

PROTEINSYNTHESE IN ISOLIERTEN LEBERZELLKERNEN NACH PARTIELLER HEPATEKTOMIE

A. ALONSO und H.P. ARNOLD

Deutsches Krebsforschungszentrum, Institut für experimentell Pathologie,
69 Heidelberg 1, Kirschnerstrasse 6, Bundesrepublik Deutschland

Received 3 December 1972

Incubation of liver nuclei from hepatectomised rats with radioactive amino acids shows that the rates of synthesis of the globular and residual protein fractions increase linearly for up to 24 hr after hepatectomy, whereas the histones show maximal incorporation at 15 hr.

1. Einleitung

Isolierte Leberzellkerne sind fähig, *in vitro* Proteine zu synthetisieren [1–3]. Die Markierung der Proteine mit radioaktivem Material ist jedoch unterschiedlich. Die Globuline stellen die höchst-markierte Fraction dar, während die Histone die niedrigste Markierung aufweisen.

Bereits Reid et al. [4] konnten in isolierten Kernen von Kalbsthymocyten eine Markierung der Histone nachweisen. Robbins and Borun [5] sowie Gallwitz und Mueller [6] fanden bei HeLa Zellen eine cytoplasmatische Histonsynthese. Gurley et al. [7] beschrieben eine geringe Histonsynthese im Cytoplasma von chinesischen Hamsterzellen während der G₁-Phase.

Bisher blieb ungeklärt, ob und in welche Phase des Zellzyklus isolierte Leberzellkerne in der Lage sind, Histone zu synthetisieren. Wir fanden in Leberzellkernen eine Histonsynthese mit einem Maximum während der erste S-Phase nach partieller Hepatektomie.

2. Methodik

Sprague-Dawley-Ratten (150 g schwer) wurden partiell (2/3) hepatektomiert. Nach 8, 15 und 24 Stunden isolierten wir die Zellkerne der Rest-Leber in 2.2 M Saccharose und inkubierten sie 40 Min bei 37° mit 0.2 μCi/ml ¹⁴C-markierten Proteinhydrolysat (spez. Aktiv. 54 mCi/mA). Am Ende der Inkubation wurde die NaCl Konzentration auf 0.14 M erhöht. Die im Medium enthaltenen Globuline wurden gewonnen und

anschliessend mit kaltem Aceton präzipitiert und gewaschen. Die Histone wurden mit 0.2 N HCl extrahiert und gleichfalls mit Aceton präzipitiert und gewaschen. Nach der Entfernung der Nukleinsäure mit HClO₄ wurde die Rest-Fraktion in 1 N NaOH gelöst.

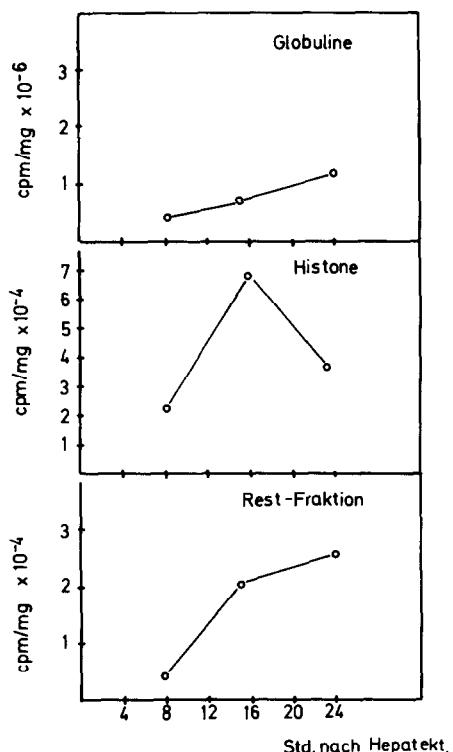


Abb. 1. Verlauf der Proteinsynthese während der ersten 24 Stunden nach Hepatektomie.

3. Ergebnisse und Diskussion

Abb. 1 zeigt die Werte der Proteinsynthese zu drei verschiedenen Zeiten nach der Hepatektomie. Die *Globuline* stellen die höchst-markierte Fraktion dar, und zeigen einen linear ansteigenden Einbau. Der hohe Markierungsindex ist möglicherweise damit zu erklären, dass diese Fraktion die Stoffwechselenzyme des Kernes umfasst. Die *Histone* lassen eine deutliche Erhöhung nach 15 Stunden erkennen, entsprechend der erste S-Phase nach der Hepatektomie. Die Synthese fällt nach 24 Stunden ab. Unsere Befunde widersprechen damit den Angaben von Ono und Terayama [1], die 17 Stunden nach der Hepatektomie keine Erhöhung der Histonsynthese beobachten konnten. Die Synthese der *Rest-Fraktion* zeigt einen raschen Anstieg in den ersten 15 Stunden, mit einer Abnahme nach 24 Stunden. Das Verhältnis der Synthese von Histon- zur Rest-Fraktion, das in isolierten normalen Leberzellkernen kleiner als eins ist, ist bereits 8 Stunden nach der Hepatektomie grösser als eins. 48 Stunden nach der Hepatektomie kehrt das Verhältnis wieder zum Ausgangswert zurück. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Hnilica et al. [8] 36 Stunden nach der Hepatektomie. Auch beim Novikoff-Hepatom fanden sie eine Umkehrung des normalen Verhältnisses. Unsere Untersuchungen unterstützen die Vermutung von McClure und Hnilica [9], das die Synthese der Rest-Fraktion bei ruhenden Zellen grösser ist als bei sich teilenden.

Aus unseren Ergebnissen geht hervor, das in isolierten Leberzellkernen das Maximum der Histonsynthese mit der ersten S-Phase nach der Hepatektomie über-

einstimmt. Die Globulinsynthese und die Synthese der Rest-Fraktion sind jedoch nicht an eine bestimmte Phase der Zellzyklus gekoppelt. Unsere Untersuchungen machen keine Aussage über eine eventuelle gleichzeitige cytoplasmatische Synthese.

Danksagung

Für die technische Hilfe danken wir Fr. I. Reinhard recht herzlich.

Literatur

- [1] H. Ono and H. Terayama, *Biochim. Biophys. Acta* 166 (1968) 175.
- [2] K.M. Anderson, M. Slyvik and O.P. Elebeute, *Can. J. Biochem.* 50 (1972) 190.
- [3] A. Alonso und H.P. Arnold, in Vorbereitung.
- [4] B.E. Reid, R.H. Stellwagen and R.D. Cole, *Biochim. Biophys. Acta* 155 (1968) 593.
- [5] E. Robbins and T.W. Borun, *Biochem.* 57 (1967) 409.
- [6] D. Gallwitz and G.C. Mueller, *J. Biol. Chem.* 244 (1969) 5947.
- [7] L.R. Gurley, R.A. Walters and R.A. Tobey, *Arch. Biochem. Biophys.* 148 (1972) 633.
- [8] L.S. Hnilica, H.A. Kappler and V.S. Hnilica, *Science* 150 (1965) 1470.
- [9] V.G. Allfrey, C.S. Teng and C.T. Teng, in: *Nucleic acids-Protein interactions. Nucleic acid synthesis in viral infections*, eds. D.W. Ribbons, J.F. Weissner and J. Schultz (North-Holland, 1971) p. 145.
- [10] M.E. McClure and L.S. Hnilica, *Sub. Cell Biochem.* 1 (1972) 311.