

the number of initiation centers which allows to some poly(C) molecules to remain unused. We think that this may be the effect of  $\sigma$  subunit deficiency in definite lots of enzyme [9] but additional investigation is needed in order to confirm this assumption.

The authors are grateful to Dr. E. A. Glazunov for his helpful assistance in the synthesis of polynucleotides and to Prof. E. N. Kazbekov for critical reading of the manuscript.

#### REFERENCES

1. Суржик М. Ф., Вильнер Л. М., Качурин А. Л., Тимковский А. Л. Матричный синтез комплекса поли(Г)-поли(Ц) с помощью ДНК-зависимой РНК-полимеразы *Escherichia coli*. Исследование физико-химических свойств и биологической активности продукта реакции.—Л., 1989.—С. 1—18.—(Препринт / АН СССР. Ин-т ядер. физики; № 1555).
2. Вильнер Л. М., Тимковский А. Л., Тихомирова-Сидорова Н. С. Биологическая активность и структурные особенности полинуклеотидных интерферогенов // Итоги науки и техники.—М.: ВИНТИ, 1977.—С. 114—159.—(Сер. Вирусология; Т. 7).
3. Глазунов Е. А., Чернаско В. М. Новый способ иммобилизации ферментов на силикатных носителях // Направленный транспорт и иммобилизация биологически активных препаратов для клинической практики.—Киев: Наук. думка, 1984.—С. 11—12.
4. Гилмор С. Транскрипция хроматина // Транскрипция и трансляция. Методы.—М.: Мир, 1987.—С. 160—185.
5. Тимковский А. Л., Аксенов О. А., Бреслер С. Е. и др. Молекулярно-весовые характеристики комплекса поли(Г)-поли(Ц) и их связь с антивирусной и интерферогенной активностью // Вопр. вирусологии.—1973.—18, № 3.—С. 350—355.
6. Vrabc V., Timkovsky A. L. Electrochemistry of double-stranded complexes of synthetic polynucleotides having interferonogenic and antiviral activity // Gen. Physiol. Biophys.—1983.—2, N 4.—P. 487—497.
7. Суржик М. А., Дятлова Н. П., Глазунов Е. А. и др. Устойчивость природных и синтетических полирибонуклеотидных индукторов интерферона к рибонуклеазам человеческой крови // Антибиотики и химиотерапия.—1992.—37.—№ 1.—С. 38—45.
8. Colby C., Stollar B. D., Simon M. I. Interferon induction: DNA-RNA hybrid or double-stranded RNA? // Nature New Biol.—1971.—229.—P. 172—174.
9. Miyagi S., Stevens A. Studied of the ribonucleic acid polymerase from *Escherichia coli* // J. Biol. Chem.—1965.—240.—P. 2587—2596.

Petersburg Institute of Nuclear Physics,  
Academy of Sciences of Russia

28.09.92

УДК 615.357.631:577.157

Ю. И. Губский, Е. Л. Левицкий, Р. Г. Примак, А. Г. Горюшко,  
Л. К. Ленчевская, В. А. Матюшкин, И. Е. Вистунова, Л. Г. Саченко

### ВЛИЯНИЕ ВИТАМИНА Е НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ ОРГАНИЗАЦИЮ ХРОМАТИНА ПЕЧЕНИ В УСЛОВИЯХ ПОВРЕЖДЕНИЯ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ

*Показано* частичное корректирующее действие витамина Е на структурно-функциональную организацию ядерного хроматина печени крыс, нарушенную в условиях интоксикации тетрахлорметаном. Оно опосредуется, прежде всего, антиоксидантным действием  $\alpha$ -токоферола, что выражается в нормализации течения реакций спонтанного и индуцированного перекисления липидов в активной и низкоактивной фракциях хроматина. Введение витамина Е приводит также к частичной нормализации активности эндогенных РНК-полимераз, ДНК-полимеразы  $\beta$  и к стимуляции активности репликативной ДНК-полимеразы  $\alpha$  в активной фракции хроматина. Описан процесс взаимодействия  $\alpha$ -токоферола с фракциями хроматина *in vitro*. Интоксикация тетрахлорметаном мало влияет на способность репрессированного хроматина к комплексовобразованию с витамином Е, но усиливает связывание его с активной фракцией хроматина. Выявлены различия в природе химического взаимодействия активной и низкоактивной фракций хроматина с  $\alpha$ -токоферолом *in vitro*, свидетельствующие о различной локализации витамина Е в хроматине. Взаимодействие витамина Е с хроматином частично восстанавливает его структуру, нарушенную в результате интоксикации, что наряду с антиоксидантным эффектом является одним из возможных механизмов его гепопротекторного действия.

