

Г. А. КРИТСКИЙ, С. В. АЛЕКСАНДРОВ, Г. Ф. КОРОМЫСЛОВ,
М. Н. ГРИЩЕНКО

АНОМАЛЬНОСТЬ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ПИРИМИДИНОВЫХ НУКЛЕОТИДНЫХ БЛОКОВ В ДНК ПРИ ЛЕЙКОЗАХ И ЛУЧЕВОМ ПОРАЖЕНИИ

(Представлено академиком А. И. Опариным 15 XII 1971)

До настоящего времени лучевое поражение является, по-видимому, единственным заболеванием, при котором до последнего времени с достоверностью выявлялось изменение в первичной структуре ДНК⁽¹⁻⁴⁾. Поскольку последствием лучевого поражения организма весьма часто является возникновение злокачественного роста, то представляется весьма

вероятным, что в первичной структуре ДНК злокачественной клетки также имеются отклонения от нормы. Однако экспериментальные попытки большинства авторов не выявили каких-либо особенностей в составе и структуре ДНК злокачественной клетки⁽⁵⁻¹¹⁾. В предыдущей работе с помощью блочного метода анализа ДНК нам удалось обнаружить достоверное увеличение относительного содержания одиночного тимидилового нуклеотидного остатка в ДНК селезенки при лейкозе мышей по сравнению с нормой⁽¹²⁾. Эти изменения были аналогичны изменениям в ДНК при лучевом поражении животных.

В связи с тем, что проблема повреждения структуры ДНК в организме представляет большой теоретический и практический интерес, нами были продолжены исследования по анализу ДНК злокачественных клеток с помощью блочного метода. Ввиду специфичности различных лейкозов можно было полагать, что при разных видах лейкоза могут иметь место различные изменения структуры ДНК. В связи с этим в настоящей работе мы исследовали блочную структуру ДНК крови при спонтанных лейкозах сельскохозяйственных животных. Полученные результаты мы сопоставили с особенностями изменения структуры ДНК при лучевом поражении и лейкозе Ia мышей.

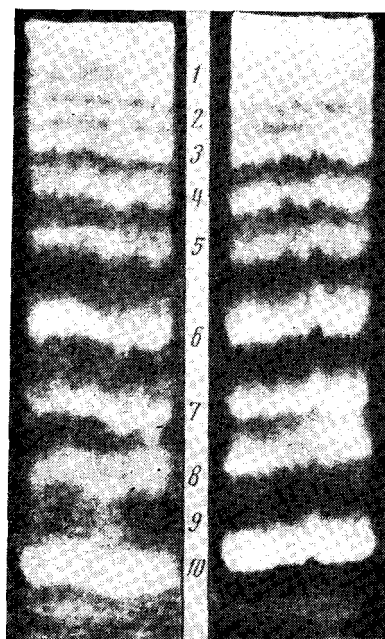


Рис. 1. Нисходящая хроматография на бумаге пиримидиновых нуклеотидных блоков ДНК (95% этанол, *n*-бутанол и 1 *M* ацетатно-аммиачный буфер с рН 3,7—3,8 (4:1:2)). Растворитель пропустили 4—5 раз. Слева — норма, справа — лейкоз. Цифры обозначают номера пятен

В качестве объекта исследования нами были использованы лейкоциты крови нормальных и лейкозных коров. Лейкоциты, полученные центрифугированием крови на холоду, размешивали в холодном буферном

растворе с 0,1 М NaCl + 0,05 М трехзамещенный цитрат натрия и ДНК выделяли фенольно-детергентным методом (13). Определение пириимидиновых нуклеотидных блоков ДНК производили по методике Бартона в описанной ранее модификации (2). Статистическую обработку данных производили по Стьюденту (14).

Результаты определения пириимидиновых нуклеотидных блоков ДНК представлены на рис. 1 и в табл. 1. Рисунок показывает, что в ДНК лей-

Таблица 1

Относительные количества пириимидиновых нуклеотидных блоков ДНК в опытах с облучением и лейкозами животных (%). Бумажная хроматография по методу (2)

Источник ДНК	Условия опытов	№ хроматографических пятен			
		4	5+6	7+8	9+10
Костный мозг кролика (4)	Норма	19,89 ± 1,05	25,58 ± 0,94	25,02 ± 0,63	29,51 ± 0,46 *
	2 суток	18,75 ± 0,43	25,35 ± 1,07	23,59 ± 1,16	32,30 ± 0,63 *
Селезенка мышей С57BL/6 (12)	после облучения 200 р	18,06 ± 0,46	26,14 ± 0,39	26,09 ± 0,30	29,71 ± 0,41 *
	Норма	15,85 ± 1,19	26,80 ± 0,58	25,91 ± 0,58	31,44 ± 0,58 *
Лейкоциты коров	Лейкоз 6 суток				
	Норма	14,31 ± 0,66	33,37 ± 0,34 *	24,91 ± 0,52	27,41 ± 0,21
	Лейкоз	15,52 ± 0,87	31,02 ± 0,45 *	25,56 ± 0,29	27,90 ± 0,31

* Различия между величинами в норме и патологии статистически достоверны ($P < 0,05$)

коцитов коров и в норме и при лейкозе имеются в основном те же фракции пириимидиновых нуклеотидных блоков, которые обычно выявляются при анализе ДНК из других источников.

