

Se știe că sistemul tiol-disulfidic joacă un rol de control în oxidoreducere, în procesele biosintetice celulare și în mitoză. Conținutul unic de tiol în fracțiunea F3 ne permite presupunerea unui rol special al acestei fracțiuni în procesele nucleare.

În prezent, secvența fracțiunii F3 cu conținut tiolic din timusul de vițel este în curs de descifrare (15), iar conținutul cantitativ de tiol al fracțiunii F3 din tumoarea ascitică Ehrlich nu se cunoaște. De aceea am considerat necesară dozarea cantității de tiol total a fracțiunilor F3 din tumoarea ascitică Ehrlich și compararea rezultatelor cu datele obținute la timusul de vițel.

Material și metodă

Cultura de celule tumorale ascitice Ehrlich s-a obținut pe șoareci albi purtători de tumoare grefată (16).

Histonele totale din celulele canceroase, precum și cele din timusul de vițel s-au izolat printr-o metodă descrisă anterior (10).

Purificarea histonelor totale s-a efectuat pe o coloană de CM-celuloză, la pH 9,0 (17), iar fracționarea histonelor purificate în componentele F3a și F3b s-a realizat pe coloană de CM-celuloză, la pH 4,2 (14).

Conținutul tiolic total s-a dozat prin metoda Ellman, modificată de noi (14). Datele obținute au fost prelucrate statistic.

Rezultate și discuții

Curba de eluție arată că fracțiunea histonică F3 din celulele tumorale ascitice Ehrlich se poate separa în două componente: F3a și F3b (fig. nr. 1).

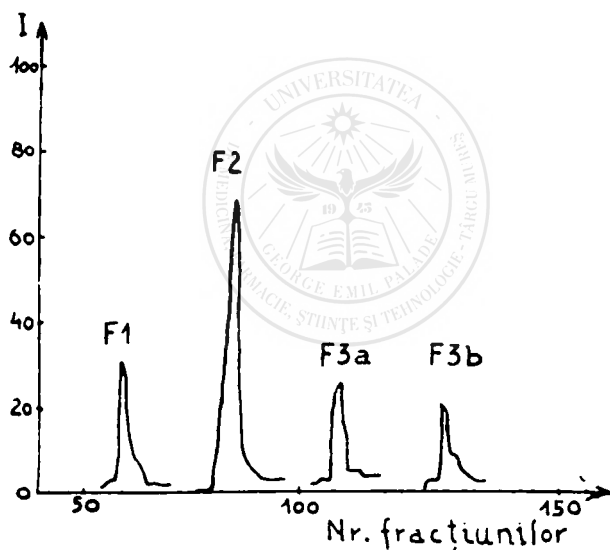


Fig. nr. 1: Curba de eluție a histonelor din celulele tumorii ascitice Ehrlich

Analiza electroforetică pe gel de amidon a acestor două componente, obținute pe coloană cromatografică pune în evidență două benzi, dintre care una cu o mobilitate scăzută, corespunde componentei F3a, iar cealaltă, componentei F3b (date nepublicate). Aceste constatări sînt identice cu cele obținute în cazul timusului de vițel (11).

Rezultatele noastre privind conținutul de tiol total sînt prezentate în tabelul nr. 1.

Tabelul nr. 1

Conținutul tiolic total al componentelor de histone F3 din timusul de vițel și din tumoarea ascitică Ehrlich ($\mu\text{M SH/1 g proteină}$)

Histonele	Componentele de histone					
	\bar{X}	F3a	E.S.	\bar{X}	F3b	E.S.
Tumoarea ascitică Ehrlich n = 6	37,0		$\pm 2,8$	39,7		$\pm 6,7$
Timusul de vițel n = 6	33,0		$\pm 6,7$	35,2		$\pm 8,0$
	0,2 < P < 0,5			0,2 < P < 0,5		

Din analiza datelor rezultă, în primul rând, că aceste componente au un conținut echivalent de tiol total. În al doilea rând, conținutul tiolic al componentelor histonice canceroase este egal din punct de vedere statistic cu cel din timusul de vițel.

Deși există o deosebire accentuată între genotipurile acestor celule, pe baza datelor noastre se poate presupune că unele porțiuni ale moleculelor de histone F3 izolate din timusul de vițel și din tumoarea ascitică Ehrlich ar fi similare.

O astfel de similitudine fizico-chimică (electroforetică și cromatografică) și chimică (conținutul tiolic total) a fracțiunilor histonice F3 cu conținut bogat în arginină, provenite din celule atât de diferite ne sugerează să le atribuim o funcțiune biologică fundamentală și comună în celulele tuturor viețuitoarelor.

Totodată, se poate presupune că fenotipul canceros nu este legat de un set histonic alterat din punct de vedere calitativ, deci mecanismul care este controlat prin histone nu este afectat din cauza modificărilor calitative ale histonelor în celulele canceroase.

Cele expuse de noi sînt ipotetice, cit timp secvențele totale ale histonelor F3 nu vor fi descifrate.*

Sosit la redacție: 21 mai 1973.

Bibliografie

1. DeLange R. J., Fambrough D. M., Smith E. L., Bonner J.: J. Biol. Chem. (1969), 244, 319; 2. Panym S., Bilek D., Chalkley R.: J. Biol. Chem. (1971), 246, 4206; 3. Hnilica L. S., Taylor C. W., Busch H.: Exptl. Cell Res., Suppl. (1963), 9, 367; 4. Leclerk J., Martinage Y., Biserte G.: Europ. J. Biochem. (1969), 11, 261; 5. Ogawa Y., Quagliariotti G., Jordan J., Taylor C. W., Starbuck W. C., Busch H.: J. Biol. Chem. (1969), 244, 4387; 6. Wilson R. K., Starbuck W. C., Taylor C. W., Jordan J., Busch H.: Cancer Res.

* Autorul mulțumește pe această cale prof. E. Kovács pentru prețiosul ajutor acordat în elaborarea lucrării precum și tov. Aranka A. Publik pentru asistența tehnică.

(1970), 30, 2942; 7. Blazsek V. A., Bukaresti L.: *Experientia* (1964), 20, 369; 8. Phillips D. M. P.: *Biochem. J.* (1965), 97, 669; 9. Blazsek V. A., Bukaresti L.: A III-a Conferință Republicană de Chimie, Timișoara, 1966, p. 274; 10. Blazsek V. A., Bukaresti L.: *Analyt. Biochem.* (1967), 18, 572; 11. Blazsek V. A.: *Rev. Med.* (1971), 17, 44; 12. Ord M. G., Stocken L. A.: *Biochem. J.* (1967), 102, 637; 13. Sadgopal A., Bonner J.: *Biochim. Biophys. Acta* (1970), 207, 206; 14. Blazsek V. A.: *Rev. Roum. Biochim.* (1972), 9, 95; 15. Yokotsuka K., Kikuchi S.: *J. Biochem.* (1972), 71, 133; 16. Blazsek V. A., Gyergyay F.: *Experientia* (1966), 22, 380; 17. Johns E. W.: *Biochem. J.* (1964), 92, 55.