© Ю. И. Губский, Е. Л. Левицкий, Р. Г. Примак, А. Г. Горюшко, Л. К. Ленчевская,  
В. А. Матюшкин, И. Е. Вистунова, Л. Г. Саченко, 1993

**Введение.** Известно, что значительная часть внутриклеточного  $\alpha$ -токоферола сосредоточена в ядре, в частности, определенное количество этого витамина связано с негистоновыми белками хроматина [1]. Ранее показано нарушение структуры и функции хроматина при отсутствии в пище животных витамина Е [2, 3]. Добавление  $\alpha$ -токоферола к препаратам изолированного ядерного матрикса вызывало значительную стимуляцию активности эндогенных ДНК- и РНК-полимераз [2, 4]. Все это позволяет предположить наличие определенных генопротекторных свойств у внутриклеточного  $\alpha$ -токоферола, что может выражаться в поддержании интактных структуры и функции хроматина при действии различных повреждающих факторов, в частности тетрахлорметана (ТХМ), вызывающего нарушение структурно-функциональной организации хроматина [5]. Можно полагать, что генопротекторное действие  $\alpha$ -токоферола обусловлено как его антиоксидантным эффектом по отношению к процессам перекисного окисления липидов (ПОЛ) в хроматине [2], так и способностью его к взаимодействию с компонентами хроматина, следствием чего является восстановление нарушенной структурно-функциональной организации последнего. В соответствии с этим целью настоящей работы состояла в изучении влияния витамина Е на структурно-функциональную организацию хроматина печени крыс (*in vivo* и *in vitro*) в условиях интоксикации тетрахлорметаном.

**Материалы и методы.** В работе использовали крыс-самок линии Вистар 3-месячного возраста (150—200 г). ТХМ вводили внутривенно в дозе 0,175 мл/100 г массы тела. Длительность интоксикации составляла 2 ч — период, после которого наблюдается интеногенетических изменений в хроматине [5]. Для изучения влияния витамина Е на структурно-функциональную организацию хроматина животным вводили это вещество внутривенно за 30 мин до ТХМ в дозе 5 мг/100 г массы тела. Декапитацию осуществляли в утренние часы под легким эфирным наркозом. Методы выделения фракций транскрипционно активного (ТАХ) и репрессированного (РХ) хроматина и анализа их структурно-функциональной организации, а также процессов ПОЛ описаны нами ранее [2, 5, 6]. Собственную флуоресценцию препаратов хроматина изучали в диапазоне 300—450 нм, регистрируя интенсивность спектральной линии в области 310 нм. Состояние липидного компонента в хроматине оценивали с помощью флуоресцентного зонда интреса («Serva», ФРГ,  $5 \cdot 10^{-3}$  М) по степени его эксимеризации — соотношению интенсивности флуоресценции эксимерной (470 нм) и мономерной (393 нм) форм. Флуоресцентные измерения проводили на спектрофлуориметре «Hitachi MPF-4» (Япония) при температуре 20 °С. Спектры поглощения хроматина анализировали в области 200—350 нм с помощью спектрофотометра «Perkin-Elmer-412» (Швеция) при 20 °С в кювете с длиной оптического пути 1 см.

Для изучения влияния витамина Е на структурно-функциональную организацию хроматина в условиях *in vitro* использовали методы спектрофотометрического титрования (при концентрации экзогенного  $\alpha$ -токоферола 2,5 мкМ и изменении концентрации хроматина по белку в диапазоне 0—0,4 мг/мл) и микрокалориметрии. В первом случае помимо регистрации зависимости  $\Delta D_{\lambda} = f(C_0)$  — изменение оптической плотности хроматина при 210 и 258 нм в зависимости от его концентрации в растворе (по белку) — рассчитывали также величины кажущихся констант равновесия  $K_p^k$  (по белку) и число мест связывания  $N$   $\alpha$ -токоферола с хроматином графическим методом [7]. Тепловой эффект регистрировали с помощью микрокалориметра «ЛКВ-2107» (Швеция) при 26 °С в режиме смешения 4 мл раствора хроматина (16,6 мкг белка/мл) и 2,0 мл раствора  $\alpha$ -токоферола (0,4 мкг/мл) в  $0,01 \times SSC$ , учитывая тепловые эффекты разбавления и трения жидкости о стенки сосуда. Активность каталазы во фракциях хроматина определяли по методу [8].

