

УДК 576.8.095.14

БИОХИМИЯ

Г. А. КРИТСКИЙ, С. В. АЛЕКСАНДРОВ

## О КОРРЕЛЯЦИИ МЕЖДУ ОТНОСИТЕЛЬНЫМ КОЛИЧЕСТВОМ НЕКОТОРЫХ НУКЛЕОТИДНЫХ БЛОКОВ В ДНК ОРГАНИЗМА И ЕГО РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬЮ

(Представлено академиком А. И. Опариным 19 VI 1973)

Как известно, проблеме корреляции между различными биохимическими характеристиками организма и его радиочувствительностью посвящено большое количество исследований, результаты которых не всегда можно обобщить.

Представляется вероятным, что весьма общие закономерности, касающиеся радиочувствительности, связаны с общебиологическим субстратом живой клетки — с ДНК.

Как известно, последовательность нуклеотидных остатков в ДНК, т. е. первичная структура, определяет основные генетические характеристики организмов. Очевидно, что первичная структура ДНК определяет и радиочувствительность организма. Из имеющихся в настоящее время методов исследования особенностей первичной структуры ДНК блочный метод является одним из лучших. В литературе нет работ по проблеме корреляции между особенностями блочной структуры ДНК и радиочувствительностью организма.

В предыдущих наших исследованиях (<sup>1-3</sup>) по влиянию ионизирующей радиации на блочную структуру ДНК в организме были использованы разные виды животных с разной радиочувствительностью. В настоящей работе проведены сопоставления и анализ наших новых, а также цитированных выше, данных по блочной структуре ДНК разных животных в связи с проблемой радиочувствительности.

В качестве источников для выделения ДНК были использованы: костный мозг кроликов, костный мозг и селезенка крыс, селезенка мышей  $C_{57}Bl_6$ , лейкоциты крови коров и селезенки морских свинок. Исходный материал размешивали в холодном буферном растворе с 0,1 M NaCl + 0,05 M трехзамещенным цитратом натрия. На одну весовую часть материала брали 40 объемов буферного раствора. Смесь гомогенизировали 1 мин. в механическом гомогенизаторе и в гомогенат добавляли равный объем водонасыщенного фенола, подщелоченного NaOH до pH 8,3 и содержащего додецилсульфат натрия в количестве 2%. Дальнейшие процедуры депротейнизации и очистки ДНК от примеси РНК с помощью обработки щелочью описаны в работах (<sup>6-7</sup>). Определение пиримидиновых нуклеотидных блоков ДНК производили по методике Бартона в описанной ранее модификации (<sup>1</sup>). Статистическую обработку данных производили по Стьюденту.

Результаты и обсуждение. На рис. 1 представлена типичная фотография в ультрафиолетовом свете бумажной хроматограммы с пиримидиновыми нуклеотидными блоками. На этом рисунке приведены как номера пятен (1—10), так и номера изоплит, т. е. число нуклеотидных остатков в олигонуклеотиде. Пятна 1, 2 и 3, как правило, разделялись не четко, и поэтому мы их определяли вместе.

В табл. 1 приведены результаты количественного определения хроматографических пятен при исследовании ДНК кровяной системы.

Приведены также литературные данные по радиочувствительности ( $LD_{50/30}$ ). Данные по различным видам животных расположены в порядке возрастания радиостойчивости животных. Из табл. 1 видно, что во всех пятнах, кроме пятна 4 и пятен 1+2+3, величины изменяются без видимой взаимосвязи с изменением радиочувствительности животных. В изменении содержания пятна 4 и пятен 1+2+3 имеет место явно заметный параллелизм с изменением радиочувствительности.

