

З. А. БУТЕНКО

**РАННИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КЛЕТОЧНОЙ ДНК ПОД ВЛИЯНИЕМ РНК
ЛЕЙКОЗНЫХ КЛЕТОК И ЛЕЙКОМОГЕННОГО ВИРУСА РАУШЕРА**

(Представлено академиком Г. М. Франком 5 II 1973)

Существенное значение для понимания механизма злокачественной трансформации клеток при лейкозе имеет изучение внутриклеточных изменений, происходящих под влиянием лейкемогенного вируса. Вопрос нарушения метаболизма макромолекул клетки в процессе канцеро- и лейкогенеза остается все еще недостаточно выясненным (¹). Исследование изменений ДНК, происходящих под влиянием РНК-содержащих лейкемогенных вирусов в настоящее время особенно важно в связи с доказательством гипотезы репликации РНК-содержащих онкогенных вирусов через посредство ДНК, благодаря открытию обратной транскриптазы, осуществляющей синтез ДНК на матрице РНК (²⁻⁴). Литературные данные о влиянии РНК-содержащих вирусов на синтез нуклеиновых кислот в клетках сравнительно ограничены (⁵⁻⁷). В отношении лейкемогенных вирусов известны только работы (^{8, 9}), свидетельствующие о ранней стимуляции синтеза ДНК в клетках куриных фибробластов, инфицированных вирусом куриного миелобластома. В наших первоначальных исследованиях по изучению биологического действия различных видов РНК лейкозных клеток, в которых выявлены лейкемогенные свойства высокополимерной РНК, было обращено внимание на изменение ДНК в кроветворных клетках под влиянием такой РНК (¹⁰⁻¹²).

В связи с изложенным важное значение для выяснения молекулярных механизмов лейкогенеза приобретает изучение ранних изменений ДНК в клетках, чувствительных к действию лейкемогенных РНК-содержащих вирусов, не исследованных в таком плане.

В специальных опытах нами изучалось изменение содержания и синтеза ДНК в кроветворных клетках в первые сутки после введения РНК, выделенной из лейкозных клеток крысиного гемоцитобластома — эритромиелома и после заражения мышей BALB/c лейкемогенным вирусом Раушера. Высокополимерная цитоплазматическая РНК была выделена методом фенольной депротеинизации. При спектральном изучении препаратов РНК коэффициенты E_{280}/E_{230} и E_{260}/E_{280} были больше 2, что свидетельствовало о высокой степени их очистки, величина температурного эффекта по А. С. Спирину равнялась 1,2—4,7, коэффициент специфичности составлял 1,2—1,8. Для определения количества ДНК в клетках, окрашенных по Фельгену, применена методика адсорбционной цитоспектрофотометрии в видимой области спектра методом двухволновой цитофотометрии при длине волн 540 и 495 нм. Значение оптической плотности для каждого ядра рассчитывали, используя таблицы Мендельсона. Содержание ДНК выражали в пикограммах.

Для изучения синтеза ДНК применен метод автордиографии. Н³-Тимидин активностью 10 мкС/ммоль вводили животным в дозе 1 мкС на 1 г веса. После нанесения фотоэмульсии радиоавтографы экспонировали и подсчитывали процент меченых клеток (на 100 клеток) и среднее количество гранул на меченую клетку (100 клеток).

В результате проведенных исследований на 80 животных установлено, что через несколько часов после введения крысам 2–5 мг РНК в ретикулярных и бластных клетках региональных лимфатических узлов, куда прежде всего попадает РНК, отмечается достоверное увеличение индекса меченых клеток: ретикулярных с 20 до 30%, бластных с 60 до 74%. К концу первых суток отмечается также возрастание интенсивности синтеза ДНК, о чем свидетельствует повышение числа гранул на 1 меченую клетку в среднем в ретикулярных клетках с 63 до 79 и в бластах с 55 до 72. При введении РНК нормальных кроветворных клеток изменения этих показателей были незначительны. Так, количество меченых бластных клеток в контроле составляло 60%, ретикулярных 21%; через 24 часа после воздействия нормальной РНК 59,2 и 20% соответственно.

При изучении изменений ДНК в бластных кроветворных клетках селезенок мышей BALB/c на вторые сутки после заражения их РНК-содержащим вирусом Раушера обнаружено заметное увеличение интенсивности синтеза ДНК.

Отмечается повышение числа меченых бластных клеток, которое в опыте составляет $36 \pm 2,48\%$, в контроле $22 \pm 3,98\%$, а также увеличение в опыте содержания гранул на 1 меченую клетку с $30 \pm 4,76$ до $40 \pm 4,26$ (рис. 1, см. вкл. к стр. 713). Одновременно отмечается увеличение содержания ДНК в родоначальных клетках крови, составляя в опыте 13,8 пг, в контроле 11,7 пг.

Таким образом, полученные факты свидетельствуют о характерном влиянии лейкемогенного вируса Раушера и РНК лейкозных клеток, обладающей лейкемогенным действием, на синтез ДНК и подтверждают представление о том, что ранняя стимуляция синтеза клеточной ДНК является необходимым этапом в процессе злокачественной трансформации клеток.

Институт проблем онкологии
Академии наук УССР
Киев

Поступило
29 I 1973

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ И. С. Ирлин, Ф. Л. Киселев, Итоги науки и техники, сер. Вирусология, т. 4, М., 1972. ² H. Temin, S. Mizutani, Nature, v. 226, 5252, 1211 (1970). ³ D. Baltimore, Nature, v. 226, 5252, 1209 (1970). ⁴ S. Spiegelman, A. Burni et al., Nature, v. 227, 5258, 563 (1970). ⁵ J. Kara, Biochem. Biophys. Res. Commun., v. 32, 5, 817 (1968). ⁶ A. Macieira-Coelho, J. Hiu, E. Carcia-Giralt, Nature, v. 222, 5199, 1172 (1969). ⁷ S. Z. Hirschman, P. J. Fischinger, T. E. O'Connor, J. Nat. Cancer Inst., v. 44, 1, 107 (1970). ⁸ F. Lacour, A. Fourcade, T. Haynh, Biology of Large RNA Viruses, N. Y., 1970, p. 215. ⁹ J. Harel, F. Lacour, T. Haynh, Virology, v. 47, 244 (1972). ¹⁰ З. А. Бугенко, ДАН, т. 157, № 5, 1245 (1964). ¹¹ З. А. Бугенко, Я. И. Моргунова и др., Бюлл. эксп. биол. и мед., т. 2, 87 (1936). ¹² З. А. Бугенко, М. А. Барановский, В. А. Шляховенко, Культура тканей в онкологии, М., 1968, стр. 177.