Результаты экспериментов обрабатывали методами непараметрической статистики [9].

**Результаты и обсуждение.** При исследовании интенсивности реакций ПОЛ во фракциях хроматина в условиях интоксикации ТХМ и при введении витамина Е обнаружено, что отравление вызывает значительную модификацию спонтанного и индуцированного НАДФН и аскорбатом ПОЛ в обеих фракциях хроматина (табл. 1). Рост интенсивности спонтанного ПОЛ (оцениваемой по содержанию диеновых конъюгатов) обусловлен, главным образом, перекислением фосфолипидов (изопропанольный слой липидного экстракта). Модификация тетрагидрометаном перекисления нейтральных липидов (гептановый слой липидного экстракта) заключается в росте ПОЛ в РХ и снижении в ТАХ. Что касается индуцированного ПОЛ, то интоксикация приводит к снижению НАДФН-индуцированного ПОЛ в РХ и ТАХ и повышению аскорбат-зависимого ПОЛ в РХ. Введение витамина Е оказывает выраженное антиоксидантное действие на процессы ПОЛ во фракциях хроматина. При этом существенно нормализуется течение реакций как спонтанного ПОЛ (за исключением нейтральных липидов в РХ и фосфолипидов в ТАХ), так и (в особенности) индуцированного ПОЛ. Более того, введение витамина Е снижает величины НАДФН-зависимого ПОЛ во фракции ТАХ, не измененного в условиях данной патологии.

Одним из механизмов антиоксидантного действия витамина Е может быть нормализация в условиях интоксикации ТХМ активности одного из ключевых ферментов антиоксидантной защиты клетки — каталазы. При определении активности этого фермента во фракциях хроматина оказалось, что в условиях ТХМ-интоксикации эта величина достоверно ( $p < 0,05$ ) уменьшается и частично восстанавливается под действием витамина Е (контроль — 21,8; ТХМ — 9,7; ТХМ+витамины Е — 16,3 мкат/мл на 1 мг белка хроматина) в низкоактивной фракции хроматина. В активной фракции достоверных изменений активности этого фермента при интоксикации ТХМ и введении витамина Е обнаружено не было (контроль — 33,0; ТХМ — 39,8; ТХМ+витамины Е — 38,4 мкат/мл на 1 мг белка).

Антиоксидантные эффекты витамина Е могут лежать в основе частичной нормализации этим веществом биохимических свойств фракций хроматина (табл. 2). Интоксикация ТХМ вызывает резкое повышение доли ТАХ, сопровождающееся некоторым ростом эндогенной РНК-полимеразной активности. Введение же витамина Е способствует сниже-

Таблица 1

*Интенсивность реакций ПОЛ во фракциях хроматина печени крыс при интоксикации ТХМ и введении витамина Е (n=10—12)*

Показатель ПОЛ	РХ			ТАХ		
	Контроль	ТХМ	ТХМ+ +вита- мин Е	Контроль	ТХМ	ТХМ+ +вита- мин Е
Диеновые конъюгаты (нмоль/мг белка)						
Гептановый слой	10,0	15,6*	23,4*	18,0	8,9*	22,9
Изопропанольный слой	68,4	146,1*	75,6	33,1	68,5*	71,0*
Малоновый диальдегид (накопление, мкдм/мл за 2 ч)						
НЗП	1920,1	2791,2	2426,3	550,5	440,2	246,9**
НЗП, А	178,1	42,5**	136,9	106,7	25,1**	30,7
АЗП	721,4	1062,6**	646,3	111,8	108,1	205,5
Ненитрированный контроль	530,8	758,8	760,8	133,5	86,2	90,1

Примечание. НЗП — индуцированное НАДФН ПОЛ; НЗП, А — его составляющая, зависящая от нагревания; АЗП — индуцированное аскорбатом ПОЛ; значения индуцированного ПОЛ получены вычитанием от соответствующих величин значений ненитрированного контроля.