Количество нуклеотидных блоков, соответствующих пятнам 1+2+3, как правило, возрастало с увеличением радиочувствительности животного, а количество материала пятна 4, наоборот, уменьшалось. Поэтому в каче-

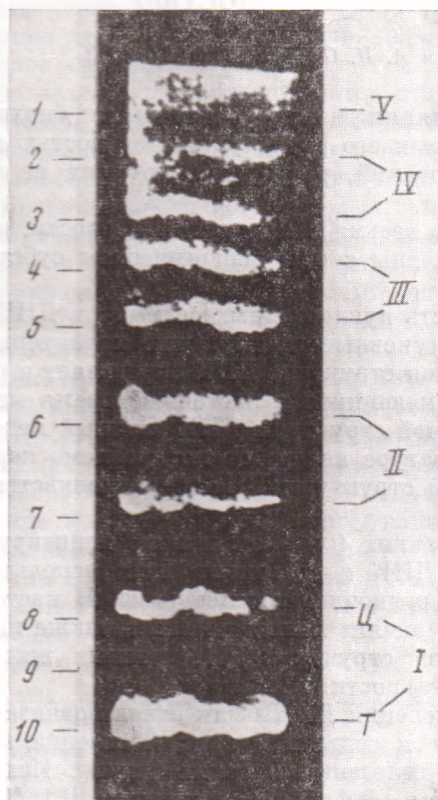


Рис. 1. Фотография бумажной хроматограммы в ультрафиолетовом свете. Разделение пиримидиновых нуклеотидных блоков ДНК при нисходящей хроматографии в *n*-бутаноле+95% этанол+1*M* ацетатно-аммиачный буфер с pH 3,7—3,8 (1:4:2). Растворитель пропускали 5 раз. Размеры хроматограмм: 55 см×13 см. 1—10 — номера пятен; I—V — номера изоплит (число нуклеотидных остатков в блоке); Т — тимидиндифосфат. Ц — дезоксицитидиндифосфат

стве наиболее характерного показателя радиочувствительности мы взяли такой коэффициент ( $K$ ), который показывает отношение количества материала пятен 1+2+3 к количеству материала пятна 4.

На рис. 2 приведены величины коэффициента  $K$  для пяти видов млекопитающих животных с разной радиочувствительностью. Из этого рисунка видна взаимосвязь коэффициента  $K$  с радиочувствительностью животного. Статистическая обработка показала, что имеется достоверная обратная корреляция между величиной отношения  $(1+2+3)/4=K$  и  $LD_{50/30}$ :  $0,01 < P < 0,05$ .

Нуклеотидные блоки пятен 1+2+3 соответствуют наиболее крупным из определяемых нами нуклеотидных блоков (изоплиты IV и V). Поэтому приведенные данные говорят в пользу предположения о том, что более высокая степень сблоченности оснований в ДНК, как правило, соответствует более высокой радиочувствительности организма.

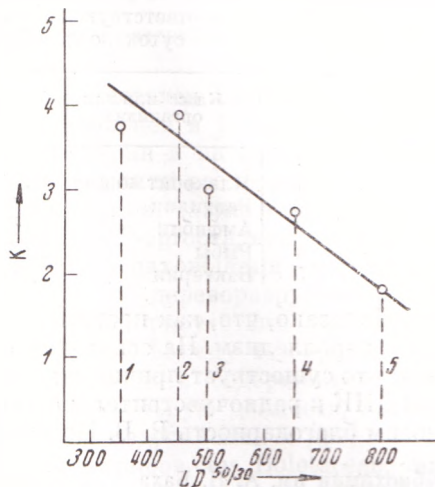
В табл. 2 мы сопоставили сблоченность оснований в ДНК и радиочувствительность, используя литературные данные, которые ранее не сопоставлялись. Из этой таблицы видно, что в изменении коэффициента  $\beta$ , от-

ражающего сблоченность пиримидиновых оснований в ДНК (<sup>8</sup>), и LD<sub>50/30</sub> (<sup>9</sup>), отражающей радиочувствительность, имеется параллелизм.

Величина  $\beta$  представляет собой коэффициент регрессии в уравнении, описывающем зависимость содержания нуклеотидного материала в изоплитах от их длины (числа нуклеотидных остатков в изоплите). Чем меньше величина  $\beta$ , тем больше степень сблоченности пиримидинов.

