

# ESTUDIS CONFORMACIONALS DE LA HISTONA F3 DE TIMUS DE VEDELLA

per ESTEVE PADRÓS i JAUME PALAU

Institut de Biologia Fonamental, Universitat Autònoma  
de Barcelona

En l'organització del cromosoma, no ha estat encara establert el paper que tenen les histones. Dues teories generals parlen d'una funció repressora de l'activitat genètica de l'ADN i d'una funció de manteniment de la superestructura de la nucleoproteïna. És, doncs, important d'arribar a establir les característiques fisico-químiques de les histones, per tal de poder conèixer amb més profunditat com s'esdevé la interacció amb l'ADN.

Actualment és coneguda l'estructura primària de 4 histones<sup>1</sup>, la qual cosa fa que siguin ja possibles estudis físics i fisico-químics de llurs estructures secundària i terciària. En el present treball són duts a terme estudis de l'estructura terciària de la histona F<sub>3</sub>, extreta de timus de vedella, perquè és l'única histona que conté cisteïna i és rica en arginina, i la seva seqüència és coneguda i mostra regions molt característiques<sup>2</sup>: els dos residus cisteïna estan localitzats en una regió de 29 residus no bàsics, amb un fort potencial de formació d'hèlix alfa o d'estructures plegades.

Han estat emprades bàsicament dues tècniques:

a) *Espectroscòpia de ressonància de spin electrònic (ESR)*. Consisteix a enllaçar un «marcador de *spin*»<sup>3</sup> a la proteïna que cal estudiar. Aquest marcador de *spin*, que és en realitat un radical lliure orgànic, pot ésser elegit de tal forma que sigui enllaçat amb un tipus determinat d'aminoàcid. L'espectre d'ESR obtingut reflecteix els canvis conformationals o plegaments que tenen lloc en la regió de la molècula on el marcador de *spin* és enllaçat. En aquest treball, hom ha elegit un marcador de *spin* específic per als grups -SH, bé que reacciona, en menor proporció, amb els grups -NH<sub>2</sub>.

b) *Pertorbació tèrmica en l'ultraviolat.* És una forma d'espectroscòpia de diferència. Hom posa la mateixa solució proteica a la cubeta de referència i a la de mostra, i després escalfa la mostra bo i mantenint la de referència a temperatura constant. Continuant el mateix procediment amb un model adequat (en el nostre cas amb l'ester metílic de la tirosina), hom treu informació sobre el percentatge de residus tirosina accessibles al dissolvent, és a dir, que estan situats a la superfície de la molècula <sup>4</sup>.

Els resultats obtinguts utilitzant el marcador de *spin* específic per als grups -SH mostren que: a) existeix una cova (o unes coves) on hi ha situat un residu cisteïna <sup>5</sup>; b) aquesta cova és tancada d'alguna forma en augmentar la força iònica de la solució; c) el tractament amb urea 6M no és capaç de destruir totalment aquesta estructura.

Per tal d'estudiar més de prop la topologia de la cova, han estat emprades 5 formes del mateix marcador de *spin*, variant només llur longitud. Els resultats demostren que, en solucions amortidores de fosfat 0,024 M, i pH 6,7, la cova s'eixampla ràpidament als 8-9 Å de fondària, i que després s'eixampla més lentament. Als 16 Å, pràcticament, la cova ja no es observada.

Els estudis qualitius de pertorbació tèrmica fets amb aquesta mateixa histona indiquen que, en solucions amortidores de fosfat 0,024 M, i pH 6,7, els residus de tirosina són col·locats en un embolcall hidrofòbic. A pH 3 (HCl 0,001 M) aquests residus han variat clarament d'embolcall, i són col·locats en un ambient hidrofílic. D'altra banda, la comparació dels pendents de les rectes que en resulten, en representar l'augment de densitat òptica vers l'augment de temperatura, indica la possibilitat que una part important de tirosines sigui trobada a l'interior de la molècula quan aquesta és dissolta en fosfat 0,024 M, i pH 6,7. Com pot ésser observat, tots aquests resultats estan d'acord amb un considerable plegament de la molècula en augmentar el pH i la força iònica.

Han estat duts també a terme uns experiments preliminars d'estudi de la interacció entre l'ADN i la mateixa histona, mitjançant la tècnica del marcador de *spin*. Aquests primers resultats mostren que pràcticament tota la molècula d'histona queda immobilitzada en interaccionar amb l'ADN (en solucions amortidores de fosfat 0,024); els estudis posteriors aniran dirigits a confirmar i ampliar aquests resultats encoratjadors.

## BIBLIOGRAFIA

1. HNILICA, L. S. dins *The structure and biological functions of histones*. CRC Press, Cleveland, Ohio (1972).
2. DE LANGE, R. J., HOOPER, J. A. i SMITH, E. L.: *Complete Amino Acid Sequence of Calf-Thymus Histone III*, Proc. «Nat. Acad. Sci. USA» 69, 882-884 (1972).
3. MCCONNELL, H. M. i MCFARLAND, B. G.: *Physics and Chemistry of Spin Labels*, «Quart. Rev. Biophys.» 3, 91-136 (1970).
4. LEACH, S. J. i SMITH, J. A.: *Thermal Perturbation Difference Spectroscopy of Proteins*, «Int. J. Prot. Res.» 4, 11-19 (1972).
5. PALAU, J. i PADRÓS, E.: *Crevice Containing Cysteine in the Tertiary Structure of Calf Thymus Histone F<sub>3</sub>*, «FEBS Letters», 27, 157-160 (1972).