\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$  (по сравнению с контролем).

нию этого показателя до уровня контрольных значений, а также частичной нормализации первого показателя. Эффект действия витамина заключается также в значительном росте активности репликативного фермента ДНК-полимеразы  $\alpha$ , что соответствует результатам, полученным в опытах *in vitro* [2, 4]. Изложенные данные подтверждают обнаруженную нами ранее обратно пропорциональную зависимость между интенсивностями реакций ПОЛ и эндогенным синтезом ДНК в хроматине [10]. Введение витамина Е также частично нормализует сниженную под влиянием ТХМ активность репаративной ДНК-полимеразы  $\beta$  во фракциях ТАХ.

Изменение структурно-функциональной организации фракций хроматина при интоксикации ТХМ и введении витамина Е следует также из данных УФ- и флуоресцентной спектроскопии. В спектрах поглощения хроматина в ближней УФ-области (рис. 1) наблюдаются полосы, обусловленные энергетическими переходами белковых (210 нм) и ДНК-хромофоров (260 нм), а также хромофоров липидов (количество которых в хроматине относительно мало по сравнению с мембранами [11]). Большая относительная интенсивность коротковолновой компоненты в спектре ТАХ по сравнению с РХ обусловлена большим отношением белок/ДНК в ТАХ [2, 5]. В условиях ТХМ-интоксикации наблюдаемые изменения в спектрах РХ и ТАХ различны. Для ТАХ характерен гипохромный эффект в области поглощения белка и ДНК, что может быть как результатом гидролиза этих компонентов хроматина, так и структурных изменений их конформации под влиянием ТХМ. Красный сдвиг, типичный для  $n_0 \rightarrow \pi^*$ -переходов [12] в спектре ТАХ, указывает на уменьшение полярности окружения под воздействием ТХМ. Введение *in vivo* витамина Е приводит к смещению положения максимума поглощения в спектрах ТАХ по отношению к контролю. В спектрах образцов РХ при интоксикации ТХМ увеличение оптической плотности в области 220 и 260 нм, по-видимому, свидетельствует о разрыве полипептидных и полинуклеотидных цепей. О гидролизе нативного белка [12] можно судить по снижению относительной интенсивности полосы поглощения  $D_{260}$ , которое отмечалось при введении витамина Е. Вероятной причиной этого может быть связывание витамина Е с азотистыми основаниями ДНК (рис. 1, б, кривая 3).

В табл. 3 приведены данные по исследованию флуоресцентных свойств фракций хроматина при интоксикации ТХМ и введении витамина Е. Видно, что в результате указанных воздействий претерпевают заметные изменения как белковый компонент фракций (характеризующийся интенсивностью собственной флуоресценции), так и липидный

Таблица 2

Интенсивность реакций ПОЛ во фракциях хроматина печени крыс при интоксикации ТХМ и введении витамина Е ( $n=10-12$ )

Показатель	РХ			ТАХ		
	Контроль	ТХМ	ТХМ+ +вита- мин Е	Контроль	ТХМ	ТХМ+ +вита- мин Е
Доля фракции (%)	84,5	76,6**	79,2*	15,5	23,4**	20,8*
Белок/ДНК	1,40	1,29	1,36	10,6	12,0**	10,2
Активность эндогенных ферментов (расп./мин на 1 мг ДНК)						
Тотальная ДНК-полимеразная	644973	671956	484413	422966	362659	625165
ДНК-полимеразы $\alpha$	265541	373350	297080	230180	231885	469490*
ДНК-полимеразы $\beta$	273639	196838	187332	211200	124888*	151677
Тотальная РНК-полимеразная	179367	209825	172782	608236	975876*	574079
РНК-полимеразы I	43466	62628	64215	315331	330640	386488
РНК-полимеразы II	134713	125006	129763	346506	437623	355561

\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$  (по сравнению с контролем).

