

Canvis de les proporcions de les subfraccions de la histona H1 a neurona cortical de rata durant el desenvolupament.

B. Piña i P. Suau

Departament de Bioquímica. Facultat de Ciències, Universitat Autònoma de Barcelona.

Abstract

Changes in the proportions of histone H1 subfractions from rat cerebral cortex neurons during development

Seven H1 subfractions are shown to be present in rat cerebral cortex neurons, five subfractions are designated as H1a-H1e and the other two are subtypes of H1°. H1a is a minority component and declines during postnatal development. H1b, H1c and H1d also decrease whereas H1e increases. The substitution of subfractions H1b-H1d by H1e shows two distinct phases with apparent turnover rates that differ by one or two orders of magnitude. The change in the apparent turnover rates occurs at day 21 for all subfractions. Accumulation of H1° (Piña *et al.*, 1984) and synaptogenesis are also completed by day 21. These results show that (i) the pattern of synthesis of the various H1 subfractions is different in neurons than in their precursor cells and (ii) that the regulation of H1° expression is different than that of the other H1 subfractions. They also suggest that at day 21 major changes affecting H1 synthesis and exchange occur in chromatin.

Introducció

Els estudis de Cole i col.laboradors van mostrar que la histona H1 es podia resoldre cromatogràficament en varies fraccions que contenien proteïnes que diferien en estructura primària (Bustin i Cole, 1968; Kinkade i Cole, 1966). Aquests estudis van establir l'existència de subfraccions de l'H1 i suggeriren que algunes de les subfraccions eren funcionalment diferents de les altres. Recentment, l'H1 de cèl.lules somàtiques de ratolí ha estat resolta en set subfraccions per electroforesi bidimensional (Lennox *et al.*, 1982; Lennox i Cohen, 1983). És probable que aquestes representin la totalitat de les subfraccions d'H1.

Cinc subfraccions, H1a-H1e, són presents a tots els teixits de ratolí, encara que es troben en proporcions diferents (Lennox et al., 1982; Lennox i Cohen, 1983). Alguna de les subfraccions pot faltar en algun tipus cel.lular, com és el cas de la línia de cèl.lules CHO que manca de dues subfraccions (Wilkinson et al., 1982).

A més d'aquestes cinc subfraccions, alguns teixits somàtics contenen H1<sup>o</sup>, que es pot resoldre en dos components. L'H1<sup>o</sup> és pròpia de teixits amb poca o nul.la proliferació cel.lular i sembla estar associada amb els processos de diferenciació terminal (Pehrson i Cole, 1980; Piña et al., 1984).

Anteriorment estudiàrem l'acumulació d'H1<sup>o</sup> a neurona d'escorça cerebral de rata durant el desenvolupament post-natal (Piña et al., 1984). Trobàrem que l'H1<sup>o</sup> s'acumula en un període que coincideix amb la diferenciació terminal de la neurona. Aquí describim els canvis de les proporcions de les restants cinc subfraccions de l'H1 entre el dia -3 (19 dies de gestació) i el dia 150.

#### Materials i Mètodes

Es van preparar nuclis neuronals a partir de l'escorça cerebral de rates Sprague-Dawley segons Piña et al. (1984). L'H1 es va extreure dels nuclis purificats amb 5% d'àcid perclòric i les seves subfraccions varen ser analitzades mitjançant dos sistemes electroforètics diferents: A - Electroforesi d'urea-acètic amb gels de 30cm de llarg i amb el 15% de poliacrilamida, 5% d'àcid acètic i 2.5M d'urea, segons Lennox et al. (1982), B - Electroforesi de SDS, segons Laemmli (1970). Els gels es van tenyir amb Coomassie Blue i la intensitat de les bandes es va quantificar per densitometria a 540nm. L'assignació de les bandes corresponents a cada subfracció de l'H1 es va fer segons Lennox et al. (1982).

## Resultats

La fracció d'histona H1 de neurona d'escorça cerebral de rata es va resoldre per electroforesi en cinc subfraccions que tenen la mateixa mobilitat que les formes no fosforilades dels cinc subtipus d'H1, H1a-H1e, trobats a altres teixits de rata i d'altres mamífers (Lennox, 1984) (Figura 1). A més a més s'obtenen dos components corresponents a l'histona H1°. L'acumulació de l'H1° l'hem descrit anteriorment. Les proporcions de les restants cinc subfraccions canvien durant tot el període examinat, que va de -3 dies fins a 150 dies. L'H1a és un component molt minoritari, al dia -3 representa un 3-6% de l'H1 total i a continuació va disminuint progressivament. Com es pot veure a la Figura 2, al dia -3 les proporcions H1b, H1c, H1d i H1e són semblants, l'H1c i l'H1d representen cada una un 30% i l'H1b i l'H1e un 20% aproximadament. Entre els dies -3 i el dia 21 les concentracions d'H1b, H1c i H1d baixen ràpidament, essent