Эволюция организмов отражается в структуре их геномов и сопровождается как увеличением степени сблоченности оснований в ДНК, так и увеличением радиочувствительности. Это подтверждает вывод, сделанный

Рис. 2. Корреляция между величиной  $K$  и радиочувствительностью организма (LD<sub>50/30</sub>). Средние данные по 4—6 опытам.  $0,01 < P < 0,05$ , статистически достоверно. 1 — морские свинки, 2 — крупный рогатый скот, 3 — мыши, 4 — крысы белые, 5 — кролики



на основании табл. 1 и рис. 2 относительно причинной связи между особенностями блочной структуры ДНК и радиочувствительностью организма.

Как видно из вышеприведенных данных, параллелизм в изменении сблоченности оснований в ДНК и радиочувствительности организма в целом носит характер правила, из которого имеются отдельные исключения. Наличие наряду с указанной закономерностью также других корреляций различных биохимических характеристик организма и его радиочувствительности свидетельствует о том, что могут быть найдены корреляции между особенностями блочной структуры ДНК и различными биохимическими характеристиками организма.

Таким образом, с помощью бумажной хроматографии проведено исследование пиримидиновых нуклеотидных блоков ДНК кроветворной систе-

Таблица 1

Сопоставление содержания \* пиримидиновых нуклеотидных блоков ДНК и радиочувствительности млекопитающих животных

Животное	№№ пятен					LD <sub>50/30</sub> , р (по литературным данным)
	1+2+3	4	5+6	7+8	9+10	
Морские свинки (селезенка)	31,78	8,44	19,64	19,86	20,28	350
Крупный рогатый скот (лейкоциты)	36,27	9,23	20,99	16,02	17,49	450
Мыши С <sub>57</sub> В <sub>16</sub> (селезенка)	33,15	11,06	18,51	17,69	19,67	500
Крысы (костный мозг и селезенка)	28,01	11,05	20,92	18,56	21,41	650
Кролики (костный мозг)	24,70	13,60	20,50	18,30	22,80	800

\* Содержание выражено в процентах от суммы хроматографических пятен №№ 1—10. В таблице даны средние величины по данным 4—6 опытов.

мы пяти видов млекопитающих животных. Обнаружена статистически достоверная корреляция между относительным количеством некоторых нуклеотидных блоков в ДНК организма и его радиочувствительностью. Сопоставлены имеющиеся литературные данные по сблоченности оснований в ДНК и радиочувствительности организмов, относящихся к разным типам

Таблица 2

Сопоставление степени сблоченности В пиримидиновых нуклеотидных остатков в ДНК и радиочувствительности различных организмов. LD<sub>50/30</sub> — доза в р, соответствующая смертности 50% за 30 суток после облучения

№№ п.п	Класс или тип организма	$\beta$ (°)	LD <sub>50/30</sub> , р (°)
1	Млекопитающие	1,55—1,75	350—800
2	Рептилии	1,7—1,90	1500—15000
3	Амфибии	2,05—2,15	700—3000
4	Рыбы	2,05—2,45	1800
5	Бактерии	2,20—2,90	6000—300000

и классам. Показано, что, как правило, между изменениями этих показателей имеется параллелизм. На основании общей совокупности данных предполагается, что существует причинная связь между особенностями блочной структуры ДНК и радиочувствительностью организма.

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

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

Поступило  
19 VI 1973

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> Г. А. Критский, Т. Я. Сурина, Биохимия, 33, № 4, 706 (1968). <sup>2</sup> Г. А. Критский, А. А. Абидов, Т. Я. Сурина, Радиобиология, 9, 5, 675 (1969). <sup>3</sup> Г. А. Критский, А. А. Абидов и др., Радиобиология, 10, 6, 803 (1970). <sup>4</sup> Г. А. Критский, А. И. Батищев и др., ДАН, 203, № 1, 232 (1972). <sup>5</sup> Г. А. Критский, С. В. Александров и др., ДАН, 206, № 1, 230 (1972). <sup>6</sup> Г. А. Критский, А. А. Абидов и др., Радиобиология, 11, 5, 660 (1971). <sup>7</sup> Г. А. Критский, А. А. Абидов и др., Радиобиология, 12, 4, 493 (1972). <sup>8</sup> Б. Ф. Ванюшин, Особенности первичной структуры ДНК. Автореф. докторской диссертации, М., 1972. <sup>9</sup> З. Бак, П. Александер, Основы радиобиологии, ИЛ, 1963, стр. 289.