(отличающийся степенью эксимеризации пирена). Действительно, возгорание белковой флюоресценции фракций хроматина при интоксикации животных ТХМ может свидетельствовать о релаксации белкового компонента в соответствии с высказанными ранее предположениями о взаимосвязи собственной флюоресценции фракций с их структурой [6, 13]. Как можно видеть, введение витамина Е стимулирует дальнейшее возгорание флюоресценции обеих фракций хроматина, возможно, связанное с открытием дополнительных хромофоров в результате связывания витамина с белками хроматина [1]. Увеличение степени эксимеризации пирена в обеих фракциях хроматина при воздействии ТХМ указывает на «разжижение» липидного компонента. Действие витамина Е в этом случае вызывает дальнейшее уменьшение микровязкости липидного компонента в РХ и ее возрастание (в сторону нормализации) в ТХХ. Эти факты требуют дальнейшего углубленного исследования и могут быть одним из звеньев в цепи молекулярных преобра-

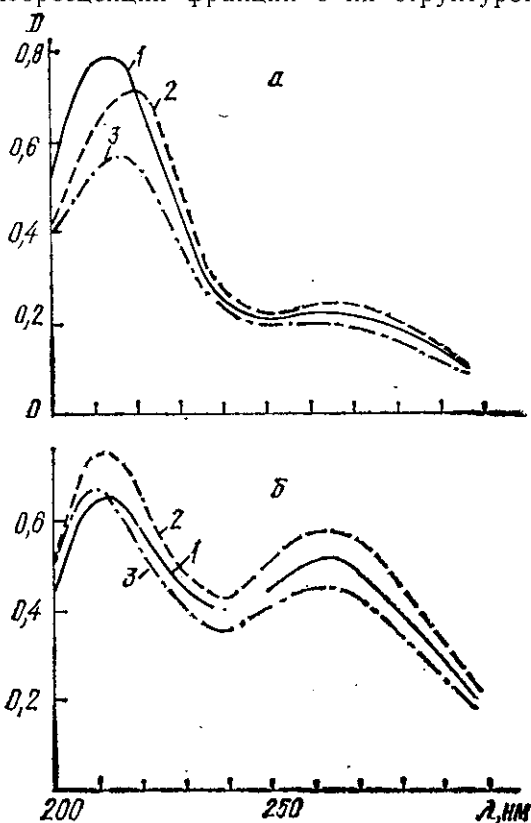


Рис. 1. УФ-спектры поглощения растворов ТАХ (а) и РХ (б) в SSC-буфере: 1 — контроль; 2 — ТХМ; 3 — ТХМ+витамин Е

зований структурно-функциональной организации ядерного хроматина под влиянием витамина Е.

Для выяснения природы взаимодействия витамина Е с фракциями хроматина были выполнены эксперименты *in vitro*. Можно предположить, что изменение функциональной организации фракционированного хроматина при интоксикации ТХМ обусловлено структурной модификацией, определяющей его физико-химические, в частности комплексообразующие, свойства при взаимодействии с экзогенным  $\alpha$ -токоферолом. На рис. 2 представлены данные спектрофотометрического титрования РХ и ТАХ в  $0,01 \times \text{SSC}$  в присутствии  $\alpha$ -токоферола (2,5 мкМ): изме-

Таблица 3

Физико-химические характеристики фракций хроматина при интоксикации ТХМ и сведения витамина Е (n=6)

Спектральный показатель	Длина волны возбуждения, нм	Отношение величины спектрального показателя к контрольному значению			
		РХ		ТАХ	
		ТХМ	ТХМ+витамин Е	ТХМ	ТХМ+витамин Е
Интенсивность белковой флюоресценции	280	1,12	1,35*	1,12*	1,23*
Степень эксимеризации пирена (F470/F394)	340	1,20*	1,56*	1,24*	1,08

\* $p < 0,05$  (по сравнению с контролем).

нение оптической плотности хроматина  $\Delta D_\lambda = D_1 - D_2$ , где  $D_1$  — оптическая плотность смеси хроматина с  $\alpha$ -токоферолом;  $D_2$  — оптическая плотность самого хроматина при длине волны 258 и 210 нм в зависимости от его концентрации в растворе (по белку). Как можно видеть, характер изменения зависимости  $\Delta D_\lambda = f(C_0)$  отличается для РХ и ТХМ, что свидетельствует о различных механизмах их взаимодействия с экзогенным  $\alpha$ -токоферолом. В случае РХ наблюдается гипохромный эффект, в то время как для ТХМ имеет место возрастание  $\Delta D_\lambda$  (гиперхромный эффект) в области концентраций белка 0,2—0,3 мг/мл с дальнейшим насыщением и затем уменьшением  $\Delta D_\lambda$  при более высоких

