

УДК 577:535; 546

М.В.Новоженова (4 курс, каф. БФ), А.Н.Скворцов, асс., каф. БФ

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ЦИС-ДИАММИНОДИХЛОРОПЛАТИНЫ (II) С ГИСТОНЫМИ БЕЛКАМИ ХРОМАТИНА

Цис-диамминодихлороплатина (II) (цисплатин или *цис*-ДДП) — широко применяемый противоопухолевый платиновый препарат. Атом Pt прочно связывается с ДНК, образуя аддукт к основаниям, и искажает ее вторичную структуру. Во всех обнаруженных комплексах *in vivo* атом платины связан с ДНК через атом азота N7 пуринового основания. Реакциям *цис*-ДДП с белками обычно отводится вторичная роль неспецифического ингибирования активности, поэтому процесс образования платиновых комплексов с белками изучен значительно хуже, чем взаимодействие с ДНК. В то же время известно, что образование платиной координационных связей с атомами серы остатков Met и Cys в белках более предпочтительно. Недавно была показана возможность замещения этих остатков на гуанин ДНК. Поэтому для объяснения механизмов образования аддуктов и направленного поиска более эффективных противоопухолевых препаратов необходимо учитывать взаимодействие платины с белками.

В данной работе рассматривается взаимодействие *цис*-ДДП с гистонами. Присутствуя в клетке в больших концентрациях, гистоны постоянно ассоциированы с ДНК и претендуют на роль промежуточного резервуара и/или инактиватора платиновых комплексов. Кроме того, известно, что *цис*-ДДП увеличивает активность слабых промоторов в тестовых системах. Это связывается с нарушением укладки хроматина в районе промотора. Представляет большой интерес, каковы структурные изменения гистоновых белков и нуклеосом (НЧ) при платинировании и несут ли эти изменения вклад в нарушение укладки хроматина. Гистоны получали экстракцией хлорной кислотой из ткани тимуса теленка с последующим осаждением ацетона. Концентрацию белка в растворе определяли спектрофотометрически ($D_{230}=1.8$ для раствора Н1 с концентрацией 1 мг/мл).

Предварительный анализ последовательностей выявил наличие потенциальных сайтов платинирования (Met, His, Cys) в коровых гистонах и лишь один N-концевой Met в линкерном (Н1). С помощью программного пакета RASMOL был проведен анализ третичной структуры нуклеосомы. Мы выявили наличие возможных сайтов связывания *цис*-ДДП: сайты на поверхности и за плоскостью нуклеосомы рядом с основаниями ДНК; сайты на молекуле гистона Н2В, расположенные внутри нуклеосомы, но сближенные между собой в пространстве, то есть предрасположенные к образованию хелатного комплекса.

В качестве основных методов наблюдения за изменением конформации белка были выбраны метод спектроскопии кругового дихроизма (КД) в сочетании с абсорбционной спектроскопией. Получены спектры Н1 в растворах разной ионной силы (15 и 150 mM NaCl) и спектры этого же белка при добавлении растворов *цис*-ДДП возрастающей концентрации.

Анализ спектров показывает, что белок не изменяет свою конформацию в результате добавления платины. Такое поведение согласуется с отсутствием потенциальных сайтов связывания внутри молекулы Н1. Таким образом при дальнейшем изучении тройных комплек-

сов ДНК–белок–*cis*-ДДП можно исключить вклад структурных изменений гистона H1, вызванных его платинированием, в изменения спектров КД системы.