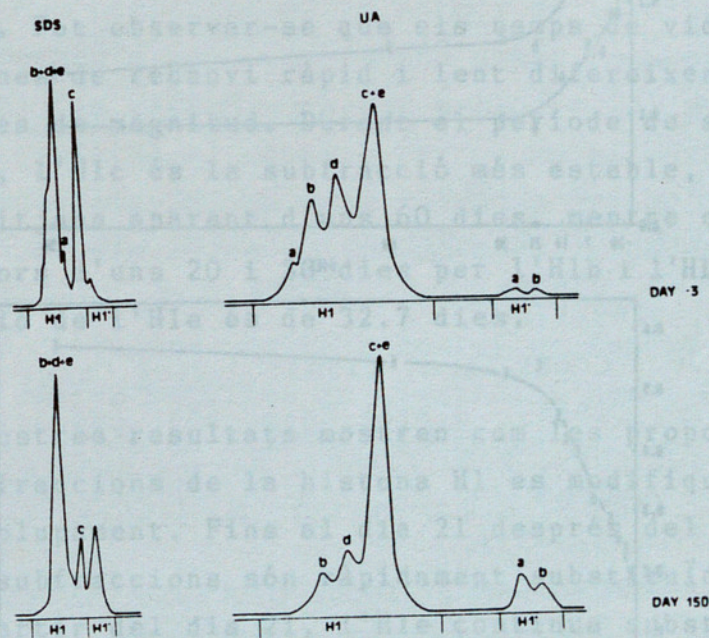


Figura 1. Comparació de les proporcions relatives de les subfraccions de la histona H1 de neurona d'escorça cerebral de rata de -3 i 150 dies. Les subfraccions van ésser analitzades per electroforesi d'urea-acètic (UA) i de SDS.

substituïdes per l'Hle. Al dia 21, l'H1b, l'H1c i l'H1d representen aproximadament el 10%, el 21% i el 18% de l'H1 total, respectivament, mentre que l'Hle ha pujat fins el 53%. Més enllà del dia 21, l'Hle continua substituïnt als altres subtipus, però molt més lentament, de manera que al dia 150 els percentatges de cada una de les subfraccions difereixen dels abans esmentats pel dia 21 solament en un 2-3%. Els valors experimentals de les zones de ràpida i lenta substitució s'ajusten molt bé a funcions exponen-

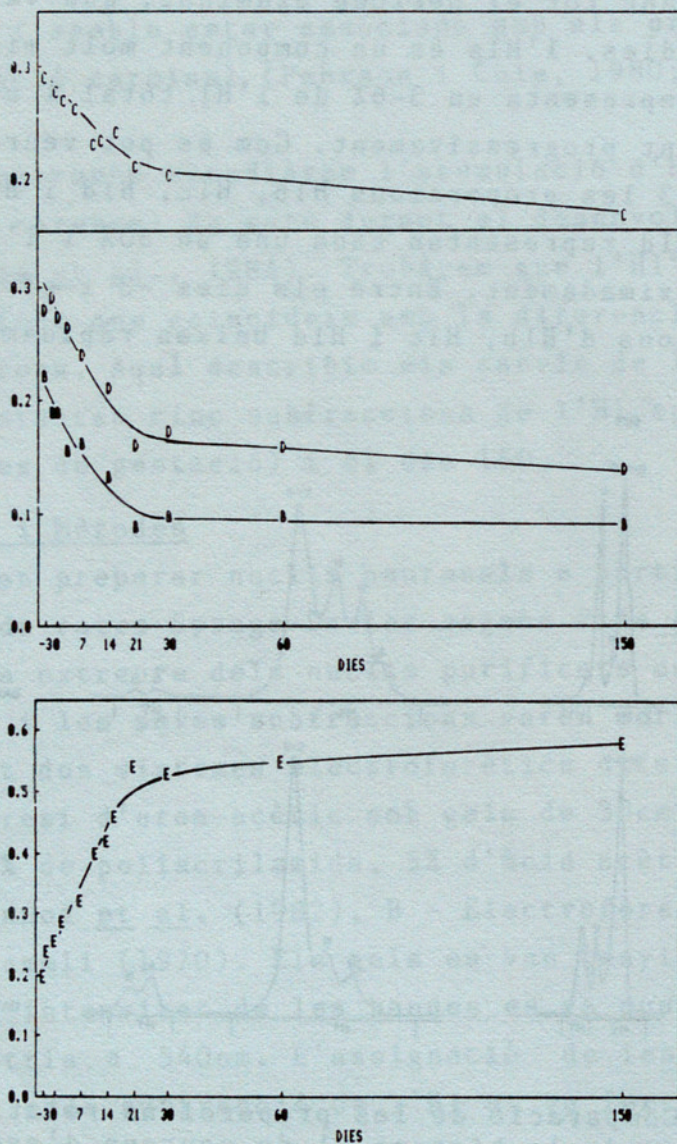


Figura 2. Canvis de les proporcions relatives de les subfraccions H1b-H1e amb l'edat. Els valors estan expressats com fraccions del total d'H1. B (H1b), C (H1c), D (H1d), E (H1e).