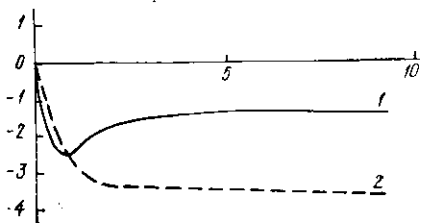
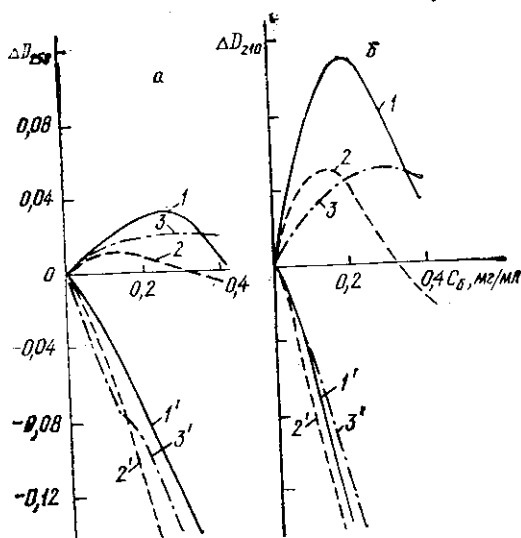


Рис. 3. Кинетические кривые взаимодействия ТХМ (1) и РХ (2) с  $\alpha$ -токоферолом. По вертикали —  $Q$ , усл. ед.; по горизонтали — мин

Рис. 2. Изменение оптической плотности хроматина  $\Delta D_\lambda$  в зависимости от его концентрации (по белку) в присутствии  $\alpha$ -токоферола (2,5 мкМ): 1 — контроль; 2 — ТХМ; 3 — ТХМ + витамин Е — ТХМ; 1', 2', 3' — то же для РХ (а — при  $\lambda = 258$  нм; б — при  $\lambda = 210$  нм)

концентрациях белка хроматина. При этом насыщение  $\Delta D_\lambda$  достигается при наименьших концентрациях в случае фракций хроматина из интоксигированных животных и при более высоких концентрациях для интактных либо для крыс, которым вводили витамин Е. Это может указывать на более эффективное межмолекулярное взаимодействие  $\alpha$ -токоферола с хроматином в условиях интоксигации ТХМ по сравнению с интактными животными, получившими витамин Е. Вероятно, подобный факт может быть обусловлен «освобождением» (либо демаскированием) в условиях интоксигации мест связывания экзогенного  $\alpha$ -токоферола с фракциями хроматина вследствие истощения запасов эндогенного токоферола в хроматине.

Последнее предположение подтверждают данные, представленные в табл. 4. Как можно видеть, при интоксигации ТХМ наблюдается возрастание  $K_p^k$  и количества мест связывания  $N$ . Это может происходить в результате «разрыхления» поверхности хроматина (особенно для фракции ТХМ). Фракция ТХМ после инъекции животным витамина Е взаимодействует с экзогенным  $\alpha$ -токоферолом менее эффективно. Более высокие значения  $K_p^k$  в случае ТХМ могут зависеть также от возрастания подвижности зон эндогенных липидов (контролируемый диффузией процесс) для данной фракции хроматина по сравнению с РХ [6]. Эти результаты согласуются с таковыми для РХ и ТХМ, полученными методом флуоресцентного зондирования пиреном (см. табл. 3). Увеличение степеней эксимеризации пирена может свидетельствовать о «разжижении» липидного компонента хроматина.

Для выяснения природы взаимодействия  $\alpha$ -токоферола с фракциями хроматина проведено микрокалориметрическое исследование (рис. 3). Полученные в условиях эксперимента термограммы демонстрируют эндотермический эффект взаимодействия, больший для РХ по сравнению с ТХМ. (Эффект, связанный с поглощением тепла, может указывать на наличие гидрофобных либо «стекинг»-взаимодействий, обуславливающих комплементарное встраивание молекул  $\alpha$ -токоферо-

ла на поверхности хроматина, либо «стекинг»-взаимодействий параллельно ориентированных систем сопряженных  $\pi$ -электронов.) Меньшая величина эндоэффекта для ТАХ по сравнению с РХ, возможно, связана с тем, что определенный вклад в наблюдаемый суммарный эффект вносит взаимодействие  $\alpha$ -токоферола с липидной составляющей хроматина, как было показано на примере микросом печени и липосом из яичного лецитина [14], из-за большего содержания липидов в активной фракции хроматина [6]. Не исключено, что более выраженный эндоэффект в случае РХ может определяться большим содержанием ДНК в этой фракции хроматина [2, 5].

