

В. А. СТРУЧКОВ, Н. Б. СТРАЖЕВСКАЯ,
член-корреспондент АН СССР А. М. КУЗИН

**РАЗЛИЧИЯ БИОСИНТЕЗА ЭУХРОМАТИНОВОЙ
И ГЕТЕРОХРОМАТИНОВОЙ ДНК В НОРМАЛЬНЫХ
И ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ**

Из литературы известно, что опухолевый рост сопровождается значительным изменением структуры и функции ядерного хроматина (¹⁻³). Раковая клетка характеризуется увеличением гетерохроматина по сравнению с нормальной клеткой (⁴), что свидетельствует об изменении регуляции обменных процессов. Показано, что гепатомные ядра и хроматин карциномы Валкера 256 синтезируют новые виды РНК (^{2, 5-7}). На фоне общей репрессии гепатома (^{4, 2}) в раковой клетке наблюдается и дерепрессия цистронов (²), которая, как показал Берман с сотр. (⁵), происходит на уровне конденсированного хроматина (гетерохроматина). Нами был разработан метод, позволяющий дифференцировать эу- и гетерохроматиную ДНК в нормальных тканях (⁸), что давало возможность более детально изучить особенности обмена ДНК в раковой клетке. В настоящей работе проводили сравнительные исследования включения меченых предшественников нуклеиновых кислот, ¹⁴С-тимидина и ¹⁴С-уридина, в эу- и гетерохроматиновые ДНК асцитного рака Эрлиха мыши и нормальных тканей крыс и мышей.

В опытах использовали асцитный рак Эрлиха мыши (на 7-й день после перевивки), белых мышей самцов весом 18–20 г и белых крыс самцов весом 100–120 г. Асцитным мышам вводили ¹⁴С-тимидин и ¹⁴С-уридин внутривенно по 20 мкС на мышь и забивали через 5, 20 и 60 мин. после введения метки. Здоровым животным вводили те же меченые соединения по 200 мкС на крысу и по 20 мкС на мышь, а забивали через 60 мин. У крыс брали тимус, селезенку и печень, у мышей — печень.

Эу- и гетерохроматиную ДНК выделяли по ранее описанному методу (⁸). Выделенные фракции ДНК обрабатывали РНКазой в течение 3 час. при 37°С (1:1, фермент фирмы «Реанал» предварительно прогревали 5 мин. при 100°С для инактивации ДНКазы). С целью освободить препараты от адсорбированной метки проводили 3-кратное переосаждение этанолом (2:1) из раствора после инкубации в течение 4 час. при 37°С с избытком

Таблица 1

Включение меченых предшественников (в имп/мин·мг ДНК)
в эухроматиновую (ЭДНК) и гетерохроматиновую ДНК
(ГДНК) асцитного рака Эрлиха мыши
(средние данные из 3 опытов)

Время после введения метки, мин.	¹⁴ С-тимидин		¹⁴ С-уридин	
	ЭДНК	ГДНК	ЭДНК	ГДНК
5	2360±150	3830±210	198±25	798±52
20	10700±530	22900±820	733±140	1968±330
60	14900±660	36400±1010	2010±200	6200±350

немеченного тимидина или уридина. Конечный препарат ДНК растворяли в дистиллированной воде, денатурировали 1 час при 100° С, определяли содержание ДНК по Диче с дифениламинном и папосили по 200 мкг на диск. Радиоактивность измеряли на счетчике «Протока» и выражали в имп/мин·мг ДНК.

В табл. 1 представлены данные, полученные на асцитном раке Эрлиха мыши. Оказалось, что в раковой клетке во все интервалы времени после введения метки скорость включения ¹⁴С-тимидина в гетерохроматиновую ДНК в 2—3 раза выше, чем в эухроматиновую ДНК. Аналогичная закономерность наблюдается и по включению ¹⁴С-уридина в РНК, гибридносвязанную с ДНК, которая остается после обработки препаратов РНКазой (дополнительная обработка 0,3 N КОН 1 час при 37° С отщепляла меченый уридин).

В табл. 2 представлены данные по включению ¹⁴С-тимидина и ¹⁴С-уридина во фракции ДНК нормальных тканей животных. Можно видеть, что меченые тимидин и уридин более активно включаются в эухроматиновую ДНК, причем эта закономерность характерна для всех исследованных тканей животных. Таким образом, характерная особенность обмена ДНК в раковой клетке состоит в том, что скорости включения меченых тимидина и уридина в эухроматиновую и гетерохроматиновую ДНК диаметрально противоположны по сравнению с нормальными тканями.

На основании полученных результатов можно предположить, что в раковой клетке происходит перекодировка генной активности хроматина, выражающаяся в дерепрессии гетерохроматина и репрессии эухроматина. Эта закономерность показана нами лишь на асцитной карциноме Эрлиха, но не исключено, что она характерна и для других опухолей. Такое предположение правомерно, так как имеются данные для различных опухолей о значительном увеличении негистоновых хромосомальных белков (5, 9), которые по мнению Вана тканеспецифичны и принимают участие в контрольных механизмах регуляции генной активности хроматина (10).

Для характеристики процесса транскрипции нами приводятся лишь относительные удельные активности по уридину в расчете на ДНК. Однако действительная скорость включения уридина должна быть на 2 порядка выше, если принять во внимание, что содержание РНК, гибридносвязанной с ДНК, составляет 1—2%. Кроме того, различие скоростей включения уридина в гетерохроматиновую и эухроматиновую ДНК должно быть более выраженным, если допустить, что содержание РНК будет выше в эухроматиновой ДНК, чем в гетерохроматинной ДНК. Это не исключе-

Таблица 2

Включение меченых предшественников (в имп/мин·мг ДНК) в эухроматиновую и гетерохроматиновую ДНК тканей крыс и мышей (средние данные из 3 опытов)

Объект	¹⁴ С-тимидин		¹⁴ С-уридин	
	ЭДНК	ГДНК	ЭДНК	ГДНК
Крыса				
тимус	21000±1880	12840±1710	107±3	52±2
селезенка	32360±3020	15160±1470	192±9	115±7
печень	2345±130	1248±50	207±13	85±13
Печень мыши	—	—	380±15	220±11

но, так как имеются данные, что эухроматин более обогащен РНК, чем гетерохроматин (5). Однако этот вопрос требует дополнительных исследований.

Институт биологической физики
Академии наук СССР
Пушино Московской обл.

Поступило
23 VII 1974

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ Г. Буш, В кн.: Гистоны и другие ядерные белки, М., 1967. ² N. C. Kostraba, T. Y. Wang, Cancer Res., v. 31, 11, 1663 (1971). ³ С. В. Кузьмина, Н. Б. Стражевская, Биофизика, т. 15, 6, 1135 (1970). ⁴ E. Harbers, M. Vogt, The Cell Nucleus Metabolism, Radiosensitivity, 1966, p. 165. ⁵ А. Е. Берман, Н. П. Лебкова и др., Мол. биол., т. 4, 2, 224 (1970). ⁶ Ю. М. Оленов, Вестн. АМН СССР, т. 3, 3 (1968). ⁷ Е. Г. Пижер, А. В. Лихтенштейн и др., Вестн. АМН СССР, т. 3, 26 (1968). ⁸ Н. Б. Стражевская, В. А. Стручков, Радиобиология, т. 11, 5, 649 (1971). ⁹ J. S. Salser, M. N. Teller, M. E. Balis, Cancer Res., v. 29, 5, 1002 (1969). ¹⁰ N. C. Kostraba, T. Y. Wang, Cancer Res., v. 32, 11, 2348 (1972).