При количественном анализе относительного содержания пириимидиновых нуклеотидных блоков с помощью спектрофотометрии элюатов хроматографических пятен оказалось целесообразным учитывать только количества материала пятен №№ 4—10 (принимая сумму материала этих пятен за 100%). Эти пятна разделялись гораздо более четко, чем пятна №№ 1—3.

В табл. 1 сопоставляются полученные таким методом данные анализа ДНК лейкоцитов крови коров при спонтанном лейкозе с данными анализа облученной ДНК и ДНК селезенок мышей С57BL/6 при лейкозе La.

Из табл. 1 видно, что характер распределения пириимидиновых нуклеотидных блоков ДНК лейкоцитов крови лейкозных коров статистически достоверно ($P < 0,01$) отличается от характера распределения нуклеотидных блоков ДНК в норме.

Наблюдается значительное уменьшение количества материала пятен 5+6. При лучевом поражении и при лейкозе La мышей С57BL/6 изменения количества материала в пятнах 5+6 незначительны. Вместе с тем и при лучевом поражении, и при лейкозе La мышей достоверно увеличивается количество материала в пятнах 9+10. Основным компонентом этих пятен является одиночный тимидиловый нуклеотидный остаток — тимидиндифосфат. На основании этих данных можно заключить, что злокачественность клетки может быть связана с различными изменениями в первичной структуре ДНК. Возможно, что сходство изменений в первичной структуре ДНК при лейкозе мышей и при лучевом поражении обусловлено радиационной этиологией данного лейкоза (15).

Таким образом, как лучевое поражение, так и злокачественный рост, судя по исследованным примерам, связаны с деградиационными процессами в генетической основе клетки, что выражается в уменьшении относительного содержания определенных нуклеотидных блоков. Проведенное нами исследование пириимидиновых нуклеотидных блоков ДНК крови

крупного рогатого скота в норме и при спонтанном лейкозе позволило со статистической достоверностью выявить аномальность первичной структуры ДНК лейкозных клеток крови. Количество нуклеотидных блоков, соответствующих определенным хроматографическим пятнам (5 + 6), при лейкозе достоверно уменьшается по сравнению с нормой. Согласно нашим данным по идентификации, пятно № 5 соответствует некоторым тринуклеотидам, а пятно № 6 некоторым динуклеотидам. Характер изменения в распределении нуклеотидных блоков ДНК при лейкозе крупного рогатого скота существенно отличается от тех изменений нуклеотидных блоков, которые имеют место при лучевом поражении и при лейкозе *La* мышей.

Данные настоящей работы соответствуют нефракционированной ДНК. Возможно, что в некоторых злокачественных клетках основная масса ДНК по своей структуре не отличается от ДНК нормальной клетки, но вместе с тем, небольшая часть ДНК значительно отличается от нормы и соответствует специфической, «злокачественной» ДНК или онкогенному вирусу.

Приносим благодарность Р. В. Цодиковой за ценную помощь работе.

Институт биохимии им. А. Н. Баха
Академии наук СССР

Поступило
14 XII 1971

Всесоюзный институт экспериментальной
ветеринарии
Москва

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Г. А. Критский, И. А. Арендс, Ю. В. Николаев, *Биохимия*, **32**, 3, 452 (1967). ² Г. А. Критский, Т. Я. Сурина, *Биохимия*, **33**, 4, 706 (1968). ³ Г. А. Критский, А. А. Абидов, Т. Я. Сурина, *Радиобиология*, **9**, 5, 675 (1969). ⁴ Г. А. Критский, А. А. Абидов и др., *Радиобиология*, **10**, 6, 803 (1970). ⁵ И. Б. Збарский, *Вопр. мед. хим.*, **4**, 3, 199 (1958). ⁶ E. Ch argaff, *Chemistry and Biology*, **1**, 4, 307 (1955). ⁷ E. Ch argaff, *Federat. Proc.*, **10**, 654 (1951). ⁸ S. Kit, *Nature*, **184**, 4673, 36 (1959). ⁹ S. Kit, In: *Amino Acids, Proteins and Cancer Biochemistry*, 1960, p. 147. ¹⁰ А. Л. Мнджоян, Б. Т. Гарибджанян и др., *Биол. журн. Армении*, **24**, 3, 3 (1971). ¹¹ Я. Г. Эренпрейс, *Ядро раковой клетки*, Рига, 1971. ¹² Г. А. Критский, А. И. Батищев и др., *ДАН*, **203**, № 1 (1972). ¹³ Г. А. Критский, А. А. Абидов и др., *Радиобиология*, **11**, 5, 660 (1971). ¹⁴ И. А. Ойвин, *Патол. физиол. и эксп. терап.*, **4**, 4, 76 (1960). ¹⁵ В. Пуйман, *Вопр. онкологии*, **1**, 4, 93 (1955).