Полученные данные микрокалориметрии согласуются с результатами спектрофотометрического анализа взаимодействия  $\alpha$ -токоферола с фракциями хроматина, указывающими на различную химическую природу их взаимодействия.

Таким образом, исследования *in vitro* связывания экзогенного  $\alpha$ -токоферола с фракциями хроматина явились дополнительным подтверждением изменения структурных свойств фракций хроматина при интоксикации ТХМ и введения витамина Е. Они показали, что, кроме белкового компонента [1], в процесс взаимодействия  $\alpha$ -токоферола с хроматином вовлечены также ДНК и липиды. Наличие определенных генотекторных свойств у витамина Е согласуется с уменьшением гибнущих животных в данных условиях эксперимента с 38,2 до 20,5 % под влиянием профилактического введения этого вещества ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено частичное корректирующее действие витамина Е на структурно-функциональную организацию хроматина печени крыс в условиях интоксикации ТХМ. Наиболее вероятным механизмом генотекторного действия  $\alpha$ -токоферола может быть его «встраивание» в структуру хроматина, в результате чего наблюдается ее релаксация, облегчающая антиоксидантное воздействие витамина Е на модифицированные в условиях интоксикации ТХМ реакции ПОЛ в хроматине. Нормализация свободнорадикальных процессов может, в свою очередь, быть одним из важнейших звеньев в цепи молекулярных событий, ведущих к корректирующей стабилизации структуры и функций ядерного хроматина в условиях химического повреждения.

**Summary.** Partial corrective influence of vitamin E introduction on structural and functional liver nuclear chromatin organization which was damaged during tetrachloromethane intoxication was shown. This one is depended on  $\alpha$ -tocopherol antioxidant effects that displais as normalization of spontaneous and induced lipid peroxidation reactions in active and repressed chromatin fractions. Introduction of vitamin E leads also to partial normalization of endogenous DNA polymerase  $\beta$  and RNA polymerases as well as stimulation of replicative DNA polymerase  $\alpha$  activity in active chromatin fraction. *In vitro* interaction process of  $\alpha$ -tocopherol with chromatin fractions has written. Tetrachloromethane intoxication has little influence on repressed chromatin ability to form complexes with vitamine E, but increases its binding to active chromatin fraction. Differences between *in vitro* chemical interaction of active and repressed chromatin fractions with  $\alpha$ -tocopherol were revealed. These ones indicate to various localization of vitamin E in chromatin. Interaction of vitamin E with chromatin leads to partial repair of its structure damaged during intoxication. This effect of vitamin E together with its antioxidant action is one of the possible mechanism of  $\alpha$ -tocopherol genoprotective influence.

Таблица 4

Величины кажущихся констант равновесия  $K_p^k$  и числа мест связывания  $N$  при взаимодействии *in vitro*  $\alpha$ -токоферола с фракциями хроматина

Условия эксперимента	$K_p^k, \text{г}^{-1} \cdot \text{л}$		N	
	РХ	ТАХ	РХ	ТАХ
Контроль	1,0	8,0	1,0	3,0
ТХМ	1,8	12,0	1,5	12,0*
ТХМ+витамин Е	1,9	2,5*	2,0*	8,0*

\* $p < 0,05$  (по сравнению с контролем).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Халмуратов А. Г., Тоцкий В. И., Чаговец Р. В. Транспорт жирорастворимых витаминов.— Киев: Наук. думка, 1980.— 216 с.
2. Губский Ю. И., Левицкий Е. Л., Чабаный Н. В. и др. Изменения белкового, липидного состава, ДНК- и РНК-полимеразной активности фракций хроматина и ядерного матрикса печени крысы в условиях Е-гиповитаминоза // Укр. биохим. журн. — 1990.— 62, № 6.— С. 22—30.
3. Губский Ю. И., Левицкий Е. Л., Примак Р. Г., Величко А. Н. Изменение структурного состояния фракционированного хроматина печени при активации перекисного окисления липидов // Биополимеры и клетка.— 1991.— 7, № 3.— С. 89—94.
4. Донченко Г. В., Петрова Г. В., Капранов А. А. и др. О возможной роли  $\alpha$ -токоферола в функционировании хроматина и ядерного матрикса печени крысы // Докл. АН УССР. Сер. Б.— 1990.— № 3.— С. 60—62.
5. Губский Ю. И., Левицкий Е. Л., Гольдштейн Н. Б. и др. Функциональная активность фракционированного хроматина печени крысы при однократном введении тетрахлорметана // Вопр. мед. химии.— 1989.— 35, № 4.— С. 119—124.
6. Губский Ю. И., Левицкий Е. Л., Примак Р. Г. и др. Конформационные характеристики и характер упаковки эндогенных липидов фракций транскрипционно активного и репрессированного хроматина // Укр. биохим. журн.— 1991.— 63, № 2.— С. 83—89.
7. Свердлова О. В. Электронные спектры в органической химии.— Л.: Химия, 1985.— 248 с.
8. Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г. и др. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело.— 1988.— № 1.— С. 16—18.
9. Аншария И. П., Васильев Н. Н., Амбросов В. А. Быстрые методы статистической обработки и планирование экспериментов.— Л.: Изд-во ЛГУ, 1975.— 78 с.
10. Губский Ю. И., Левицкий Е. Л., Гольдштейн Н. Б., Литвиненко Л. Я. Перекисное окисление липидов и эндогенная ДНК-полимеразная активность фракций изолированного хроматина печени крысы // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1989.— 52, № 3.— С. 296—298.
11. Казначеев Ю. С., Кулагина Т. П., Маркевич Л. Н. и др. О метаболизме липидов хроматина печени и тимуса крысы // Молекуляр. биология.— 1984.— 18, № 3.— С. 607—612.
12. Демченко А. П. Ультрафиолетовая спектроскопия и структура белков.— Киев: Наук. думка, 1981.— 208 с.
13. Сиволоб А. В., Храпунов С. Н. Флуоресцентная спектроскопия в исследованиях белково-нуклеиновых взаимодействий в хроматине // Биополимеры и клетка.— 1992.— 8, № 1.— С. 89—100.
14. Губский Ю. И., Бодескул А. Е., Примак Р. Г., Задорина О. В. Влияние  $\alpha$ -токоферола и нонола на физическую структуру мембран микросом печени крысы в условиях антиоксидантной недостаточности // Укр. биохим. журн.— 1989.— 61, № 4.— С. 94—99.

Укр. НИИ фармакологии и токсикологии МЗ Украины, Киев

Получено 21.09.92

УДК 547.963.32.057+547.92

**С. Н. Ярмолюк, Е. М. Иванова, М. Н. Овандер,  
И. В. Алексеева, А. С. Шаламай, В. Ф. Зарытова**

### **ОЛИГОНУКЛЕОПЕПТИДЫ. IV. СИНТЕЗ АЛКИЛИРУЮЩИХ ПРОИЗВОДНЫХ ОЛИГОНУКЛЕОТИДИЛ-(P→N)-ПЕПТИДОВ \***

*Синтезированы алкилирующие производные олигонуклеотидил-(P→N)-пептидов, которые могут быть использованы как реагенты для специфической модификации нуклеиновых кислот.*

**Введение.** Ковалентные конъюгаты антисмысловых олигонуклеотидов с липидами [1] или основными полипептидами [2] применяют для улучшения их проникновения через цитоплазматическую мембрану клетки.

\* Используются обозначения, рекомендованные номенклатурной комиссией IUPAC-IUB, префикс d в обозначениях олигонуклеотидов пропущен; Ahx —  $\epsilon$ -аминокапроновая кислота; DCC — дициклогексилкарбодимид; TEA — триэтиламин; DCM — дихлорметан; DMA — диметилформамид; DMAp — 4,4'-диметиламинопиридин; Py<sub>2</sub>S<sub>2</sub> — дипиридилдисульфид; Ph<sub>3</sub>P — трифенилфосфин; Melm — N-метилимидазол; EDTA — этилендиаминотetraуксусная кислота; AscO — ангидрид уксусной кислоты; TFA — трифтороуксусная кислота.

© С. Н. Ярмолюк, Е. М. Иванова, М. Н. Овандер, И. В. Алексеева, А. С. Шаламай, В. Ф. Зарытова, 1993